

**MICROPROPAGAÇÃO, CALOGÊNESE E
IRRADIAÇÃO DA FIGUEIRA
'ROXO DE VALINHOS'**

ESTER ALICE FERREIRA

2006

ESTER ALICE FERREIRA

**MICROPROPAGAÇÃO, CALOGÊNESE E IRRADIAÇÃO DA
FIGUEIRA ‘ROXO DE VALINHOS’**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, área de concentração Fitotecnia, para a obtenção do título de “Doutor”.

Orientador

Prof. Dr. Moacir Pasqual

LAVRAS
MINAS GERAIS – BRASIL
2006

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da
Biblioteca Central da UFLA**

Ferreira, Ester Alice

Micropropagação, calogênese e irradiação da figueira 'Roxo de Valinhos' / Ester Alice Ferreira. -- Lavras : UFLA, 2006.

93p. : il.

Orientador: Moacir Pasqual.

Tese (Doutorado) – UFLA.

Bibliografia.

1. Mutação. 2. Radiação gama. 3. Irradiação *in vitro*. 4. Calogênese. 5. Regulador de crescimento. 6. Micropropagação. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD-634.373

ESTER ALICE FERREIRA

**MICROPROPAGAÇÃO, CALOGÊNESE E IRRADIAÇÃO DA
FIGUEIRA ‘ROXO DE VALINHOS’**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Curso de Doutorado em Agronomia, área de concentração em Fitotecnia para obtenção do título de “Doutor”.

APROVADA em 23 de fevereiro de 2006

Prof. Dr. José Darlan Ramos	UFLA
Prof. Dr. Nilton Nagib Jorge Chalfun	UFLA
Prof. Dr. José Magno Queiroz Luz	UFU
Pesquisador Dr. Ângelo Alberico Alvarenga	EPAMIG

Prof. Dr. Moacir Pasqual - UFLA

Orientador

LAVRAS

MINAS GERAIS - BRASIL

**“Toda boa dádiva e todo dom perfeito vem do alto, descendo do
Pai das luzes em quem não há mudança nem sombra de variação”**

**“Ao criador do DNA, a molécula da vida,
Àquele que permite um simples pedaço de folha transformar-se
em uma planta completa,
evidenciando assim a totipotência, mediante os fenômenos de diferenciação,
de-diferenciação e re-diferenciação.
É a ti Senhor Deus,
que ofereço e dedico, esse humilde trabalho!”**

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, e acima de tudo, minha gratidão a Deus, por sempre ir além de tudo o que penso ou peço!

À minha ‘Grande’ família, em número, altura e principalmente no amor que nos une cada vez mais! Aos meus pais, irmãos, irmãs, cunhados, cunhadas, sobrinhos e sobrinhas. Muito obrigada pelo incentivo e apoio de todos. Amo vocês!!

Ao John Fisher, por estar sempre tão perto, mesmo tão distante...

À Universidade Federal de Lavras, em especial ao Departamento de Agricultura, pela oportunidade de realizar mais este curso e que, durante todos esses anos foi como uma “segunda casa”, onde vivi parte dos momentos de intensos da minha vida, dos quais já sinto saudades!

Ao meu orientador Moacir Pasqual pela orientação, amizade e principalmente pela confiança.

Aos professores do setor de Fruticultura: Carlos Ramirez Rezende e Silva, José Darlan Ramos e Nilton Nagib Jorge Chalfun pelos ensinamentos, conselhos e amizade.

Ao Dr. Ângelo Albérico, pela amizade e valiosa colaboração durante todo o curso.

Ao Antônio Carlos, Antônio Claret e Vantuil, pela ajuda na condução dos experimentos.

Ao Centro de Energia Nuclear da Agricultura (CENA USP), na pessoa do Dr. Augusto Tulmann Neto pela colaboração no ensaio de irradiação.

À Juliana Costa de Rezende e Alba Regina Pereira pela preciosa amizade e ajuda.

Aos amigos do meu convívio diário, àqueles que já não vejo com tanta frequência, aos recém chegados ou àqueles que conheço de longa data, minha gratidão! Tenho certeza de que nossa amizade é um tesouro que não será corrompido pelo tempo e muito menos pela distância...

SUMÁRIO

RESUMO	i
ABSTRACT	ii
CAPÍTULO 1	1
1 Introdução	1
2 Referencial Teórico	3
2.1 Aspectos gerais da figueira	3
2.1.1 Origem e botânica	3
2.1.2 Melhoramento da figueira	4
2.2 A mutação no melhoramento genético	6
2.2.1 A mutação no melhoramento genético de espécies frutíferas	8
2.3 Cultura de tecidos vegetais	10
2.3.1 Aspectos gerais	10
2.3.2 Micropropagação da figueira	11
2.3.3 Calogênese	13
2.3.2 A Cultura de tecidos e a irradiação	17
3 Referências Bibliográficas	18
CAPÍTULO 2: Sensitividade de plântulas de figueira 'Roxo de Valinhos' à irradiação gama	30
1 Resumo	31
2 Abstract	32
3 Introdução	33
4 Material e Métodos	34
5 Resultados e Discussão	37
6 Conclusões	41
7 Referências Bibliográficas	41
CAPÍTULO 3: Calogênese em plântulas de figueira.....	44

1	Resumo	45
2	Abstract	46
3	Introdução	47
4	Material e Métodos	48
5	Resultados e Discussão	50
6	Conclusões	58
7	Referências Bibliográficas	58
	CAPÍTULO 4: Micropropagação da figueira ‘Roxo de Valinhos’	63
1	Resumo	64
2	Abstract	65
3	Introdução	66
4	Material e Métodos	67
5	Resultados e Discussão	68
6	Conclusões	76
7	Referências Bibliográficas	77
	ANEXOS	81

RESUMO

FERREIRA, Ester Alice. **Micropropagação, calogênese e irradiação da figueira ‘Roxo de Valinhos’** Lavras: UFLA, 2006. 93p. Tese Doutorado em Agronomia/Fitotecnia *

Foram conduzidos três ensaios *in vitro* com a figueira ‘Roxo de Valinhos’. O primeiro teve como objetivo verificar a sensibilidade de explantes à irradiação gama em que plântulas foram separadas por tamanho (2,5 a 4,5; 5 a 7 e 8 a 10 cm) e levadas ao Centro de Energia Nuclear (CENA USP), irradiadas nas doses 10, 20, 30, 40 e 50 Gy, inoculadas em meio WPM, separando-se as gemas apical, mediana e basal e avaliadas após 90 dias quanto à mortalidade, ao número de folhas e à altura. No segundo, avaliaram-se o uso de segmentos nodais e foliares, o cultivo no claro e no escuro e a melhor combinação 2,4D e cinetina, nas concentrações 0; 0,5; 1,0; 2,0 e 4,0 mgL⁻¹ na calogênese *in vitro*. As variáveis avaliadas foram: intensidade de crescimento e peso da massa fresca de calo. O terceiro ensaio buscou a otimização de protocolo de micropropagação, testando: 1) alterações na concentração do meio WPM – 0%, 50%, 100%, 150% e 200% e de sacarose – 0, 10, 20 e 40g e 2) inoculação de segmentos nodais com 1, 2, 3 e 4 gemas, em combinação com diferentes doses de cinetina à 0; 0,5; 1,0; 2,0 e 4,0 mgL⁻¹. Avaliações foram efetuadas após 90 dias de inoculação pelo número de brotações, comprimento e peso da matéria seca de parte aérea e de raiz. Os resultados obtidos nos ensaios mostraram que doses de até 50 Gy não provocam morte de plântulas; doses superiores a 30Gy impedem a formação de raízes, plântulas com 2,5 a 5 cm de tamanho irradiadas a 10 Gy apresentam maior comprimento de parte aérea e maior número de gemas e o aumento nas doses de irradiação provoca redução no peso das plântulas para qualquer tamanho de plântula irradiada. A calogênese em figueira ‘Roxo de Valinhos’ pode ser obtida cultivando-se segmentos foliares, na presença de luminosidade e utilizando 2,4D e cinetina ambos na concentração 4 mgL⁻¹. Na multiplicação de brotações de figueira ‘Roxo de Valinhos’, pode-se usar 100% do meio WPM com adição de 10gL⁻¹ de sacarose. Quando se deseja produzir brotos alongados, a utilização do meio de cultura sem adição de cinetina e segmentos com 1 ou 2 gemas proporciona melhores resultados. A adição de cinetina 0,5 mgL⁻¹ e a utilização de segmentos com 3 gemas promove maior número de brotações.

* Orientador: Prof. Dr. Moacir Pasqual – UFLA

ABSTRACT

FERREIRA, Ester Alice **Micropropagation, callogenesis and irradiation of fig plants 'Roxo de Valinhos'** Lavras:UFLA, 2006. 93p. Thesis Doctorate in Agronomy/Crop Science *

It was carried out three *in vitro* works with 'Roxo de Valinhos' fig plants. The first one aimed to verify the sensibility of explants to gamma radiation and the plantlets were separated by size (2,5 to 4,5; 5 to 7 and 8 to 10 cm) and were taken to the Nuclear Energy Center, irradiated on the doses 10, 20,30,40 e 50 Gy and cutted separating the bud portion: apical, medium and base. It was evaluated 90 days after inoculation by mortality, anomalies, number of leaves and length of aerial part. On the second work, it was evaluated the efficiency of nodal and leaves explants, the effects of light and dark and the best combination of 2,4D and kinetin at 0; 0,5; 1,0; 2,0 e 4,0 mgL⁻¹ in the *in vitro* callogenesis. The characteristics evaluated were: growing intensity and weight of fresh mass of calluses. The third work aimed to optimize the micropropagation protocol testing: 1) alteration on WPM concentration - 0, 50,100,150 e 200% and the sucrose - 0,10,20 e 40g; 2) inoculation of nodal explants with 1,2,3 and 4 buds in combination with different doses of kinetin at 0; 0,5;1,0; 2,0 e 4,0 mgL⁻¹.The evaluation were carried out 90 days after the inoculation by: root and aerial part high; weight of root and aerial part. The results revealed that doses until 50 Gy do not cause death of plantlets; doses over 30Gy block root formation, plantlets size 2,5 to 5 cm irradiated at 10 Gy present higher lengths of aerial part and number of buds and the increase of irradiated doses caused reduction on the weight of plantlets in any size of plantlets. The callogenesis on fig plants 'Roxo de Valinhos' can be obtained by leaves explants, absence of light and presence of 2,4D and kinetin at 4 mgL⁻¹. On the sprouts multiplication can be taken 100% of WPM medium added with 10gL⁻¹ of sucrose. When it is wished elongated sprout the use of medium without kinetin and explants with 1 or 2 buds promote best results. Adding 0,5 mgL⁻¹ of kinetin and taking explants with 3 buds promote larger sprouts number.

* Adviser: Dr.Moacir Pasqual – UFLA

CAPÍTULO 1

1 INTRODUÇÃO

A produção nacional de figos é de, aproximadamente, 25.586 toneladas ocupando uma área 3.130 ha (Anuário Brasileiro da Fruticultura 2005). Embora sejam dados modestos, quando comparados aos de outras frutíferas, estes conferem ao Brasil a segunda posição mundial no ranking de exportações de frutas frescas. A principal vantagem brasileira é a produção no período de entressafra da Turquia, maior exportador mundial.

Com um novo incentivo à fruticultura brasileira, notadamente em regiões tropicais, a fruticultura também despertou o interesse nos produtores do nordeste e, em 2004, o Ceará exportou sua primeira safra de figos. Segundo empresários que investem no setor, a grande vantagem de plantar na região é a existência da temperatura constante e a iluminação solar ampla e sem variações bruscas durante o ano. Para se ter uma idéia desta vantagem, enquanto no interior de São Paulo, atual responsável por 80% da produção nacional, colhe-se de 18 a 20 toneladas em uma figueira com cinco anos de idade, no Ceará a mesma produção é atingida com 3 anos. Para o ano safra 2005-2006, a expectativa é de uma produção de cerca de 60 toneladas e, para os próximos dois anos, a meta é ampliar ainda mais a produção (CINEC - Centro Internacional de Negócios do Ceará, 2006).

Entretanto, alguns entraves podem comprometer a expansão da fruticultura nacional. A 'Roxo de Valinhos' é a única cultivar plantada comercialmente no Brasil. Embora muito apreciada pelos produtores, principalmente pela sua rusticidade, elevado vigor e produtividade, apresenta problemas fitossanitários, como a ocorrência do vírus do mosaico e de nematóides. Estes patógenos estão presentes em boa parte dos plantios

comerciais e, aliados à propagação exclusivamente vegetativa, pelo método de estaquia, contribuem para a disseminação dos mesmos, agravando ainda mais a situação.

A “mosca-do figo” (*Zaprionus indianus*) vem, desde 1999, ameaçando os pomares de figo e, mais recentemente, exigindo a adoção de técnicas eficientes ao seu combate, pois o uso exclusivo de inseticida tem se mostrado ineficaz (Raga et al. 2003).

A situação atual aponta para a necessidade de se apresentar novas variedades aos produtores, com características superiores à atual. Todavia, os programas de melhoramento de figueira pelos métodos convencionais não existem no Brasil, uma vez que não há ocorrência da vespa *Blastophaga psenes*, responsável pela polinização natural.

A produção de mudas sadias e isentas de patógenos é outro aspecto a ser considerado, pois, diante da expansão da ficicultura, há perspectivas de grande demanda deste importante insumo.

Neste contexto, a biotecnologia e nela, a cultura de tecidos, se apresenta como alternativa viável para apoiar os programas de melhoramento genético. A irradiação de plântulas *in vitro* produz mutação e tem como principais vantagens a redução de tempo e espaço, que são os principais entraves no melhoramento convencional. A formação de calos, uma massa células, seria outra forma de se obter nova variedade, uma vez que as células produzidas apresentam altas taxas de variação genética que podem ser herdáveis e transmitidas aos seus descendentes (Tao et al. 2002).

Pela cultura de tecidos, é possível ainda, em condições assépticas, garantir a produção de mudas sadias, em grande escala e num curto espaço de tempo. Embora existam alguns ensaios com micropagação da figueira ‘Roxo de Valinhos’ são ainda necessários outros, buscando a otimização do protocolo.

Diante do exposto, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a sensibilidade de plântulas de figueira à irradiação, realizar estudos preliminares na indução da calogênese e buscar novas opções para a micropropagação *in vitro*.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Aspectos gerais da figueira

2.1.1 Origem e botânica

A figueira é uma das frutíferas mais antigas cultivadas no mundo. É considerada como fruta sagrada nos livros santos e teve importante função na mitologia de muitas sociedades. Botanicamente identificada como *Ficus carica* L., o figo pertence à família *Moraceae*; é um diplóide com número básico de cromossomos $2n=26$, não sendo relatada a existência de indivíduos com outras ploidias (Simão,1998).

Originou-se, provavelmente, no sul da Arábia, onde figos selvagens ainda podem ser encontrados. Foi cultivada por fenícios, sírios, egípcios, gregos e, então, ao redor do Mediterrâneo. Segundo Storey (1975), citado por Tulmann Neto et al (2000), o nome específico *carica* refere-se a Caria, uma antiga região da Ásia Menor com notável produção de figos. O seu cultivo foi ganhando fronteiras e, nos dias de hoje, é plantado em quase todos os países do mundo (FAO, 2004), sendo mais comum em regiões de clima temperado, mas presente também em regiões de clima tropical e subtropical.

A espécie *Ficus carica* é a única cultivada e é classificada em dois tipos: figos comestíveis e os caprifigos. Os figos comestíveis, segundo Givan (1999), são divididos em três classes:

1- Smyrna ou caducos, que são aqueles que necessitam de polinização para frutificação;

2- Comum, ou persistente, aqueles que não necessitam de polinização e cujos frutos são produzidos partenocarpicamente;

3- São Pedro, ou intermediário, que são aqueles que não necessitam de polinização para a primeira safra, mas precisam para as demais.

No Brasil, a única cultivar plantada comercialmente é a ‘Roxo de Valinhos’ uma figueira do tipo comum, introduzida no início do século XIX, no município de Valinhos, SP. É caracterizada pelo vigor, rusticidade e produtividade. Seus frutos se desenvolvem por partenocarpia, são grandes, periformes, alogandos, com pedúnculo curto, coloração externa roxo-escura, com polpa de cor rosa-violácea e, quando maduros, os frutos são tenros e saborosos.

Como sinônimos da cv. Roxo de Valinhos têm-se: ‘Corbo’, ‘Piombiense’, ‘Nero’, ‘Rubicone’, ‘Arbicone’, ‘Minna di Schiavo’, ‘Ficu Minni di Scava’, ‘Fallugiana’, ‘Breva Negra’, ‘Grosse Violette Longue’, ‘Grosse Violette de Bourdeaux’, ‘Grosse Rouge de Bourdeaux’, ‘Gena Black’, ‘Aubique Noire’, ‘Aubicou ou Aubicou Noir’, ‘Albacor ou Albaco’, ‘Negro Largo’, ‘Negro d’Epagne’, ‘San Pedro Black’, ‘Duro Black’, ‘Brown Turkey’, ‘Fico Nero’, ‘Noir de Languedo’, ‘Nigra’, ‘Masui Dauphine’, ‘Thompson Improved’, ‘Granata’ e ‘San Piero’ (Maiorano et al., 1997).

2.1.2 Melhoria da figueira

O melhoramento convencional da figueira é dependente da polinização que é realizada pela vespa *Blastophaga psenes*, sendo o processo denominado caprificação. O processo se dá quando a referida vespa procura um local, dentro das flores de figo, para realizar a ovoposição e, assim, ao penetrar numa flor masculina, tem seu corpo coberto por pólen que vai sendo liberado quando ela penetra em flores femininas (Condit, 1955).

Os trabalhos básicos de melhoramento genético com a espécie *Ficus carica*, ou até mesmo com o gênero *Ficus*, são raros. Givan (1999) relata que os Estados Unidos mantêm um programa de melhoramento genético da figueira e alguns dos materiais criados estão preservados no *USDA Clonal Resources Depository and University of Davis* Califórnia.

A vespa responsável pela polinização não ocorre no Brasil, fazendo com que os programas de melhoramento genético de figueira por métodos convencionais sejam inexistentes. O fato de ser uma única cultivar plantada e com propagação predominantemente vegetativa, apresentando pouca variabilidade genética, faz com que as características a serem melhoradas estejam, principalmente, no âmbito fitossanitário.

Os principais problemas apresentados pela cultura da figueira são o vírus do mosaico e a ocorrência de nematóides que, juntos, têm trazido grandes problemas aos ficicultores nacionais.

O vírus do mosaico da figueira é transmitido pelo ácaro *Aceria ficus* ao picar a planta. Entretanto, o controle do ácaro não elimina a doença que, uma vez instalada no pomar, traz redução significativa na produtividade. Outro aspecto na cultura que favorece a disseminação desse patógeno é a transmissão por estaquia, principal forma de propagação da figueira (Chalfun et al., 1999).

No caso de nematóides, a figueira é parasitada por dois gêneros: *Heterodera fici* e *Meloydogine incognita* que, juntos, constituem o maior problema fitossanitário da ficicultura, pois podem levar à morte da planta, dependendo do grau de ataque. A forma mais eficiente de controle é a utilização de porta-exertos resistentes, porém, estes ainda não são encontrados no Brasil (Campos, 1997).

A "mosca-do-figo", *Zaprionus indianus* Gupta, foi registrada no início de 1999, no município de Valinhos, SP, atacando figos (Vilela et al., 2000). Embora tenha diversos frutos hospedeiros (Souza Filho et al., 2000), foi na

cultura do figo que a *Z. indianus* se tornou praga limitante e vem, desde a safra 1998/1999, exigindo a adoção de diferentes técnicas de combate, pois o uso exclusivo de inseticidas mostrou-se ineficaz (Raga et al. 2003).

2.2 A mutação no melhoramento

Segundo Ramalho et al. (2004), mutações são mudanças herdáveis que representam as bases da variação e, portanto, servem como matéria-prima para os processos de melhoramento genético e evolução. Sendo herdáveis, essas mutações devem ocorrer na seqüência de nucleotídeo do gene, provocando alterações do mesmo e, conseqüentemente, produzindo novas formas alternativas, os alelos. Os mesmos autores comentam que existem várias causas que podem provocar a mutação gênica, mas que apresentam sempre uma característica em comum: todas afetam a seqüência de bases nitrogenadas do DNA.

Segundo Walther & Sauer (1986), o primeiro passo para a utilização da mutagênese é a realização de testes preliminares utilizando doses crescentes do agente mutagênico. Um método para determinação da dose de radiação absorvida pelo material é baseado na radiosensitividade, a qual é estimada por meio da resposta fisiológica do material irradiado.

Os critérios geralmente usados na seleção são LD 30 ou LD 50 que causam 30% ou 50% de letalidade ou, então, doses que causam redução do crescimento, formação de brotações, comparado ao controle no primeiro ciclo vegetativo após o tratamento, convencionalmente chamado de M1V1 (Gaul, 1977).

Para indução de mutação, é necessário escolher entre os dois grupos de agentes mutagênicos: físicos e químicos. Os mutagênicos químicos compreendem uma série de substâncias que atuam no núcleo, reagindo com o DNA das células, promovendo mutação (Tulmann Neto et al. 1999). Estes têm

sido pouco utilizados devido à dificuldade na penetração nos tecidos, principalmente em se tratando de espécies de propagação vegetativa nas quais se utilizam estacas, gemas, mudas enraizadas e outras partes da planta. Os mutagênicos físicos compreendem os diversos tipos de radiações, como os raios ultravioletas (U.V.), radiações eletromagnéticas (raios X e gama) e radiações corpusculares (partículas alfa, beta, prótons, nêutrons, etc).

No caso de mutagênicos físicos por radiações eletromagnéticas, a escolha da dose correta de irradiação constitui etapa indispensável no processo. A dose de radiação é a medida usual de uma radiação ionizante e corresponde à quantidade de energia absorvida por unidade de massa de tecido irradiado. A unidade da dose absorvida, definida mais recentemente pelo Sistema Internacional de Unidade, é o Gray (Gy) e quando liberada é formada pelo produto da intensidade da radiação (taxa) e a duração de exposição; assim, diferentes doses podem ser dadas, variando a taxa ou o tempo da exposição. Logo, a taxa de dose absorvida é usualmente expressa em Gy/h; Gy/min; Gy/s;

A radiosensibilidade refere-se à sensibilidade do material vegetativo ao efeito dos mutagênicos, sejam esses físicos ou químicos, varia entre espécies e dentro de espécies sendo dependente do volume nuclear ou conteúdo de DNA (Walther & Sauer, 1986). O número de cromossomos e o nível de ploidia são fatores genéticos que influenciam a sensibilidade dos genótipos.

A sobrevivência de plantas (LD 50) é um dos parâmetros mais importantes a serem levados em conta na escolha da dose mais adequada. Geralmente, em doses baixas de irradiação, a sobrevivência de plantas é maior, mas diminui a frequência de mutações. Altas doses aumentam a frequência de mutação, mas, ao mesmo tempo, proporcionam diminuição na taxa de sobrevivência e na capacidade de regeneração do material induzido. Sabe-se também que, em doses mais altas, maior é o risco de que uma mutação desejável

venha também acompanhada de uma mutação indesejável (Tulmann Neto et al. 1999).

O mesmo autor relata que, em princípio, qualquer parte da planta pode servir de material a ser irradiado, sendo: estacas com gemas axilares, sementes, folhas, pólen, gemas axilares, ou explante, como meristemas, protoplastos, calos, etc.

A mutação é um evento unicelular e, quando o material escolhido para tratamento é de origem multicelular, automaticamente há ocorrência de quimerismo, que é o aparecimento de mais de dois genótipos na parte da planta tratada. A formação de quimeras constitui um dos principais obstáculos no melhoramento de plantas e está associada a todos os fatores que influenciam a mutagênese, tais como o tipo e a dose do mutagênico e do período pré e pós-tratamento (Broertjes & Van Harten, 1988).

Na ocorrência de quimerismo, é necessário que se permita a manifestação e ou ampliação do setor mutado, de forma que se possa obter mutante sólido, com todas as camadas celulares compostas de um único genótipo. Um dos métodos mais utilizados é o de podas ou repicagens sucessivas, que permite o avanço de gerações (“cutting back method”). As sucessivas propagações tendem a ampliar os setores e a estabilizar as quimeras (Donini & Micke, 1984).

Há trabalhos que citam o avanço de duas ou três gerações (Broertjes & Van Harten, 1988); outros apenas uma (Datta, 1992). Latado (1993) avançou seis gerações e concluiu que na quarta geração houve estabilização na mutação.

2.2.1 A mutação no melhoramento de espécies frutíferas

Encontram-se na literatura vários exemplos de cultivares frutíferas obtidas por meio de indução de mutação; sendo a maioria, mutagênicos físicos com utilização de raios gama (Sanada & Amano, 1998).

Em ameixeira por meio de irradiação com raios gama, micropropagação *in vitro* e posterior avaliação no campo, foram selecionados mutantes de porte compacto (Predieri & Gatti 2000). Kuksova et al.(1997) obtiveram, a partir da irradiação de folhas de videira com raios gama *in vitro*, aumento da variabilidade genética e plantas tetraplóides. Em bananeira, Bhagwat & Duncan (1998 a,b) submetem ápices meristemáticos à irradiação e obtiveram mutantes tolerantes ao mal-do-panamá.

Existem alguns relatos sobre o uso dessa técnica no melhoramento genético da figueira. Akuhund-Zade (1981) tratou com raios gama, em doses que variaram de 50 a 100 Gy, estacas com gemas auxiliares e, tendo sucesso na mutação, obteve mutantes de porte compacto e mutantes precoces. Este material foi submetido a ensaios de produção, sendo posteriormente lançada a cultivar ‘Bol’ para os produtores.

Kerkadze (1987), em ensaios realizados na Rússia, obteve um mutante de figueira, a cultivar Bolinhzhir, após irradiação nas mesmas dosagens (50 a 100 Gy). Spiegel-Roy (1990) realizou ensaios com gemas dormentes que foram irradiadas com raios gama e a dose que causou 50% da letalidade (LD50) foi determinada como 25 Gy.

No Brasil, Santos et al. (1997), realizaram ensaio visando à indução de mutação em figueira cv. Roxo de Valinhos. Dentre os objetivos, os autores relataram a obtenção de porte compacto, precocidade, resistência a nematóides. Foram utilizadas na irradiação estacas com gemas dormentes de 30 cm e como resultado parcial os autores concluíram que a dose a ser utilizada seria de 30Gy.

2.3 Cultura de tecidos vegetais

2.3.1 Aspectos gerais

A cultura de tecidos vegetais compreende um conjunto de técnicas nas quais um explante (célula, tecido ou órgão) é isolado e cultivado sob condições de plena assepsia, em meio nutritivo artificial (Caldas et al., 1998).

Por meio da cultura de tecidos é possível a obtenção de plantas livres de viroses, a preservação e o intercâmbio de germoplasma, a hibridação interespecífica e intergenérica, a indução de mutação pela variação somaclonal, a produção de metabólitos secundários, etc. (Pasqual, 2001).

Para que se tenha sucesso nessa técnica, o meio nutritivo deve suprir os tecidos e ou órgãos cultivados *in vitro* com nutrientes necessários ao crescimento como sais minerais e carboidratos. Entre os meios mais utilizados destaca-se o MS, desenvolvido por Murashigue & Skoog (1962), caracterizado por proporcionar melhor crescimento de células e tecidos devido à alta concentração de sais presentes neste meio. O segundo meio mais utilizado é o *wood plant medium* (WPM) formulado por Lloyd & Mc Cown (1981) que, segundo Pasqual (2001), foi desenvolvido para cultura de brotações em plantas lenhosas, com 25% das concentrações de íons nitrato e amônia do meio MS, maior concentração de potássio e alto nível de sulfato, sendo amplamente utilizado na micropropagação de árvores e arbustos.

A adição de reguladores de crescimento ao meio de cultura tem como objetivo principal suprir as deficiências dos teores endógenos de fitormônios nos explantes que se encontram isolados das regiões produtoras na planta-matriz. São cinco as classes de fitohormônios: auxinas, citocininas, giberelinas, ácido abscísico e etileno.

Entre as citocininas, a cinetina é um dos reguladores de crescimento mais usados, precedido apenas da benzilaminopurina. Dentre as auxinas mais utilizadas estão o ácido indol butírico e o ácido indol acético, usados

principalmente na fase de enraizamento *in vitro* e o ácido 2,4 Diclorofenoxiacético, é usado na indução de calos e embriogênese somática (Grattapaglia & Machado, 1998).

2.3.2 Micropropagação da figueira

A micropropagação ou propagação vegetativa *in vitro* é uma das técnicas de cultura de tecidos de maior utilização, com destaque especial para as plantas que são de difícil propagação pelos métodos convencionais, permitindo a obtenção de grande número de plantas saudáveis e geneticamente uniformes em um curto período de tempo.

Segundo Grattapaglia & Machado (1998), a multiplicação do material vegetal por meio da micropropagação pode ser: a) por meio de proliferação de gemas axilares, b) mediante indução de gemas adventícias por organogênese direta ou indireta (passando pela fase de calo) e c) via embriogênese somática direta ou indireta (formando calo).

Na fruticultura, a micropropagação se destaca com aplicações mais práticas, uma vez que o sucesso na implantação de um pomar está intimamente ligado à qualidade da muda.

No caso de figueira, diversos ensaios vêm sendo realizados nesta área buscando uma metodologia para sua micropropagação. Hu & Guo (1994) citam que os fatores que mais influenciam no desenvolvimento *in vitro* de brotações de figos são: cultivar, tecido cultivado, meio de cultura e estado da planta matriz.

Ensaios com diversas variedades de *Ficus carica*, envolvendo a produção de plantas livres de vírus por meio da cultura de meristemas, foram realizados por Murithi et al., (1982); Pontikis & Melas (1986), Haelterman & Docampo (1994), Nobre et al (1998), Demiralay et al. (1998), Kumar et al. (1998).

Outros estudos buscando limpeza viral foram realizados por Demiralay (1998) com meristemas retirados de brotações em diferentes épocas do ano (abril a outubro), concluindo que a época de colheita não afeta a viabilidade e a proliferação de brotos, e que a presença de carvão ativado no meio proporciona melhor desenvolvimento. O mesmo autor relata que os principais entraves ao cultivo de meristemas de figueira são o crescimento lento e o escurecimento.

Em ensaio realizado com a cultivar Bursa Siyahi, meristemas retirados de plantas com 10 anos de idade foram cultivados em meio MS contendo 1 mgL^{-1} de BAP e 1 mgL^{-1} de ANA, mantidos no escuro por uma semana para prevenir oxidações obteve crescimento, porém, sem desenvolvimento de brotações (Gunver & Ertan, 1998).

Pontikis & Melas (1986), buscando um protocolo de cultivo *in vitro* para plantas de figueira variedade Kalamon, concluíram que é necessária a adição de floroglucinol ao meio de cultivo para a obtenção de brotações laterais. Já Kumar et al. (1998) cultivaram gemas apicais obtidas de plantas de oito anos de idade em meio MS contendo 2 mgL^{-1} de ANA e obtiveram taxa de proliferação de 90%. Posteriormente, transferiram as plântulas para meio MS semi-sólido contendo 2 mgL^{-1} de AIB e 0,2% de carvão ativado e obtiveram alta porcentagem de enraizamento de plantas que, quando aclimatizadas, apresentaram 68% de taxa de sobrevivência.

Songul et al. (2005) realizaram ensaios com meristema de figueira buscando limpeza viral das cultivares Bursa Siyahi e Alkuden, utilizaram termoterapia e cultivo em meio MS adicionado com diferentes concentrações de GA_3 , BAP e AIB. Os autores concluíram que a cultura de meristema juntamente com a termoterapia é recomendada para limpeza viral de figueira; que $0,2 \text{ mgL}^{-1}$ de GA_3 e $0,5 \text{ mgL}^{-1}$ de BAP promoveram maior sobrevivência e que $0,2 \text{ mgL}^{-1}$ de GA_3 e $2,0 \text{ mgL}^{-1}$ de BAP propiciaram maior formação de raízes.

São poucos os trabalhos que envolvem o cultivo *in vitro* da figueira cv. Roxo de Valinhos. Barbosa et al. (1992) buscando a produção de mudas de figueira a partir de meristema determinaram dois tipos de meios para o crescimento, proliferação e enraizamento dos explantes. No primeiro, utilizaram sais do meio MS acrescido de tiamina 10mgL^{-1} , ácido nicotínico 2mgL^{-1} , piridoxina 12mgL^{-1} , mio-inositol 100mgL^{-1} , cisteína 80mgL^{-1} , sacarose 30mgL^{-1} e ágar $6,4\text{gL}^{-1}$ além dos fitorreguladores BAP 1mgL^{-1} , GA_3 3mgL^{-1} e ANA 1mgL^{-1} . No segundo, utilizaram meio idêntico ao anterior, com adição de 3gL^{-1} de carvão ativado.

Brum (2001) avaliou o comportamento *in vitro* da cv. Roxo de Valinhos nos meios MS, Knudson, WPM, White e B5, cada um associado a quatro concentrações de sacarose (0, 15, 30 e 45gL^{-1}). Concluiu que o meio WPM proporcionou melhores resultados, como: maior número de brotos, maior comprimento de raiz e parte aérea.

Fráguas et al. (2004), em ensaios realizados buscando a otimização do protocolo para micropropagação de figueira cv. Roxo de Valinhos verificaram que o meio WPM, em combinação com $0,5\text{mgL}^{-1}$ de cinetina, foi a melhor condição para proliferação de brotos e que a adição de carvão ativado no meio inibe essa brotação. A adição de BAP levou à formação excessiva de calos e à ocorrência de vitrificação, enquanto que GA_3 promoveu alongamento e vitrificação.

2.3.4 Calogênese

Calogênese é uma cultura de massa celular, com crescimento desordenado e certo grau de diferenciação (Torres et al., 2000). Os calos se desenvolvem em resposta a injúrias físicas ou químicas, mediante a alteração do balanço hormonal específico para cada cultivar, originando proliferação contínua e desordenada de células (George, 1996).

De acordo com Stafford & Warren (1991), o estabelecimento da cultura de calos é dividido em três etapas: (1) indução, ativação do metabolismo para a desdiferenciação e divisão celular; (2) divisão celular e (3) diferenciação, em que as células tornam-se maiores, vacuolizadas e a taxa de divisão diminui, ocorrendo o equilíbrio entre a divisão e a expansão celular.

No que se refere ao meio de cultivo, este deve conter sais, fonte de carbono e vitaminas em concentrações adequadas à indução da calogênese. Vietez & San-José (1996) ressaltam a necessidade do suprimento exógeno de reguladores de crescimento, pois, o balanço hormonal entre os níveis de citocininas e auxinas, exógenas e endógenas, propiciam maior proliferação celular.

As auxinas são indispensáveis à formação de calos, uma vez que são responsáveis pelo início da divisão celular e pelo controle dos processos de crescimento e alongamento celular. Segundo Grattapaglia & Machado (1998), a produção de calos é estimulada em quantidades excessivas de auxinas, mas pode ocorrer, inclusive, em baixas concentrações.

Dentre as auxinas sintéticas mais utilizadas na indução de calos destaca-se o 2,4D. George (1996) comenta que o 2,4 D tem efeito no metabolismo do RNA, induzindo a transcrição de RNAs mensageiros capazes de decodificar proteínas requisitadas para o crescimento que podem induzir a proliferação celular desordenada.

Assim, a cultura de calos pode ser originada a partir dos diferentes órgãos da planta. Entretanto, procura-se utilizar aqueles que contenham maior proporção de tecido meristemático ou que apresentem maior capacidade de expressar a totipotência (Grattapaglia & Machado 1998). Pierik (1990) resalta que explantes oriundos de tecidos jovens, não lignificados, são mais apropriados para esse fim, por possuírem alta capacidade de regeneração.

Muitos são os fatores que influenciam o comportamento do explante no meio de cultura, incluindo o órgão que serve como fonte de tecido, a idade fisiológica do órgão, o tamanho do explante e, acima de tudo, a qualidade da planta doadora (Thorpe & Patel, 1984).

No local de cultivo, para melhor indução de calos, a temperatura pode ser entre 25°C a 30° C, na presença ou na ausência de luz. Algumas espécies são indiferentes à luz para a formação de calos; em outros casos, entretanto, a luz pode favorecer a produção de compostos fenólicos, os quais interferem na atividade do regulador de crescimento, comprometendo a divisão celular. É importante ressaltar a sensibilidade das auxinas naturais à luminosidade que podem sofrer fotodegradação, diminuindo a quantidade de auxinas totais e comprometendo o processo.

A cultura de células tem sido amplamente utilizada em trabalhos de pesquisa envolvendo diversas áreas, como engenharia genética, fisiologia, bioquímica e outras. É utilizada para estudar isolamento de protoplastos, tipos de células, seleção celular, embriogênese somática, organogênese e produção de metabólitos secundários (Pinto & Lameira, 2001).

Inúmeros trabalhos vêm sendo desenvolvidos envolvendo calogênese, em estudos envolvendo a produção de metabólitos secundários em plantas medicinais, como carqueja (*Baccharia trimera* Less D.C.) (Silva, 2001), murici-pequeno (*Bysonima intermédia* A. Juss.) (Nogueira, 2003, Tao et al., 2002) e com embriogênese somática para cafeeiro (*Coffea arabica* L.) (Palú 2002; Pereira 2005) .

Uma das justificativas da necessidade de estudos envolvendo calogênese na cultura da figueira é a indução de calo como material inicial para variação somaclonal, com possível obtenção de variação genética.

A variação somaclonal é um termo que descreve as variações observadas entre os tecidos cultivados *in vitro* (Larkin & Scowcroft, 1981),

sendo vista como fonte adicional de variabilidade, importante para plantas propagadas vegetativamente como a figueira.

As causas prováveis que induzem esse fenômeno são várias e de natureza bastante distintas, como: variação preexistente (Larkin & Scowcroft, 1981), mutação nuclear ou citoplásmica (Brettell et al. 1986; Evans e Sharp, 1983), poliploidia ou outras aberrações cromossômicas (Ahloowahlia, 1982; Orton, 1983) e recombinação mitótica (Larkin e Scowcroft, 1981; 1982), entre outras.

Outro fator importante que pode afetar a variação somaclonal é a composição química do meio de cultura (Forche & Yeoman, 1980). Reguladores de crescimento, como o 2-4 D, podem exercer grande influência nas alterações do cariótipo, provocando crescimento desordenado das estruturas celulares, com conseqüente surgimento de células com anomalias (Bayliss, 1975; Evans et al., 1984).

A regeneração de plantas a partir de células somáticas pode ser uma boa alternativa na indução de variações somaclonais, com aplicabilidade nas diversas técnicas de manipulação gênica (James, 1987).

Camargo et al. (1999) relatam que plantas regeneradas a partir de calos apresentam altas taxas de variação genética que podem ser herdáveis e transmitidas aos descendentes. Essa variação pode chegar até próximo de 100% das plantas com alguma alteração, dependendo da espécie, da metodologia empregada e das características estudadas (Tao et al., 2002).

A obtenção de variantes somaclonais é relativamente comum em espécies vegetais, como cevada (Bregitzer & Poulson, 1995), feijão (Mohamed, Coine e Read, 1993), trigo (Guensi et al. 1992), ervilha (Cecchini et al. 1992), aveia (Dahleen et al. 1991). Estudos envolvendo calogênese visando à obtenção de variação somaclonal foram realizados por Ancherani et al. (1990), Flores et

al. (1998) e Camargo et al. (1999), com as frutíferas maçã e morango, respectivamente.

2.3.5 A cultura de tecidos e a irradiação

Com as técnicas *in vitro* é possível o manuseio de grande população para o tratamento mutagênico, seleção e clonagem dos variantes selecionados. Oferece, ainda, a possibilidade de executar rapidamente os ciclos de propagação pelos subcultivos na separação dos setores mutados dos não mutados (Ahloowalia, 1998).

Segundo Yamaguchi (1980), em plantas de propagação vegetativa, quanto mais jovem for o meristema submetido à irradiação, menor será o número de quimeras formadas. Tulman Neto et al. (1999) afirmam que o tratamento mutagênico de protoplastos, calos embriogênicos, células em suspensão e a indução de gemas adventícias de origem unicelular *in vitro* poderão resultar na obtenção de mutantes sólidos. O mesmo autor sugere, como alternativa viável para o isolamento de mutações somáticas, a realização de podas repetidas *in vitro*, ou seja, a irradiação de plantas cultivadas *in vitro* e o avanço de gerações a partir do cultivo de internódios em meio de cultura apropriado.

Broertjes et al (1968), citados por Tulmann Neto (2000), relatam que, quando a regeneração é proveniente de gemas adventícias, dá origem a mutantes estáveis porque, em muitos casos, essas gemas são originadas a partir de uma única célula.

Outras vantagens do uso de irradiação de plântulas *in vitro* são a manutenção das condições fitossanitárias durante todo o processo e o melhor controle dos efeitos ambientais.

Como exemplos de sucesso na irradiação *in vitro* de explantes de espécies frutíferas, têm-se: ameixeira (*Prunus avium* L.), relatado por Walther &

Sauer, (1986); ameixeira japonesa (*Prunus saliciana Lindl.*) cv. Shiro, (Predieri & Gatti, 2000) e videira porta-enxerto Gravesac (Lima da Silva & Doazan, 1995).

3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AHLOOWAHLIA, B.S. Plant regeneration from callus culture in wheat. **Crop Science**, Madison, v.22, p.405-410, Mar./Apr. 1982.

AHLOOWALIA, B.S. *In vitro* techniques and mutagenesis for improvement of vegetatively propagated plants. In: JAIN, S.M.; BRAR, D.S.; AHLOOWALIA, B.S. (Ed). **Somaclonal variation and induced mutation in crop improvement**. London: Kluwer Academic, 1998. p.15, p.293-310.

AKUHUND-ZADE,I.M. Radiation mutagenesis in subtropical crops. **Teor.Prikl.Aspekty Radiata Biology Technology**, p.50-51, 1981.

ANCHERANI, M.; PREDIERI, S; ROSATI, P. Adventitious shoot formation from *in vitro* leaves of MM. 106 apple clonal rootstock. **Acta Horticulturae**, n.280, p.95-98, 1990.

ANUÁRIO BRASILEIRO DA FRUTICULTURA. Santa Cruz do Sul: Gazeta Santa Cruz, 2005.136p.

BARBOSA,W. et al. Produção de mudas de figueira 'Roxo de Valinhos' através da cultura *in vitro*. **O Agrônômico**, Campinas, v.44,n.1/3, p.6-10, jan./dez. 1992

BAYLISS, M.W. The effects of growth in vitro on the chromosome complement of *Daucus carota* L. suspension cultures. **Chromosoma**, Heidelberg, v.51, p.401-411, June 1975.

BHAGWAT, B. ;DUNCAN, E.J. Mutation breeding of highate (*Musa acuminata*, AAA) cubense for tolerance to *Fusarium oxiporum* f. sp. Cubense) using gamma irradiation. **Euphytica**, v.73., n.2.p.143-150, 1998a.

BHAGWAT, B.;DUNCAN, E.J. Mutation breeding of highate (*Musa acuminata*, AAA) cubense for tolerance to *Fusarium oxiporum* f. sp. Cubense) using chemical mutagens. **Scientia Horticulturae**, v.101, n.2, p.11-22, 1998b.

BREGITZER, P.; POULSON M. Agronomic performance of barley lines derived from tissue culture. **Crop Science**, Madison, v.35, p.1144-1148, July/Aug. 1995.

BRETTELL, R.I.S. Molecular analysis of somaclonal mutant of maize alcohol dehydrogenase. **Molecular and General Genetics**, New York, v.202, p.235-239, Feb. 1986.

BROERTJES,; VAN HARTEN. **Applied of mutation breeding for vegetatively propagated crops: developments in crop science**. Amsterdam: Elsevier Scientific, 1988. v.12, 345p.

BRUM, G.R. **Micropropagação da figueira (*Ficus carica* L.) ‘Roxo de Valinhos’**. 2001. 41p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia)-Universidade Federal de Lavra, Lavras, MG.

CALDAS, L.S.; HARIDASAN, P.; FERREIRA, M.E. Meios nutritivos. In: TORRES, A.C.; CALDAS, L.S.; BUSO, J.A. **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: EMBRAPA-SPI/EMBRAPA-CNPQ, 1998. v.1, p.87-132.

CAMARGO, J.T. et al. Efeito do escuro e do seccionamento de internódios do porta-enxerto de macieira, cv. marubakaido, na calogênese *in vitro* **Revista Brasileira de Agrociência**, v.5 n.2, p.81-83, maio/ago.1999

CAMPOS, V.P. Nematóides na cultura da figueira. **Informe Agropecuário** v.18, n.188, p.33-38, 1997.

CECCHINI, E. et al. DNA variations in regenerated plants of pea (*Pisum sativum* L.). **Theoretical and applied genetics**, Berlin, n.84, p.874-879, Sept. 1992.

CHALFUN, N.N.J. et al. **Pragas e doenças da figueira**. Lavras: Editora UFLA, 1999. 13p. (Boletim Técnico).

CONDIT, I.J. Fig varieties: a monograph. **Hilgardia**, Berkeley, v.23, n.11, p.323-538, Feb. 1955.

DAHLEEN, L.S.; STUTHMAN, D.D.; RINES, H.W. Agronomic traits variation in oat lines derived from tissue culture. **Crop Science**, Madison, n.31, p.90- 94, Jan./Feb. 1991.

DATTA, S.K. Gamma radiation studies on *Dendrathera grandiflora* Tzvelev chrysanthemum cultivar induced by gamma irradiation. **Journal of Nuclear Agriculture and Biology**, v.21, p.80-83, 1992.

DEMIRALAY, A. et al. *In vitro* propagaion of *Ficus carica* L. vair Brusa Siyahi through meristem culture. **Acta Horticulturae**, Wageningenn, v.480, p.165-167, 1998.

DONINI, B.; MICKE, A. Use of mutation in improvement of vegetatively propagated crops. In: REGIONAL SEMINAR ON THE UTILIZATION OF INDUCED MUTATIONS FOR CROP IMPROVEMENT FOR COUNTRIES IN LATIN AMERICA, 1., 1984, Lima. **Anais...** Vienna: IAEA, 1984. p.79-98.

EVANS, D.A.; SHARP, W.R. Single gene mutation in tomato plants regenerated from tissue culture. **Science**, Washington, v.221, n.4614, p.949-951, Sept. 1983.

EVANS, D.A.; SHARP, W.R.; MEDINA-FILHO, H.P. Somaclonal and gametoclonal variation. **American Journal of Botany**, Columbus, v.71, n.6, p.759- 774, June 1984.

FOOD AGRICULTURAL ORGANIZATION. **Produção de figo**. Disponível em <<http://www.fao.org>>. Acesso em: 25 set. 2004.

FIEC Centro Internacional de Negócios do Ceará. **Produção de figo**. Disponível em: <<http://www.sfiec.org.br/noticias/export-figo040705.htm>>. Acesso em: 04 jan. 2006.

FLORES, R. et al. Calogênese in vitro de duas cultivares de morangueiro (*fragaria x ananassa*) a partir de discos foliares. **Revista Brasileira de Agrociência**, v.4, n.1, p.9-14, Jan./Apr. 1998

FORCHE, E.; YEOMAN, M.M. Cell proliferation and growth in callus culture. In: _____. **Perspective in plant cell and tissue culture**. New York: Academic, 1980. p.1-24.

FRÁGUAS, C.B. et al. Micropropagation of fig (*Ficus carica* L.) 'Roxo de Valinhos' plants. **In Vitro Cellular Development Biology Plant**, v.40, p.471-474, Sept./Oct. 2004.

GAUL, H. Plant injury and lethaly. In INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY. INDUCED MUTATION IN VEGETATIVELY PROPAGATED PLANT. **Anais...** Vienna: IAEA, 1977. v.2, p.29-36.

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

GIVAN,R. **Botany of fig plants**. 1999. Disponível em: <<http://home.earthlink.net/~raygivan/newyank.html>>. Acesso em 15 dez. 2005.

GRATRAPAGLIA, D.; MACHADO, M.D. Micropropagação. In: TORRES, A.C.; CALDAS, L.S.; BUSO, J.A. **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: EMBRAPA-SPI/EMBRAPA-CNPH, 1998. v.1, p.87-132.

GUENSI, A.C.; MORNHINWEG, D.W.; JOHNSON, B.B. Genetic analysis of a grass dwarf mutation induced by wheat callus culture. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, n.84, p.952-957, Sept. 1992.

GUNVER, G. ve; ERTAN, E. A study on the propagation of figs by tissue culture techniques. In Proceedings of First International Symposium on Fig.Izmir-Turkey,24-28 June 1998. **Acta Horticulturae**, v.480, p.169-172, 1998

HAELTERMAN, R.M.; DOCAMPO, D.M. In vitro propagation of mosaic free fig (*Ficus carica* L.) cultivars, using thermotherapy and shoot tip culture. **Revista de Investigaciones Agropecuarias**, Buenos Aires, v.25, n.3, p.15-22,1994.

HU, J.G.; GUO, J.S. A study on tissue culture of *Ficus carica*. **Journal of Nanjing Forestry University**, v.18, n.3, p.73-76,1994.

JAMES, D.J. Cell and tissue culture technology for genetic manipulation of fruit trees. In: RUSSEL, G.E. **Biothecnology and genetic engineering reviews**. Intercepts, Newcastle-Upon Tyne: v.5, p.33-79, 1987.

KERKADZE, I.G. Radiation mutagenesis in subtropical crops. **Radiatsionnyi - Mitagenez-I-Ego-Rol-V-Evolutsii-I-Seleksii**, p.231-254, 1987.

KUMAR,V.;RODHA,A. CHITTA,S.K. In vitro plant regeneration of Fig (*Ficus carica* L. cv. Gular) apical buds from mature trees. **Plant Cell Reports**, v.17, n.9, p.717-720, 1998.

LARKIN, P.J.; SCOWCRAFT, W.R. Somaclonal variation- a new soured of variability from cell culture for plant improvement. **Theoretical and Applied Genetics**, v.60, p.197-214, 1981.

LARKIN, P.J.; SCOWCROFT, W.R. Tissue culture research: status and potential. In: RICE TISSUE CULTURE PLANNING CONFERENCE, 1980, Manila, Filipinas. **Proceedings...** Manila: IRRI, 1982. p.15-24.

LATADO, R.R. **Indução e uso de mutações in vivo e in vitro no melhoramento do *Chrysanthemum morifolium* Ram.** 1993. 103p. Dissertação (Mestrado em Melhoramento Genético) Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, SP.

LIMA DA SILVA A., DOAZAN J.P. Une méthode d’irradiation aux rayons gamma appliquée a des porte-greffes de vigne *in vitro*. **Journal International de la Vigne et du Vin**, v.29, p.1-9, 1995.

LOYD, G.; MC COWN, B. Commercially-feasible micropropagation of Mountain laurel, *Kalmia latifolia*, by use of shoot tip culture. **International Plant Propagation Society Proceedings**, Washington, v.30, p.421-427, 1981.

MAIORANO, J.A. et al. Botânica e caracterização de cultivares da figueira. **Informe Agropecuário**, v.18, n.188, p.22-244, 1997.

MOHAMED, M.F.; COINE, D.P.; READ, P.E. Shoot organogenesis in callus induced from pedicel explants of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Journal of the American Society for Horticultural Science**, St. Joseph, n.118, p.158-162, Jan. 1993.

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

MURITHI, M.; RAGAN, T.S.; WAITE, B.H. *In vitro* propagation of fig through shoot tip culture. **HortScience**, Alexandria, v.17, p.86-87, Feb. 1982.

NOBRE, J. et al. *In vitro* cloning of *Ficus carica* L. adult trees. **Acta Horticulturae**, Amsterdam, n.480, p.161-164, 1998.

NOGUEIRA, R.C. **Propagação *in vitro*, análises anatômicas e bioquímicas de murici-pequeno (*Byrsonima intermédia* A. Juss.)** 2003. 89p. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal)-Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

ORTON, T.J. Experimental approaches to the study of somaclonal variation. **Plant Molecular Biology Report**, Dordrecht, v.1, p.67-76, 1983.

PALÚ, E.G. **Indução *in vitro* de calogênese em anteras e brotações em segmentos nodais de *Coffea arabica* L.** 2002. 47p. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal)-Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

PASQUAL, M. **Textos acadêmicos: meios de cultura.** Lavras: FAEPE/UFLA, 2001. 127p.

PEREIRA, A.R. **Embriogênese somática direta em *Coffea arabica* L. Acaíá Cerrado.** 2005. 60p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia)-Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

PIERIK, R.L.M. **Cultivo *in vitro* de plantas superiores.** Martins Nijojj, 1990. 326p.

PINTO, J.E.B.; LAMEIRA, O.A. **Textos acadêmicos:** micropropagação e metabólitos secundários *in vitro* de plantas medicinais. Lavras: FAEPE/UFLA, 2001.101p.

PONTIKIS, C.A.; MELAS, P. Micropropagation of *Ficus carica* L. **HortScience**, v.21, n.1, p.153, 1986.

PREDIERI, S.; GATTI, E. Effects of gamma radiation on microcuttings of plum (*Prunus salicina* Lindl.) 'Shiro'. **Advanced Horticulturae Science**, v.14, p.7-11, 2000.

RAGA A. SOUZA FILHO MF.; SATO M.E. Eficiência de protetores de ostíolo do figo sobre a infestação da mosca *Zaprionus indianus* (gupta) (diptera: drosophilidae) no campo. **Arq. Inst. Biol.**, São Paulo, v.70, n.3, p.287-289, jul./set. 2003.

RAMALHO, M.A.P.; SANTOS, J.B. dos; PINTO, C.B.P. **Genética na Agropecuária**. 3.ed. Lavras: UFLA, 2004. 272p.

SANADA T.; AMANO E. Induced mutation in fruit trees. In: JAIN, M.S.; BRAR, D.S.; AHOLLOOWALIA, B.S. (Ed.). **Somaclonal variation and induced mutation in crop improvement**. Dordrecht, NL: Kluwer Academic, 1998 , p. 401-409.

SANTOS, P.C. et al. Sensitividade de estacas de figo a radiação gama. **Revista Brasileira de Genética**, v.20, n.3, p.150-153, 1997.

SILVA, F.G. **Estudo de calogênese *in vitro* e dos efeitos do manejo fitotécnico no crescimento e na produção de óleo essencial em plantas de carqueja (*Baccharia trimera* Less DC).** 2001. 128p. Tese (Doutorado em Fitotecnia)- Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

SIMÃO, S. **Manual de fruticultura.** São Paulo: Agronômica Ceres, 1998. 530p.

SPIEGEL-ROY, P. Economic and agricultural impact of mutation breeding in fruit trees. **Mutation Breeding Review**, n.5, 26, 1990.

SONGUL, C. et al. Meristem culture of Fig cv. Bursa Siyahi and Alkuden. **Fruits**, v.25, n.18, p.56-61, 2005.

SOUZA FILHO, M.F. de et al. Host plants of *Zaprionus indianus* in the State of São Paulo, Brazil. In: INTERNATIONAL CONGRESS OF ENTOMOLOGY, 21., 2000, Foz do Iguaçu. **Abstracts...** Londrina: EMBRAPA Soja, 2000. v.1. p.294.

STAFFORD, A.; WARREN, G. **Plant cell and tissue culture.** Melksham: Red Wood, 1991. 251p.

TAO, H. et al. Plant regeneration from leaf-derived callus in *Citrus grandis* (pumelo): effects of auxins in callus induction medium. **Plant Cell Tissue and Organ Culture**, Dordrecht, v.69, n.2, p.141-146, May 2002.

THORPE, T.A.; PATEL, K.R. Clonal propagation: adventitious buds. In: VASIL, I. (Ed.). **Cell culture and somatic cell genetics of plants:** laboratory

procedures and their applications. Orlando: Academic, 1984. Cap.7, v.1, p.49-60.

TORRES, A.C. et al. **Glossário de biotecnologia vegetal**. Brasília: EMBRAPA Hortaliças, 2000. 128 p.

TULMANN-NETO, A.; MENDES, B.M.J.; ANDO, A. Progressos na indução e usos de mutações *in vitro*. In: TORRES, A.; CALDAS, L.S.; BUSO, J.A. (Ed.). **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: Embrapa, 1998. v.1, p.459-506.

TULMANN –NETO A., MENDES B.M.J.; DUTRA VAZ F.B. Applications of *in vitro* culture in mutation breeding. In: SIDDIQUI B.A.; KHAN S. (Ed.). **Plant breeding advances and *in vitro* culture**. 1999. p.143-178.

TULMAN-NETO A.; SANTOS P.C. dos; LATADO R.R. Aspectos sobre o melhoramento da figueira (*Ficus carica* L.). In: SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE A CULTURA DA FIGUEIRA, 1999, Ilha Solteira. **Anais...** Ilha Solteira: UNESP. 2000. 259p.

VIETEZ, A.M.; SAN-JOSÉ, M.C. Adventitious shoot regeneration from *Fagus sylvatica* leaf explants *in vitro*. **In Vitro Cellular & Development Biology**, Columbia, v.32,n.3, p.140-147, July/Sept. 1996.

VILELA, C.R.; TEIXEIRA, E.P.; STEIN, C.P. Mosca-africana-do figo, *Zaprionus indianus* (Diptera: Drosophilidae). In: VILELA, E.F.; ZUCCHI, R.A.; CANTOR, F. (Ed.). **Histórico e impacto das pragas introduzidas no Brasil**. Ribeirão Preto: Holos, 2000. p.48-50.

WALTHER, F.; SAUER, A. Analysis of radiosensitivity a basic requirement for *in vitro* somatic mutagenesis. In: INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY. **Nuclear techniques and *in vitro* culture for plant improvement**. Vienna: IAEA, 1986. p.155-159.

YAMAGUCHI, H. **Fundamentos de indução de mutação no melhoramento e plantas**. Piracicaba: ESALQ, 1980. 2v.

CAPÍTULO II

SENSITIVIDADE DE PLÂNTULAS DE FIGUEIRA 'ROXO DE VALINHOS' À IRRADIAÇÃO GAMA

FERREIRA, Ester Alice. **SENSITIVIDADE DE PLÂNTULAS DE FIGUEIRA ‘ROXO DE VALINHOS’ À IRRADIAÇÃO GAMA**. 2006. Cap. 2, p 30-43 Tese (Doutorado em Agronomia/Fitotecnia) Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.*

RESUMO

Objetivou-se avaliar a sensibilidade de plântulas de figueira ‘Roxo de Valinhos’ à radiação gama. Foram usadas plântulas previamente estabelecidas *in vitro*, que foram separadas nos tamanhos: 2,5 a 4,5cm; 5 a 7 cm e 8 a 10 cm e irradiadas nas doses 10, 20, 30, 40 e 50 Gy. Após a irradiação, as plântulas foram repicadas em explantes contendo uma gema e, na inoculação no meio nutritivo WPM, foram separadas em função da posição de gemas: basal, mediana e apical, constituindo um ensaio com 54 tratamentos. Após 90 dias em sala de crescimento, foram avaliadas as seguintes características: mortalidade de explantes, formação de raízes, comprimento da parte aérea, número de gemas e peso das plântulas. Os resultados obtidos mostraram que doses de até 50 Gy não provocam morte de plântulas; doses acima de 30Gy impedem a formação de raízes; plântulas, com 2,5 a 5 cm de tamanho irradiadas a 10 Gy apresentam maior comprimento de parte aérea e maior número de gemas e que o aumento nas doses de irradiação provoca redução no peso das plântulas para qualquer tamanho de plântula irradiada.

Palavras-chave: mutação, melhoramento, cultura de tecidos, radiação.

*Orientador: Prof. Dr. Moacir Pasqual - UFLA

FERREIRA, Ester Alice. **GAMA RAYS SENSITIVITY OF FIG PLANTLETS 'ROXO DE VALINHOS'**. 2006. Chapter 2, p 30-43 Thesis (Doctorate in Agronomy/Crop Science) Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.*

ABSTRACT

The present work aimed to evaluate the gamma radiation sensitivity of fig plants. The material was fig plantlets, already established *in vitro*, which were separated by size: 2.5 to 4.5cm, 5 to 7 cm and 8 to 10 cm and irradiated in the doses 10, 20, 30, 40 e 50 Gy and after irradiation were inoculated in WPM nutritive medium separating by bud position: basal, media and apical in paper with 54 treatments. After 90 days in growing room, were evaluated by the following characteristics: plantlets mortality, root formation, aerial part size, bud number and weight of plantlets. After this period, it was observed that none of the tested dose caused anomalies or death of plantlets and also that there was no root formation in doses over 20Gy. The results obtained revealed that doses until 50 Gy do not cause death of plantlets; doses over 30Gy block root formation, plantlets size 2,5 a 5 cm irradiated at 10 Gy present higher length of aerial part and number of buds and the increase of irradiated doses caused reduction on the weight of plantlets in any size of plantlets the statistical analyses revealed significant interaction effect of radiation doses and size of plantlets.

Key- words: mutation, breeding, tissue culture, radiation

* Adviser: Dr.Moacir Pasqual - UFLA

1 INTRODUÇÃO

No Brasil, somente a cultivar Roxo de Valinhos (*Ficus carica* L.) é plantada comercialmente. Embora apresente alto vigor, rusticidade, boa produtividade e grande aceitação, a referida cultivar apresenta algumas características que podem colocar em risco a atual produção, e ainda, comprometer a expansão para novas áreas. Dentre estas, destacam-se a susceptibilidade ao vírus do mosaico e aos nematóides das galhas e do cisto, que constituem um dos principais problemas da cultura.

Os programas de melhoramento de figueira por métodos convencionais são praticamente inexistentes no Brasil. Dentre os principais entraves encontrados pelos melhoristas destacam-se a pouca variabilidade genética e a dificuldade de obtenção de plantas oriundas de fusão gamética, por não ser encontrada a vespa da espécie *Blastophaga psenes*, responsável pela polinização natural.

A irradiação pelo uso de mutagênicos físicos (diferentes tipos de radiação) tem sido usada no melhoramento genético de plantas, aumentando a variabilidade genética e permitindo a obtenção de genótipos de interesse (Tulmann Neto et al. 1999). Neste caso, a escolha da dose correta de irradiação constitui uma etapa indispensável, sendo a sobrevivência de plantas um dos parâmetros mais importantes a serem levados em conta na escolha da dose mais adequada.

Existem alguns relatos sobre o uso dessa técnica no melhoramento genético da figueira (Akuhund-Zade, 1981; Kerkadze, 1987; Spiegel-Roy, 1990). No Brasil, Santos et al. (1997) iniciaram um trabalho visando a indução de mutação, utilizando estacas dormentes da cv. Roxo de Valinhos e cujo material ainda está em avaliação.

Um dos principais entraves ao uso da irradiação no melhoramento de plantas está associado à avaliação do material irradiado que, sendo realizada no campo, pode demandar tempo e espaço para análise das características mutadas.

Neste contexto, a irradiação de explante *in vitro* apresenta como vantagens a facilidade de manuseio do material, a rapidez na obtenção das gerações subseqüentes e, em alguns casos, avaliação *in vitro*. A irradiação de material *in vitro* já foi usada com sucesso em diversas frutíferas, como: bananeira (Domingues et al. 1994), laranjeira (Cristofani et al. 1993), ameixeira (*Prunus avium* L.) (Walther & Sauer, 1985), ameixeira japonesa (*Prunus saliciana* Lindl.) cv. Shiro (Predieri & Gatti, 2000) e porta-enxerto de videira ‘Gravesac’ (Lima da Silva & Doazan, 1998).

Na irradiação de explantes *in vitro*, Sonino et al. (1996), citados por Tulmann Neto et al., (1999), ao cultivarem o material irradiado em função da posição da gema irradiada – basal mediana e apical, observaram que a irradiação em gemas apicais foi mais eficiente que nas axilares.

O presente trabalho objetivou avaliar o efeito de doses de radiação gama no comportamento de plântulas de figueira de diferentes tamanhos e considerando as posições de gemas.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas plântulas de figueira ‘Roxo de Valinhos’ previamente estabelecidas *in vitro* apresentando parte aérea e sistema radicular bem formados. Estas plântulas foram cultivadas em tubos de ensaio contendo meio sólido WPM (Tabela 1A), suplementado com sacarose 2%, pH $\pm 5,7$ e solidificado com 6gL^{-1} de ágar, mantidas em sala de crescimento do Laboratório de Cultura de Tecidos da Universidade Federal de Lavras, a uma temperatura de

aproximadamente $25 \pm 1^\circ\text{C}$, fotoperíodo de 16 horas e $32 \mu\text{M}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ de intensidade luminosa.

Na definição dos tratamentos as plântulas foram separadas em grupos de acordo com os tamanhos: 2,5 a 4,5 cm; 5 a 7 cm e 8 a 10 cm. Após a separação, o material foi transportado para o Centro de Energia Nuclear da Agricultura da Universidade de São Paulo (CENA/USP), onde, nos mesmos tubos de ensaio, foi submetido a raios gama nas doses de 10, 20, 30, 40 e 50 Gy. O aparelho usado na irradiação foi o 'Gammacell 220 cuja fonte de radiação gama emitida pelo radioisótopo ^{60}Co (taxa de dose 0,877 KGy/h), apresentado na Figura 1.



FIGURA 1 Irradiador 'Gammacell 220' do Centro de Energia Nuclear na Agricultura. Fonte de radiação gama emitida pelo radioisótopo ^{60}Co . CENA/USP, Piracicaba, 2005.

Após a irradiação, o material foi novamente transportado para o Laboratório de Cultura de Tecidos da Universidade Federal de Lavras. Em câmara asséptica, foram repicados em explantes de 1cm contendo uma gema e, na transferência para novos tubos de ensaios contendo o mesmo meio nutritivo já citado, os explantes foram separados em função da posição das gemas: basal, mediana e apical.

Todo material foi mantido em sala de crescimento, com temperatura de aproximadamente $25\pm 1^{\circ}\text{C}$, fotoperíodo de 16 horas e $32 \mu\text{M.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ de intensidade luminosa, inspecionado semanalmente buscando identificar anomalias e ou morte de explantes. Após 90 dias, foram avaliadas as seguintes características: comprimento de parte aérea, contagem do número de gemas/plântula e peso da matéria fresca da plântula.

Com base nos fatores testados, o delineamento experimental adotado foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial $6 \times 3 \times 3$, para doses, tamanhos e posições, respectivamente, constituindo 54 tratamentos (Tabela 2A) com 4 repetições e 3 plântulas por repetição. Os fatores foram analisados por meio de regressão polinomial, utilizando-se o programa estatístico Sisvar (Ferreira, 2000).

O esquema das etapas realizadas neste ensaio é apresentado na Figura 2.

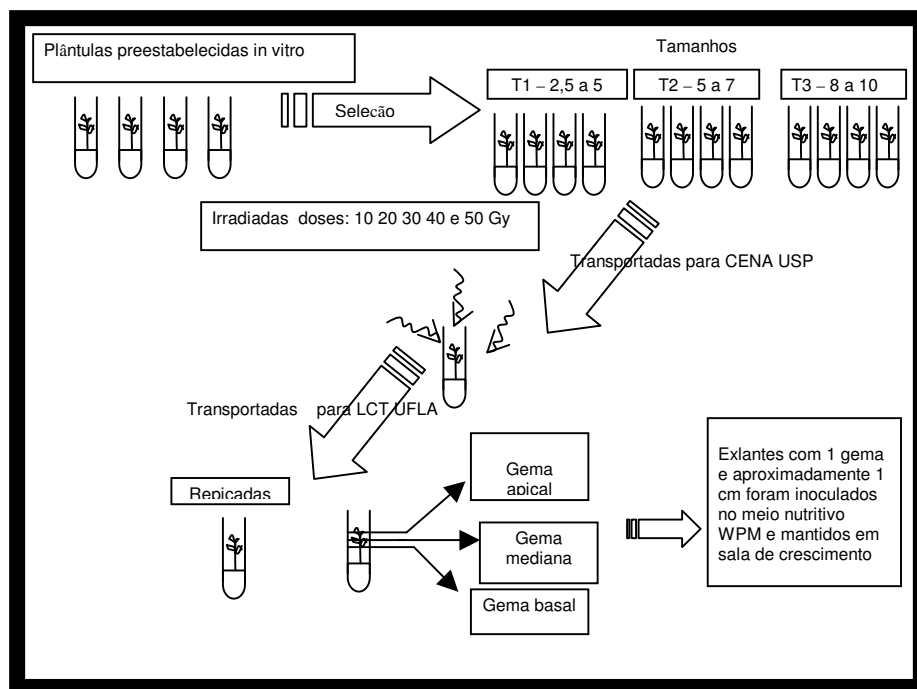


FIGURA 2 Esquema ilustrativo das etapas realizadas na irradiação de figueira ‘Roxo de Valinhos’. UFLA, Lavras, 2005.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As doses de raios gama testadas não provocaram mortalidade e não foram observadas alterações na formação e coloração das plântulas irradiadas. O objetivo principal deste trabalho foi verificar a sensibilidade de plântulas de figueira à irradiação, identificando a dose que provocasse morte de explantes. Nenhuma das doses testadas neste ensaio ocasionou morte de plântulas. Este resultado difere do encontrado para explantes de espécies frutíferas irradiadas *in vitro*, como ameixeira (*Prunus avium* L.) em que foi registrada morte de plântulas a 29 Gy, conforme relatado por Walther & Sauer, (1985); videira

porta-enxerto ‘Gravesac’ relatado por (Lima da Silva & Doazan, 1995) a 30 Gy e ameixeira japonesa (*Prunus saliciana Lindl.*) cv. Shiro em que Predieri & Gatti (2000) verificaram morte de plântulas em valores próximos de 30 Gy.

Quanto a ocorrência de anomalias, não foi verificado diferenças na formação e na coloração das folhas em nenhum dos tratamentos, entretanto, não houve formação de raízes em plântulas submetidas a doses superiores a 30 Gy. Segundo Tulmann Neto, (2000) a ausência de raízes é comum em certas doses de irradiação e, este fato já foi observado em outras espécies frutíferas como pereira (Predieri et al. 2000), porta-enxerto de videira (Lima da Silva & Doazan 1995) e ameixeira (Predieri & Gatti, 2000).

Houve efeito significativo da interação dose de irradiação e tamanho de plântulas, para as características comprimento de parte aérea, número de gemas e peso da matéria seca de plântulas (Tabela 3A), graficamente representados nas figuras 3, 4 e 5.

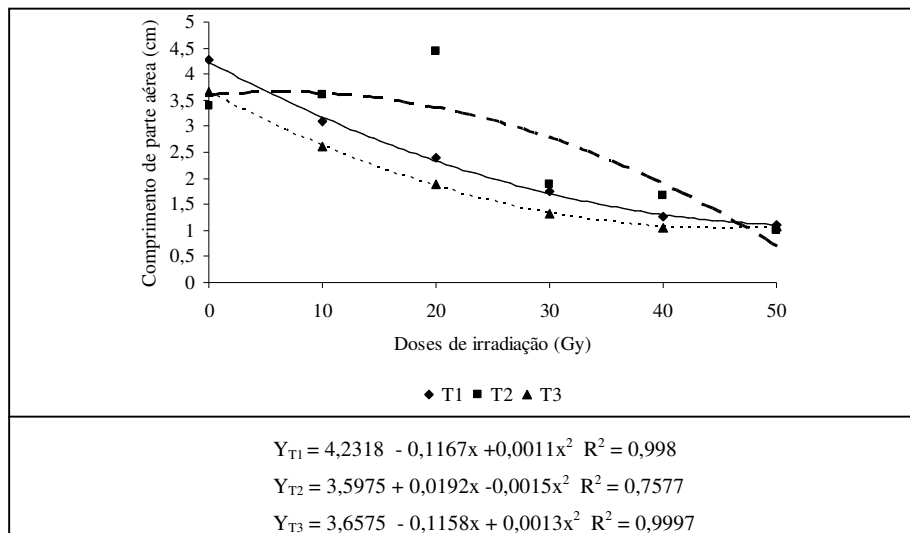


FIGURA 3 Comprimento médio da parte aérea de plântulas submetidas a diferentes doses de irradiação, nos tamanhos: T1 2,5 a 4,5 cm; T2 5 a 7 cm e T3 8 a 10 cm. UFLA, Lavras, MG, 2005.

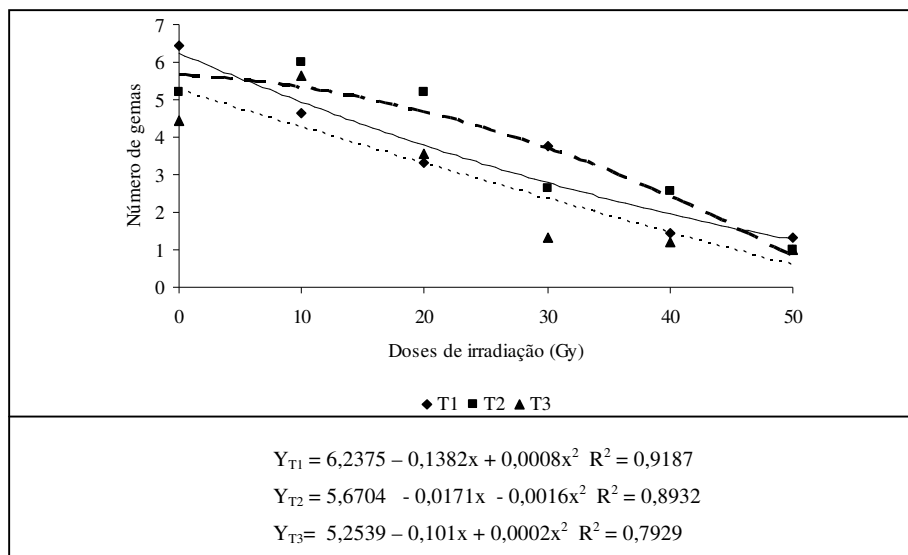


FIGURA 4 Número médio de gemas de plântulas de figueira submetidas a diferentes doses de irradiação, nos tamanhos: T1 2,5 a 4,5 cm; T2 5 a 7 cm e T3 8 a 10 cm. UFLA, Lavras, MG, 2005.

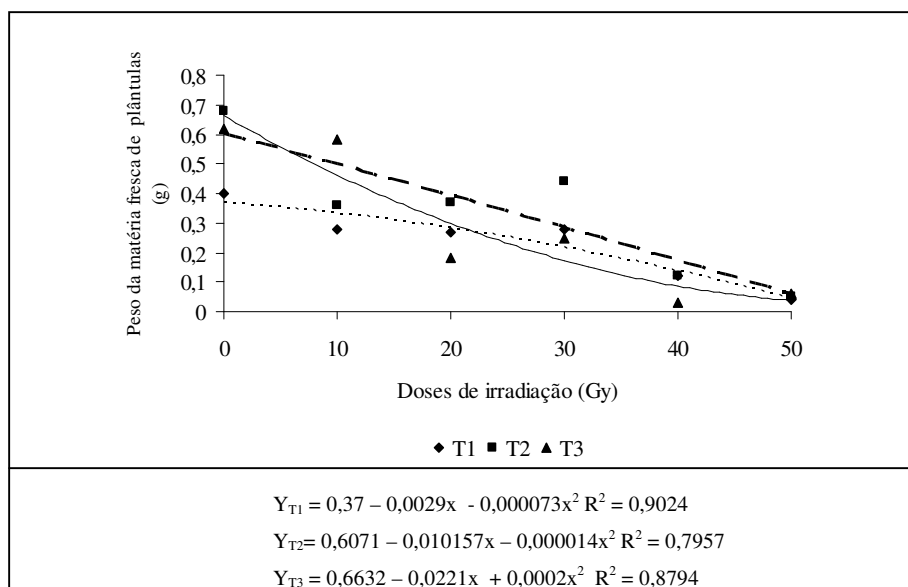


FIGURA 5 Peso da matéria fresca de plântulas de figueira aos 90 dias após irradiação em diferentes doses, tamanhos: T1 2,5 a 4,5 cm; T2 5 a 7 cm e T3 8 a 10 cm. UFLA, Lavras, MG, 2005.

Analisando-se as curvas de regressão, observa-se que o peso da matéria fresca das plântulas foi a variável mais afetada pela irradiação, apresentando um modelo decrescente para todos os tamanhos de plântulas testadas, indicando uma associação inversa entre os parâmetros. Nas demais variáveis este comportamento ocorreu nos tamanhos 2,5 a 4,5 cm (T1) e 8 a 10 cm (T3) para os quais ocorreu declínio nos seus respectivos valores, a medida em que se aumentaram as doses de irradiação.

Verifica-se, nas Figuras 3 e 4, que o comportamento das plântulas com 5 a 7 cm (T2) foi superior às demais, tendo sido o tamanho que mais sofreu reduções com as doses crescentes de irradiação e o que proporcionou maior comprimento de parte aérea (3,65 cm), registrado na dose 6,4Gy. O maior número de gemas foi registrado em plântulas com 2,5 a 4,5cm, na dose 8,63 Gy, proporcionando uma média de 5,64 gemas.

Os resultados obtidos concordam com os de Bhagwat & Ducab (1998) ao afirmarem que, após a irradiação, a sobrevivência e a capacidade de regenerar são variáveis em função da dose e do material vegetal irradiado.

A redução em 50% nos valores registrados das variáveis analisadas ocorreu a partir da dose 30Gy, tanto para comprimento de parte aérea quanto para número de gemas. Nesta dose, as plântulas irradiadas com 8 a 10 cm (após repicagem separando gemas apicais medianas e basais) apresentaram o mesmo valor para tamanho e número de gemas (1,33), com redução de 63% e 69%, respectivamente, em relação ao controle (plântulas com 3,66cm e 4,44 gemas). Já para plântulas irradiadas com 2,5 a 5 e 5 a 7cm, essa redução foi registrada a partir da dose 40Gy, para ambas as variáveis em questão.

A dose 20 Gy provocou redução de 70% do peso da matéria fresca de plântulas, independente do tamanho da plântula na ocasião da irradiação, com valores médios 0,27; 0,37 e 0,18g, respectivamente, para os tamanhos 2,5 a 5; 5 a 7 cm e 8 a 10 (controle 0,4; 0,68 e 0,62 g).

A redução no desenvolvimento de plântulas em determinadas doses de irradiação é considerada normal em estudos envolvendo mutação e pode ser atribuída, segundo Broetjes & Van Harten (1988), ao fato de que as células submetidas à irradiação, e que sofreram algum tipo de dano fisiológico ou cromossômico, apresentam menor capacidade mitótica em relação às células que não sofreram esses efeitos, justificando o que ocorreu no presente trabalho.

4 CONCLUSÕES

Doses de até 50 Gy, não provocam morte e nem alterações na coloração e formação de folhas de plântulas.

Doses superiores a 30Gy impedem a formação de raízes.

Plântulas com 2,5 a 5 cm de tamanho irradiadas à 10 Gy apresentam maior comprimento de parte aérea e maior número de gemas.

O aumento nas doses de irradiação provoca redução no peso das plântulas para qualquer tamanho de plântula irradiada.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AKUHUND-ZADE, I.M. Radiation mutagenesis in subtropical crops.

Teor.Prikl.Aspekty Radiata Biology Technology, p.50-51, 1981.

BROERTJES; VAN HARTEN. **Applied of mutation breeding for vegetatively propagated crops: developments in crop science**. Amsterdam: Elsevier Scientific, 1988. v.12, 345p.

CRISTOFANI, M. et al. Determinação da viabilidade de protoplastos irradiados de laranja 'Pera'. **Bragantia**, Campinas, v.52, n.2, p.101-104, 1993.

DOMINGUES, E.T. et al. Efeitos de doses de raios gama em ápices caulinares de bananeira (*Musa* sp.) desenvolvidos *in vitro* para indução de mutação.

Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília, v.29, n.7, p.1091-1098, jul. 1994.

FERREIRA, D.F. Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4.0. In REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45., 2000, São Carlos. **Anais...** São Carlos: UFSCar, 2000. p.255-258.

KERKADZE, I.G. Radiation mutagenesis in subtropical crops. **Radiatsionnyi - Mitagenez-I-Ego-Rol-V-Evolutsii-I-Seleksii**, p.231-254, 1987.

LIMA DA SILVA A.; DOAZAN J.P. Une méthode d'irradiation aux rayons gamma appliquée a des porte-greffes de vigne *in vitro*. **Journal International de la Vigne et du Vin**, v.29, p.1-9,1995.

PREDIERI,S.; GATTI,E. Effects of gamma radiation on microcuttings of plum (*Prunus salicina* Lindl.) 'Shiro. **Advanced Horticulturae Science**, v.14, p.7-11, 2000.

SANTOS, P.C. et al. Sensitividade de estacas de figo a radiação gama. **Revista Brasileira de Genética**, v.20, n.3, p.150-153, 1997.

SPIEGEL-ROY,P. Economic and agricultural impact of mutation breeding in fruit trees. **Mutation Breeding Review**, n.5, p26, 1990.

TULMAN-NETO A.; MENDES B.M.J.; DUTRA VAZ F.B. Applications of *in vitro* culture in mutation breeding. In: SIDDIQUI B.A.; KHAN SAMIULLAH. (Ed.). **Plant breeding advances & *in vitro* culture**. 1999.

TULMAN-NETO A.; SANTOS P.C. dos; LATADO R.R. Aspectos sobre o melhoramento da figueira (*Ficus carica* L.). In: SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE A CULTURA DA FIGUEIRA, 1999, Ilha Solteira. **Anais...** Ilha Solteira:UNESP, 2000. 259p.

WALTHER F.; SAUER A. Analysis for radiosensitivity. A basics requirement for *in vitro* somatic mutagenesis. I. *Prunus avium* L. **Acta Horticulturae**, v.169, p.97-104, 1985.

CAPÍTULO III
CALOGÊNESE EM PLÂNTULAS DE FIGUEIRA

FERREIRA, Ester Alice. **CALOGÊNESE EM PLÂNTULAS DE FIGUEIRA**. 2006. Cap. 3, p 44-62 Tese (Doutorado em Agronomia/Fitotecnia) Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.*

RESUMO

Foram realizados estudos preliminares envolvendo calogênese em figueira cv. Roxo de Valinhos. Em todos os experimentos, foi usado o meio nutritivo MS modificado para a indução de calos. Adotou-se o delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial e as avaliações foram realizadas após 60 dias de inoculação, pelas características: intensidade de crescimento e massa fresca de calos. No primeiro, testaram-se dois tipos de explantes: segmento foliar e segmento caulinar, com 0, 0,5; 1,0; 2,0; 4,0 mgL⁻¹ de 2,4 D adicionado ao meio. Nas avaliações realizadas, o uso de segmentos foliares foi mais eficiente na calogênese. A partir desse resultado, foi realizado o segundo experimento, utilizando-se segmentos foliares como explantes e verificando-se a formação de calos na presença e na ausência de luminosidade nas mesmas dosagens de 2,4D. No terceiro e último ensaio, buscou-se uma otimização do protocolo, testando-se as mesmas doses de 2,4D em combinação com cinetina, utilizando segmentos foliares como explantes na presença de luz. Os resultados obtidos mostraram que a calogênese em figueira 'Roxo de Valinhos' pode ser obtida cultivando-se segmentos foliares, na ausência de luminosidade e na presença de 2,4D e cinetina ambos na concentração 4 mgL⁻¹.

Palavras- chave: 2,4D, cinetina, variação somaclonal.

* Orientador: Prof. Dr. Moacir Pasqual - UFLA

FERREIRA, Ester Alice. **CALLOGENESIS ON FIG PLANTLETS** 2006. Chapter 3, p 44-62. Thesis (Doctorate in Agronomy/Crop Science) Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.*

ABSTRACT

In this present work were carried out preliminaries studies on callogenesis of fig plants 'Roxo de Valinhos'. In all experiments it was used the MS medium modified for callus induction, were adopted a randomized design in factorial scheme and the evaluation were 60 days after the inoculation by the following characteristics: intensity growing and weigh of fresh of calluses. In the first experiment were tested 2 types of explants: leaves and caulinar segments with 0, 0,5; 1,0; 2,0; 4,0 mgL^{-1} de 2,4 D added to the medium and the evaluation revealed that the leaves segments were more efficient on the callogenesis. From this results, were conducted the second experiment using leaves segments and verifying the callus induction in presence and absence of light with the same doses of 2,4D. On the third and last experiment it was searched an optimization of the protocol testing the same doses of 2,4D together with kinetin using leaves segments as explants in the light ambient. The results revealed that the callogenesis on fig plants 'Roxo de Valinhos' can be obtained by leaves explants, in the presence of light and taking 2,4D together with kinetin at 4 mgL^{-1} .

Key words: growth regulators, breeding

* Adviser: Dr. Moacir Pasqual - UFLA

1 INTRODUÇÃO

A biotecnologia, e nela, a cultura de tecidos, destaca-se como ferramenta que vem auxiliando significativamente os programas de melhoramento genético, por meio de várias técnicas. Dentre essas, pode-se citar a calogênese ou seja, a formação de massa de células a partir de um explante.

A calogênese é influenciada pelo tipo de explante, pela constituição do meio cultura e pelo ambiente de cultivo. No caso de explante, Grattapaglia & Machado (1998) recomendam a utilização dos que contenham maior proporção de tecido meristemático ou que apresentem maior capacidade de expressar a totipotência.

Os mesmos autores relatam a importância da presença de auxina adicionada ao meio, ressaltando que ela estimula a produção de calos quando presentes em quantidades excessivas, mas, em alguns casos, em baixas concentrações. Dentre as auxinas mais utilizadas, o 2,4D adicionado ao meio de cultura tem sido largamente empregado em estudos envolvendo calogênese em espécies frutíferas, como banana (Solarini, 1995) maçã (Fortes, 1992), algumas cultivares de *Coffea arabica* L (Maciel, 2001; Palú, 2002; Araújo 2004), em plantas medicinais (Artiaga, 2004; Nogueira, 2003) e, ainda, em espécies florestais de importância econômica, como *Croton urucana* (Lima, 2004).

A formação de calos, normalmente, ocorre no escuro (Camargo et al., 1999), considerando que a luz pode favorecer a produção de compostos fenólicos, os quais interferem na atividade do regulador de crescimento, comprometendo a divisão celular. Entretanto, há relatos de algumas espécies em que a formação de calos foi indiferente à luminosidade (Faria, 1996).

Dentre as aplicações da calogênese, pode-se citar a produção de células para manipulações genéticas, como hibridações somáticas, poliploidizações e transformações e ainda, a formação de calo poderá servir como material inicial

para variação somaclonal, na obtenção de variabilidade genética (Evans & Sharp 1986). Há relatos de que plantas regeneradas a partir de calos apresentam altas taxas de variação genética que podem ser herdáveis e transmitidas aos descendentes (Handro & Floh, 1990). Essa variação pode chegar até próximo de 100% das plantas com alguma alteração, dependendo da espécie, da metodologia empregada e das características estudadas (Tao et al., 2002.)

No caso da figueira, a definição de uma metodologia de obtenção de calos com vistas à obtenção de somaclones pode ser uma ferramenta valiosa para o melhoramento desta espécie. Primeiramente, pela ausência de variabilidade genética devido ao fato de somente a cultivar Roxo de Valinhos ser plantada comercialmente no Brasil e também por não haver programas de melhoramento pelos métodos convencionais.

Assim, o presente ensaio teve como objetivo realizar estudos preliminares na indução de calos em figueira avaliando diferentes explantes e ambientes com combinações de doses de 2,4 D e cinetina.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O ensaio foi conduzido no Laboratório de Cultura de Tecidos da Universidade Federal de Lavras utilizando plântulas de figueira cultivar Roxo de Valinhos preestabelecidas *in vitro*, onde foram conduzidos três experimentos, os quais são descritos a seguir.

Experimento 1 – Foram testados dois tipos de explantes, sendo: segmento caulinar com, aproximadamente, 1 cm de comprimento e segmentos foliares com aproximadamente, 0,5 cm de diâmetro e 2,4 D, nas doses 0, 0,5; 1,0; 2,0 e 4,0 mgL⁻¹. O delineamento usado foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2x5, explantes e doses, respectivamente.

Experimento 2 – A partir do resultado do experimento 1, segmentos foliares com aproximadamente 0,5 cm diâmetro foram avaliados em dois tipos de ambientes: com e sem luminosidade, nas mesmas doses de 2,4 D 0, 0,5; 1,0; 2,0 e 4,0 mgL⁻¹. Na luminosidade, a intensidade utilizada foi 32 μM.m⁻².s⁻¹, fotoperíodo de 16 horas e a temperatura foi mantida em aproximadamente 25±1°C. O delineamento usado neste experimentos foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial 5x2, sendo doses de 2,4 D x ambiente.

Experimento 3 – Utilizaram-se segmentos foliares cultivados em sala de crescimento com temperatura de aproximadamente 25±1°C, fotoperíodo de 16 horas e 32 μM.m⁻².s⁻¹ de intensidade luminosa. Foram testados meios contendo 2,4D e cinetina nas doses 0, 0,5; 1,0; 2,0 e 4,0 mgL⁻¹. O delineamento usado foi o inteiramente casualizado, em esquema fatorial 5 x 5, para doses de 2,4D e cinetina.

O meio de cultura usado em todos os experimentos foi MS Murashige & Skoog (1962) (Tabela 4A) modificado para a indução de calos, proposto por Berthouly & Michaux-Ferriere (1996) (Tabela 5A) acrescido de 600 mgL⁻¹ de ácido ascórbico. O pH foi ajustado para 5,7± 0,1, antes de ser autoclavado a 120°C 1,2 atm, durante 20 minutos.

A inoculação dos explantes em seus respectivos experimentos foi realizada em câmara de fluxo laminar, utilizando frascos contendo 15 mL do meio nutritivo.

Todos os experimentos tiveram 4 repetições com 3 plantas por parcela e foram avaliados, 60 dias após a inoculação, pelas seguintes características: indução de calos (pela presença ou ausência), massa fresca de calos (g) e intensidade de crescimento de calos, atribuindo-se notas de 0 a 3, adotando o seguinte critério: 0 - sem formação de calo, 1 - 25% de calos na superfície do

tubo, 2 - 50%, 3 > 50% de calos na superfície do tubo, conforme metodologia proposta por Flores et al. (1998) (Figura 1).

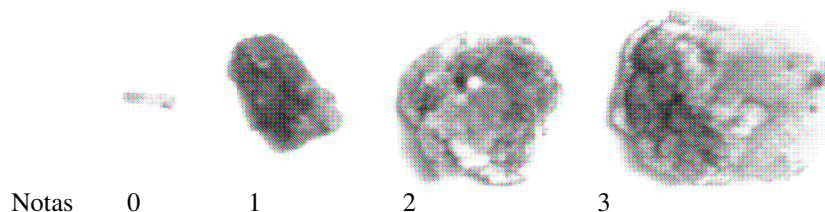


FIGURA 1 Notas atribuídas à intensidade de crescimento de calos de figueira, provenientes de diferentes explantes, ambiente de cultivo e concentrações de 2,4D e cinetina. UFLA, Lavras, MG, 2005.

Foram realizadas também avaliações visuais semanais com o objetivo de registrar o início da formação de calos e acompanhar o aspecto visual dos mesmos.

Os dados foram analisados por meio de regressão polinomial, utilizando-se o programa estatístico Sisvar (Ferreira, 2000).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Houve formação de calos em ambos os explantes e na presença dos reguladores de crescimento testados. Estes, entretanto, iniciaram seu desenvolvimento em épocas variadas em cada experimento realizado. Na literatura há relatos de grande variação no tempo de início de formação de calos que pode ocorrer em semanas ou até 6 meses após a inoculação (Verdeil et al., 1994). Essa variação ocorre em função do explante, do local de incubação e, principalmente, em da espécie utilizada.

Observou-se formação de calos em todos os tratamentos, exceto naqueles isentos das auxinas 2,4-D (Experimento 1 e 2) e cinetina (Experimento 3). A

eficiência do 2,4D na indução de calos, ainda que isoladamente, concorda com Grattapaglia & Machado (1990), que relatam a indução da calogênese em meio com altas concentrações de 2,4D, ocorrendo, inclusive, em baixas concentrações. Por essa razão é um dos reguladores de crescimento mais eficazes na indução de calos.

Experimento 1 - Tipos de explantes x 2,4D

A formação dos calos neste experimento ocorreu entre 25 a 35 dias após a inoculação, para ambos os explantes testados. Pelos resultados das análises estatísticas (Tabela 6A), verifica-se o efeito significativo na interação entre 2,4D e os explantes testados para ambas as variáveis analisadas.

Pelas Figuras 2 e 3, representando a intensidade de crescimento e massa fresca de calos, respectivamente, observa-se que o uso de segmento foliar se mostrou mais eficiente na indução de calos.

Nota-se, pelas mesmas figuras um comportamento semelhante para ambas as variáveis nos seguintes aspectos: independente do explante utilizado, não houve formação de calos na ausência do fitorregulador. A maior intensidade de crescimento de calos (3,18) foi registrada à 2,59 mgL⁻¹ e dose próxima a esta, 2,68mgL⁻¹ de 2,4D, foi responsável pelo maior incremento na massa fresca de calos (2,70g). Em todos os casos, a partir desses valores, houve decréscimo nos valores registrados.

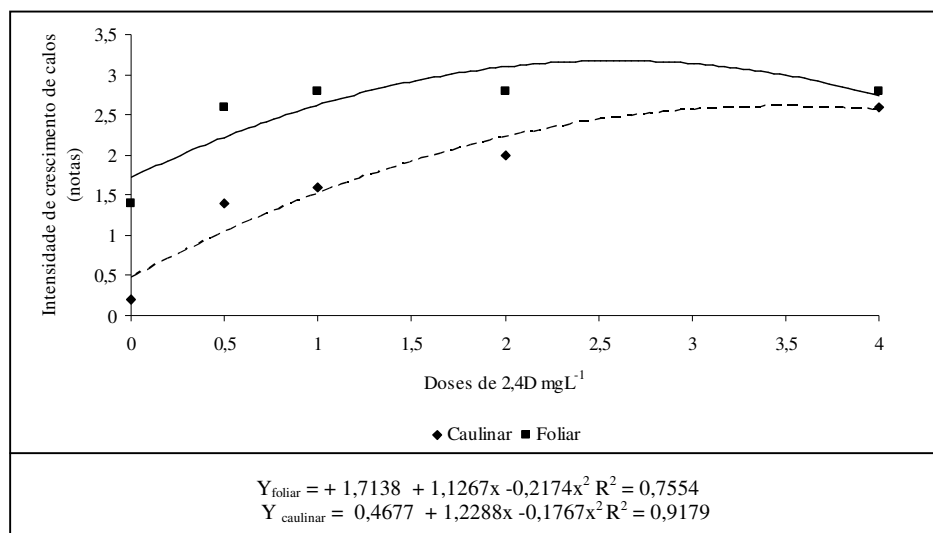


FIGURA 2 Intensidade de crescimento de calos formados a partir de segmentos caulinares e foliares de figueira 'Roxo de Valinhos' em diferentes concentrações de 2,4D. UFLA, Lavras, MG, 2005.

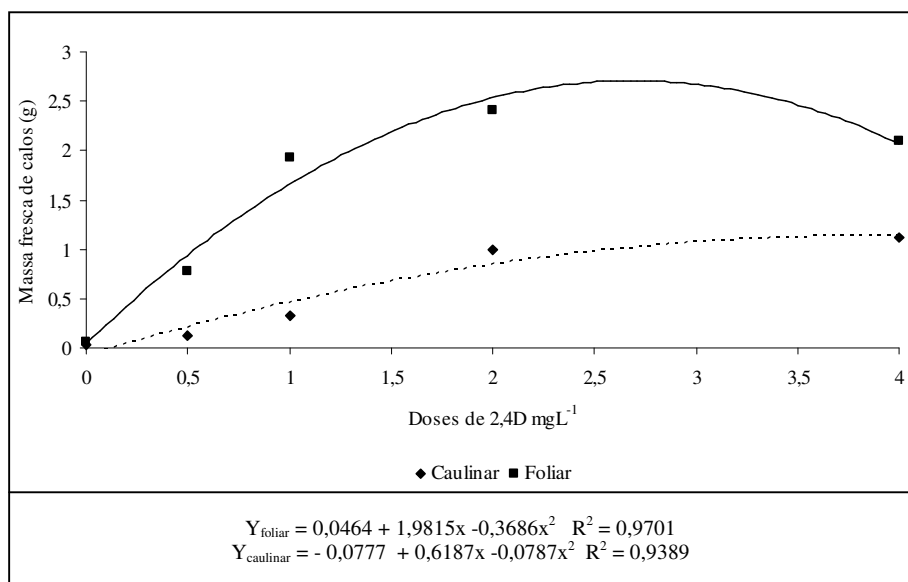


FIGURA 3 Massa fresca de calos (g) formados a partir de segmentos caulinares e foliares de figueira 'Roxo de Valinhos' em meio diferentes concentrações de 2,4D. UFLA, Lavras, MG, 2005.

Experimento 2 - Ambientes x concentrações de 2,4D

A formação de calos no escuro ocorreu entre 28 a 35 dias após a inoculação. Entretanto, na presença de luminosidade, o início ocorreu somente de 35 a 48 dias após a incubação. O resultado das análises estatísticas mostrou efeito interativo entre o ambiente de cultivo e as doses de 2,4D testadas para as variáveis intensidade de crescimento e massa fresca dos calos formados (Tabela 7A).

Semelhante ao ocorrido no experimento anterior, o comportamento de ambas as variáveis analisadas foi ajustado a uma regressão quadrática, em função do 2,4D, com pontos máximos de 2,55 e 2,54 mgL⁻¹ para intensidade de crescimento e massa fresca de calos, respectivamente (Figuras 4 e 5).

O fato da formação de calos ter se iniciado primeiro no ambiente escuro pode ser responsável pelo maior desenvolvimento e peso de calos e pode ser explicado considerando-se a sensibilidade da auxina à presença de luz, concordando com Solarini (1995), Fortes (1992), Maciel (2001), Palú (2002), Araújo (2004), Artiaga (2004), Nogueira (2003) e Lima (2004), que verificaram a formação de calos no escuro.

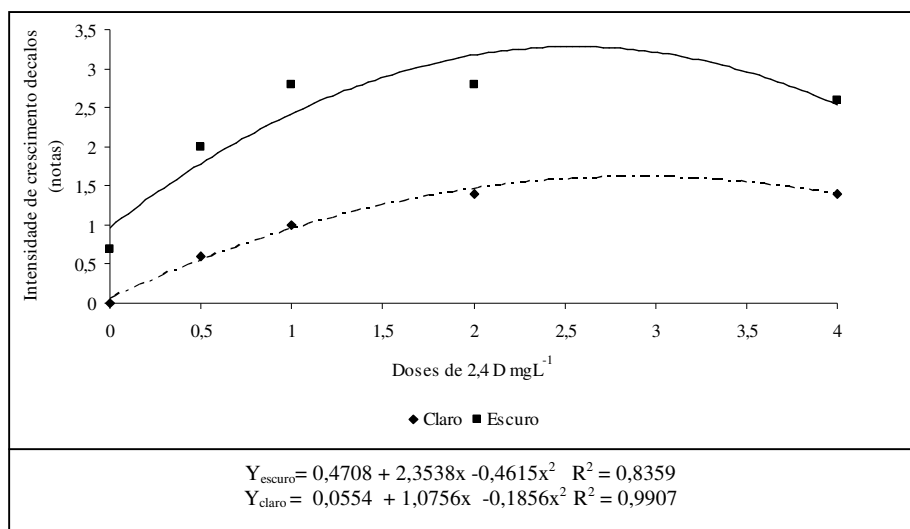


FIGURA 4 Intensidade de crescimento de calos formados a partir de segmentos foliares de figueira 'Roxo de Valinhos', em diferentes ambientes e diferentes concentrações de 2,4D. UFLA, Lavras, MG, 2005.

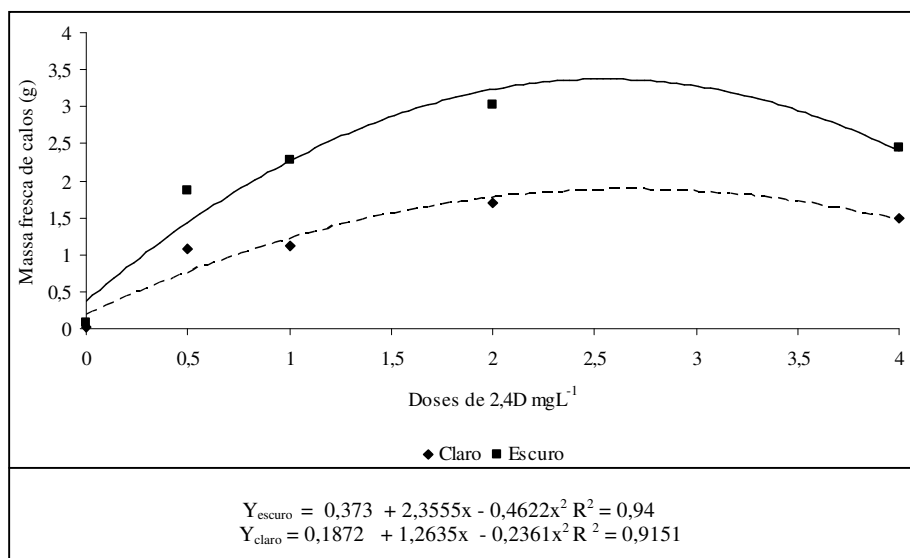


FIGURA 5 Massa fresca de calos formados a partir de segmentos foliares de figueira 'Roxo de Valinhos' mantidos em diferentes ambientes e concentrações de 2,4D. UFLA, Lavras, MG, 2005.

A formação de calos na luminosidade também foi relatada por Fráguas (2003), em seus ensaios de micropropagação com figueira, que ocorreu na presença fitoregulador BAP.

Por outro lado, Flores et al. (1998), ao realizarem estudos comparativos de calogênese com diferentes cultivares de morangueiro variando o tempo de permanência no escuro e claro, verificaram que os diferentes períodos de escuro não diferiram estatisticamente quanto a intensidade de calo formado na cv. Konvoy-Cascata. Já para outra cultivar no mesmo estudo ('Chandler'), o escuro favoreceu significativamente o crescimento dos calos.

Da mesma forma, Camargo et al (1999), estudando efeito do tempo de permanência no escuro na calogênese *in vitro* de macieira cv. Marubakaido, concluíram que o período de escuro não influencia a percentagem e a intensidade de calos formados.

Considerando os dados registrados neste ensaio e os apresentados na literatura, pode-se inferir que, na calogênese, em se tratando da presença e ausência de luminosidade, há um comportamento diferencial variável em função da espécie e da cultivar.

É importante relatar o melhor aspecto dos calos desenvolvidos no claro, que se apresentaram com coloração verde, mesmo ao final do experimento, o que pode favorecer o processo de regeneração. Alguns autores, a exemplo de Fortes & Teixeira (1992), verificaram, em material somático de macieira (*Malus domestica*, Borkh.), que os explantes expostos diretamente à luz apresentaram melhor aspecto e, posteriormente, maior percentagem de regeneração. Kouider et al. (1984), trabalhando com cotilédones sem embrião de macieira cv. Red Delicious, verificaram que os explantes expostos ao escuro somente por 4 dias e após transferidos para a luz, formaram calo compacto e verde, o que favoreceu a diferenciação dos brotos dentro de três semanas.

Experimento 3 - Doses de 2,4D e cinetina

A partir da análise de variância (Tabela 8A) observa-se que a interação 2,4D e cinetina foi significativa, evidenciando a dependência dos fatores, tanto para intensidade de crescimento quanto para massa fresca de calos.

A formação de calos não foi comprometida pela luminosidade, o que pode ser atribuído à presença de uma citocinina ao meio e ao fato de este fitorregulador ser dependente de luz (Taiz & Zeiger, 2004).

Observa-se, nas Figuras 6 e 7, que houve resposta crescente para todas as concentrações de cinetina testadas.

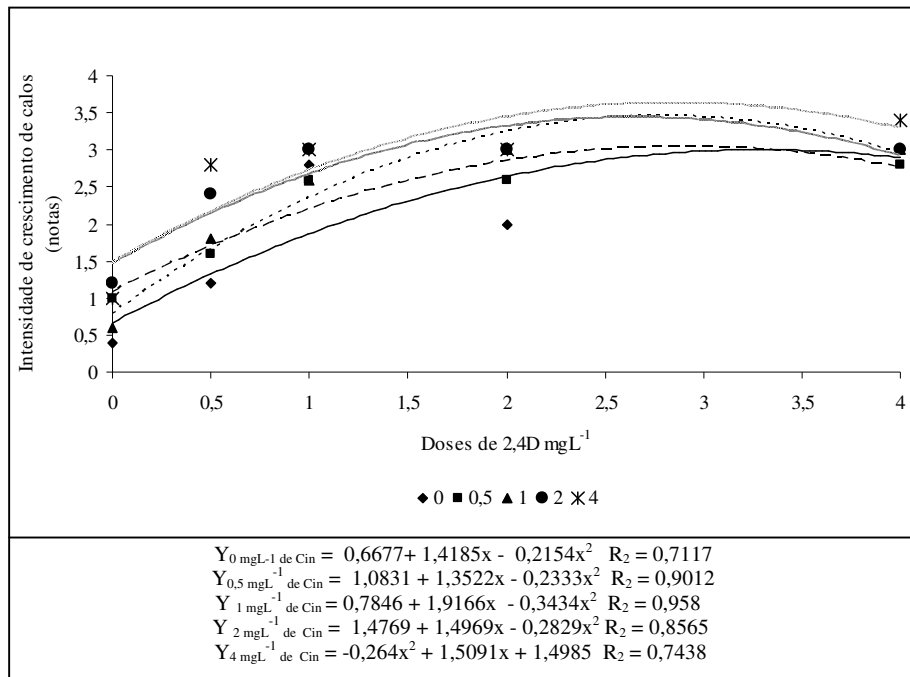


FIGURA 6 Intensidade de crescimento de calos formados a partir de segmentos foliares de figueira em diferentes combinações de doses de 2,4D e cinetina. UFLA, Lavras, MG, 2005.

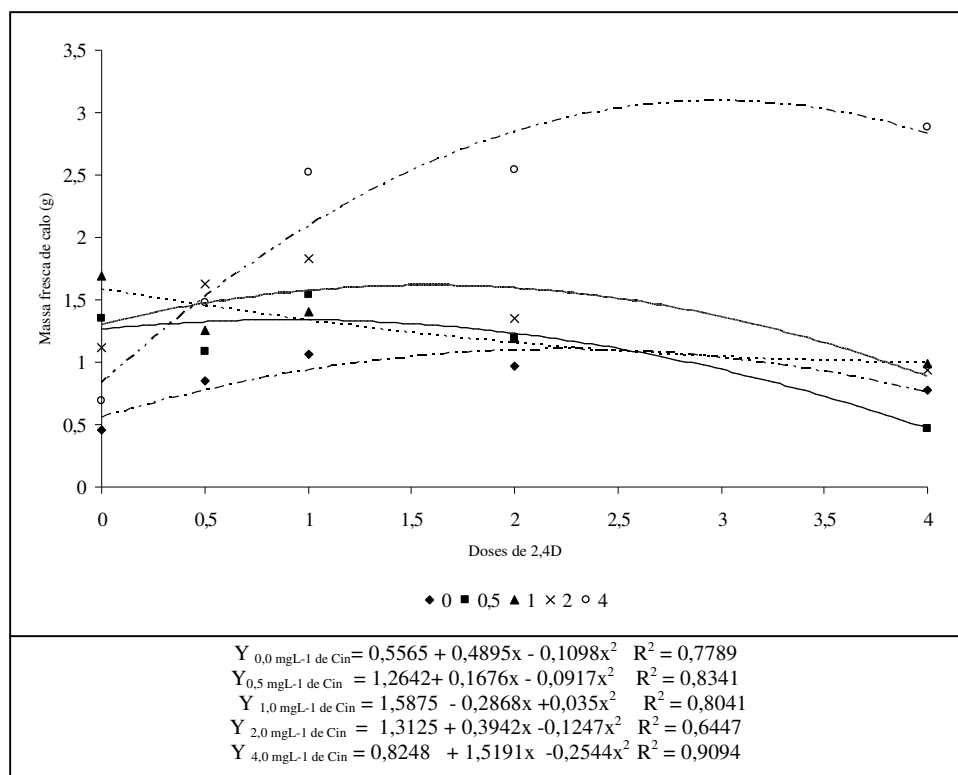


FIGURA 7 Massa fresca de calos desenvolvidos a partir de segmentos foliares de figueira, em diferentes combinações de doses de 2,4D e cinetina. UFLA, Lavras, MG, 2005.

O valor máximo de intensidade de crescimento de calos (3,65) foi registrado utilizando a dose 4,0 mgL⁻¹ de cinetina em combinação com 2,85 mgL⁻¹ de 2,4D. Já para massa fresca, o melhor desempenho (3,10g) foi registrado na dose máxima de cinetina em combinação com 2,98mgL⁻¹ de 2,4D.

Os resultados encontrados concordam com Damião Filho (1995) quando afirma que a maioria das espécies lenhosas requer altas concentrações de fitorreguladores no meio de cultura para a formação de calos. Fráguas (2003) também registrou a formação de calos em figueira na dose 4 mgL⁻¹ de cinetina em combinação com meio WPM, na concentração 200%.

A influência positiva da relação auxina/citocinina também foi verificada por Santos et al. (2000), em ensaios envolvendo calogêse em diversas cultivares de café. De modo similar, Maciel (2001), em estudos de calogênese em café testando diferentes doses de 2,4D e 2,0mgL⁻¹ de cinetina, também verificaram maior formação de calos primários nodulares à medida em que se aumentou a concentração de 2,4D.

As auxinas são indispensáveis à formação de calos, uma vez que são responsáveis pelo início da divisão celular e pelo controle dos processos de crescimento e alongamento celular (Taiz & Zeiger, 2004). O mesmo autor relata que as citocininas também são necessárias para a divisão celular das plantas. Pasqual (2000) menciona resultado positivos da adição de citocinina ao meio de cultura para a indução de calo embriogênico, confirmando que a formação de calos observada no presente experimento, provavelmente, foi favorecida pelo efeito sinérgico entre os fitorreguladores, favorecendo um incremento da divisão celular.

4 - CONCLUSÕES

Existe efeito sinérgico entre segmentos foliares, ausência de luminosidade e presença de 2,4D e cinetina na concentração 4 mgL⁻¹ na calogênese em figueira 'Roxo de Valinhos'.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARTIAGA, E.J. **Calogênese e regeneração de pimenta longa**. 2004. 93p. Tese (Doutorado em Fisiologia Vegetal)-Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

ARAÚJO, J.S. de. **Calogênese em anteras de cafeeiro *Coffea arabica* L.** 2004. 41p. Tese (Doutorado em Fitotecnia)-Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

BERTHOULY, M.; MICHAUX-FERRIERE, N.M. High frequency somatic embryogenesis from *Coffea canephora*. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Netherlands, v.44, p.169-176, 1996.

CAMARGO, J.T. et al. Efeito do escuro e do seccionamento de internódios do porta-enxerto de macieira, cv. Marubakaido, na calogênese *in vitro* **Revista Brasileira de Agrociência**, v.5 n.2, p.81-83, maio./ago.1999.

DAMIÃO FILHO, C. F. **Cultura de tecidos de plantas: micropropagação.** Jaboticabal: FUNEP, 1995. 25 p.

EVANS, D.A.; SHARP, W.R. Applications of somaclonal variation. **Biotechnology**, v.4, p.528-532, 1986.

FARIA, J.T.C. **Calogênese e organogênese *in vitro* de porta-enxerto de macieira cv. Marubakaido (*Malus prunifolia* Willd, Borkh.).** 1996. 51p. Dissertação (Mestrado em Fruticultura de Clima Temperado)-Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

FERREIRA, D.F. Análises estatísticas por meio do Sivar para Windows versão 4.0. In REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45., 2000, São Carlos. **Anais...** São Carlos: UFSCar, 2000. p.255-258.

FLORES, R. et al. Calogênese *in vitro* de duas cultivares de morangueiro (*Fragaria x ananassa*) a partir de discos foliares. **Revista Brasileira de Agrociência**, v.4, n.1, p.9-14, jan./abr. 1998.

FORTES, G.R.L. **Calogênese e organogênese ‘in vitro’ de macieira (*Malus spp.*) afetada por fatores físicos, químicos e biológicos.** 1992. 163p. Tese (Doutorado em Fitotecnia)-Universidade Federal de Viçosa, Viçosa MG.

FORTES, G.R.L.; TEIXEIRA, S.L. Calogênese e organogênese de material somático de macieira (*Malus domestica*, Borkh). In: CONGRESSO IBERO AMERICANO, 1, CONGRESSO LATINO AMERICANO, 5., CONGRESSO NACIONAL DE HORTICULTURA, 4., 1992, Montevideu. **Anais...** Montevideu, 1992. p.21.

FRÁGUAS, C.B. **Micropropagação e espectos da anatomia foliar da figueira ‘Roxo de Valinhos’ em diferentes ambientes.** 2003. 110p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia)-Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M.A. Micropropagação. In: TORRES, A.C.; CALDAS, L.S. **Técnicas e aplicações da cultura de tecidos de plantas.** Brasília: EMBRAPA, CNPH, 1990. p.99-169.

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M.A. Micropropagação. In: TORRES, A.C.; CALDAS, L.S.; BUSO, J.A. **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas.** Brasília: EMBRAPA-SPI/EMBRAPA-CNPH, 1998. v.1, p.183–260.

HANDRO, W.; FLOH, E.I.S. Aspectos básicos do controle da morfogênese *in vitro*. In: TORRES, A.C.; CALDAS, L.S. **Técnicas e aplicações da cultura de tecidos de plantas.** Brasília: EMBRAPA, CNPH, 1990. p.204-212.

KOUIDER, M. et al. Adventitious shoot formation from Red Delicious apple cotyledons “in vitro”. **Journal of Horticultural Science**, v.59, n.3, p.295-302, 1984.

LIMA, E.C. **Micropropagação, calogênese e anatomia foliar de sangra d' água (*Croton urucurana* Baill)** 2004. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal)-Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

MACIEL, A.L.de R. **Embriogênese somática indireta em *Coffea arabica* L.** 2001. 60p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia)-Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

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

NOGUEIRA, R.C. **Propagação in vitro, análise anatômicas e bioquímicas de Murici-pequeno (*Byrsonima intermédia* A. Juss).** 2003. 89p. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal)-Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG

PALÚ, E.G. **Indução in vitro de calogênese em anteras e brotações em segmentos nodais de *Coffea arabica* L.** 2002. 47p. Dissertação (Mestrado Fisiologia Vegetal)-Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

PASQUAL, M. **Meios de cultura.** Lavras: FAEPE/UFLA, 2001.127p. (Textos Acadêmicos).

SANTOS, A.C.P. et al. Calogênese em *Coffea* via cultura semi-sólida. In: SIMPÓSIO DE PESQUISA DOS CAFÉS DO BRASIL, 1., 2000, Poços de Caldas. **Resumos...** Poços de Caldas, MG: EMBRAPA/CAFÉ, 2000. v.1, p.156-159.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. Porto Alegre: Artmed, 2004. 719p.

TAO, H. et al. Plant regeneration from leaf-deved callus in *Citrus grandis* (pumelo):Effects of auxins in callus induction medium. **Plant Cell Tissue abd Organ Culture**, Dordrecht, v.69, n.2, p.141-146, May 2002.

VERDEIL, J.L. et al. Plant regeneration from cultured immature inflorescences coconut (*Cocos nucifera* L.): Evidence for somatic embryogenesis. **Plant Cell Reports**, Berlin, v.13, p.218-221, 1994.

CAPÍTULO 4

MICROPROPAGAÇÃO DA FIGUEIRA ‘ROXO DE VALINHOS’

FERREIRA, Ester Alice. **MICROPROPAGAÇÃO DA FIGUEIRA ‘ROXO DE VALINHOS’**. 2006. Cap. 4, p 63 – 80. Tese (Doutorado em Agronomia/Fitotecnia) Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.*

RESUMO

Como o objetivo de otimizar o protocolo de micropropagação de mudas de figueira ‘Roxo de Valinhos’, o presente ensaio testou os efeitos de alterações na concentração de sacarose e do meio WPM no primeiro experimento e o efeito da variação gema/segmento com diferentes doses cinetina no segundo experimento. Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Cultura de Tecidos da Universidade Federal de Lavras, utilizando plântulas previamente estabelecidas *in vitro*. O delineamento experimental adotado em todos os casos foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial 5 x 4, sendo concentrações de WPM x sacarose, respectivamente, no primeiro e concentrações de cinetina e número de gemas, no segundo. Após 90 dias em sala de crescimento, foram analisadas as seguintes variáveis: número de brotações, comprimento e peso da matéria seca de raiz e parte aérea. Os resultados das análises estatísticas mostraram que, na multiplicação de brotações de figueira ‘Roxo de Valinhos’, pode-se usar 100% do meio WPM com adição de 10gL^{-1} de sacarose. Quando se deseja produzir brotos alongados, a utilização do meio de cultura sem adição de cinetina e segmentos com 1 ou 2 gemas proporciona melhores resultados. A adição de cinetina $0,5\text{mgL}^{-1}$ e a utilização de segmentos com 3 gemas promove maior número de brotações.

Palavras -chave: WPM, sacarose, cinetina, gemas.

* Orientador: Prof. Dr. Moacir Pasqual - UFLA

FERREIRA, Ester Alice. **MICROPROPAGATION OF FIG PLANTS ‘ROXO DE VALINHOS’** 2006. Chapter 4, p 67 – 84. Tese (Doctorate in Agronomy/Crop Science) Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.*

ABSTRACT

In order to optimize the protocol of 'Roxo de Valinhos' fig plants micropropagation, in this present research it was evaluated the effects of different concentration of sucrose on of the WPM medium on the first experiment and the effect of different number of bud/plantlets on the second one. The experiments were carried out at Tissue Culture Laboratory of Federal University of Lavras, taken *in vitro* already established plantlets. The experimental design adopted in all cases was the complete randomized one in factorial scheme 5 x 4, being: concentration of WPM and sucrose on the first, and doses of kinetin and number of buds on the second. After 90 days in grow room, were evaluated by the following characteristics: sprouts number, length and weight of roots and aerial part. The statistical results showed that for the sprouts multiplication can be taken 100% of WPM medium added with 10gL^{-1} of sucrose. When it is wished elongated sprout the use of medium without kinetin and explants with 1 or 2 buds promote best results. Adding $0,5\text{mgL}^{-1}$ of kinetin and taking explants with 3 buds promote larger sprouts number.

Key words: WPM, sucrose, kinetin, buds.

* Adviser: Dr. Moacir Pasqual - UFLA

1 INTRODUÇÃO

A 'Roxo de Valinhos' é a única cultivar de figueira plantada no Brasil e cujas mudas são produzidas predominantemente por propagação vegetativa, por

meio de estacas. Na maioria das vezes, estas estão infectadas pelo vírus do mosaico, um dos principais patógenos que atacam a cultura, comprometendo, assim, todo o potencial da planta.

A produção de mudas por meio de técnicas da cultura de tecidos se destaca como uma alternativa para atender às necessidades dos produtores em fornecer grande número de plantas saudáveis com maior uniformidade e qualidade num curto espaço de tempo.

Na literatura há relatos de resultados positivos do uso da micropropagação na obtenção de mudas de diversas cultivares de figueira, entre os quais Murithi et al. (1982), Pontikis & Melas (1986), Hu & Guo (1994), Haelterman & Docampo (1994), Demiralay (1998), Nobre et al. (1998), Demiralay et al. (1998), Kumar et al., (1998), Gunver & Ertan (1998) e Songul et al. (2005).

Com a cultivar Roxo de Valinhos alguns ensaios já foram realizados na tentativa de se obter um protocolo de micropropagação (Barbosa et al., 1992; Brum, 2001, Fráguas, et al. 2004) chegando a resultados significativos, como, por exemplo, a definição do meio *wood plant medium*, (WPM) (Lloyd & McCown, 1980) como o ideal para cultivo *in vitro* dessa cultivar.

Um aspecto importante na composição do meio WPM a ser estudado na micropropagação da figueira está relacionado à concentração do mesmo e à presença da sacarose.

A sacarose presente no meio é fonte de energia e de carbono nos processos biossintéticos (Gösslová et al., 2001). Entretanto, há relatos de que muitos explantes possuem a habilidade de crescer na ausência total ou parcial da sacarose do meio de cultura (Kozai, 1991). A eliminação e ou redução da sacarose no meio poderá reduzir alguns dos seus efeitos indesejáveis, tais como minimizar os riscos de contaminação microbiana, reduzir os custos de produção, melhorar as características fisiológicas da planta e, ainda, facilitar sua

aclimatização às condições *ex vitro* (Kozai & Kubota, 2001; Afreen et al., 2002; Arigita et al. 2002)

Considerando que o padrão de desenvolvimento dos explantes é grandemente influenciado pela concentração e balanço entre as substâncias acrescentadas ao meio de cultura, o presente trabalho buscou a otimização do protocolo de micropropagação de figueira, verificando o efeito de diferentes concentrações de sacarose e meio WPM e da combinação de cinetina e número de gemas na micropropagação de figueira 'Roxo de Valinhos'.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O ensaio foi realizado no Laboratório de Cultura de Tecidos, do Departamento de Agricultura, na Universidade Federal de Lavras. Foram utilizados segmentos nodais de 1 cm de plântulas de figueira cv. Roxo de Valinhos, previamente estabelecidas *in vitro*, onde foram conduzidos os experimentos descritos a seguir:

Experimento 1 - alterações na concentração do meio WPM – 0%; 50%, 100%, 150% e 200% com sacarose a 0; 10; 20 e 40 g/L.

Experimento 2 - diferentes concentrações de cinetina, 0; 0,5; 1,0; 2,0; 4,0 mgL⁻¹ utilizando segmentos nodais contendo 1, 2, 3 e 4 gemas.

O meio de cultura utilizado em todos os experimento foi o WPM (Tabela 1A) com pH ajustado para 5,8 e 6 gL⁻¹ de ágar. Cada tubo de ensaio (25x150 mm) recebeu 15 ml de meio e foi vedado com tampa plástica e autoclavado à pressão de 1,5 atm e a temperatura de 120° C por 20 minutos.

Em câmara de fluxo laminar previamente desinfestada com etanol 70% foram inoculados segmentos nodais e os tubos além das tampas plásticas, foram vedados com filme de PVC e mantidos em sala de crescimento com temperatura de $25 \pm 1^\circ\text{C}$, fotoperíodo de 16 horas e $35 \mu\text{M.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ de intensidade luminosa.

O delineamento experimental usado em todos os experimentos foi inteiramente casualizado em esquema fatorial com quatro repetições e três tubos por parcela, cada tubo contendo um explante. Aos 90 dias após a instalação, os experimentos foram avaliados pelas seguintes características: número de brotos, comprimento e peso da matéria seca do sistema radicular e parte aérea.

Os dados obtidos foram submetidos à análise estatística, pelo programa estatístico Sisvar (Ferreira, 2000).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Alterações na concentração do meio WPM e sacarose

Pela análise de variância (Tabela 9A) observa-se que houve interação significativa entre as concentrações do meio WPM e as doses de sacarose testadas para número de brotos, comprimento de raiz e peso da matéria seca de parte aérea, constatando-se a dependência dos efeitos desses dois fatores para essas variáveis. Na variável peso da matéria seca de raiz, o desdobramento da interação não mostrou significância em qualquer concentração de sacarose.

A representação gráfica para o número médio de brotos formados é apresentada na Figura 1, na qual se observa um comportamento semelhante para todas as concentrações de sacarose testadas, apresentando um pico, com maior número de brotos, próximo à concentração de 100% do meio WPM. Porém, o maior valor (4,22) foi registrado, ao derivarem-se as equações de cada concentração, a 10g/L de sacarose, com 95,87% de WPM.

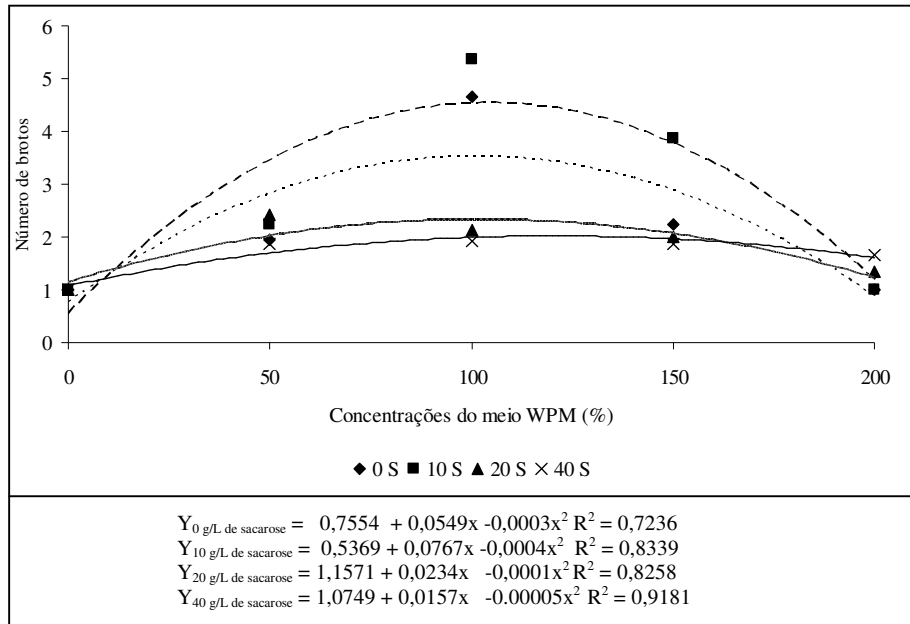


FIGURA 1 Número de brotos de figueira 'Roxo de Valinhos' cultivados em diferentes concentrações do meio WPM e de sacarose. UFLA, Lavras, MG, 2005.

Não houve influência da presença de sacarose no meio para a variável comprimento da parte aérea e o efeito das diferentes concentrações do meio WPM sobre esta variável é ilustrado na Figura 2.

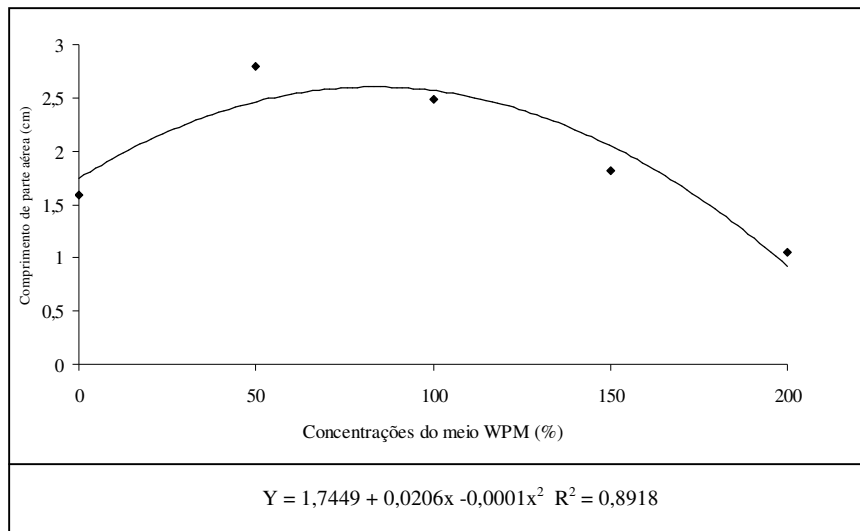


FIGURA 2 Comprimento da parte aérea de plântulas de figueira ‘Roxo de Valinhos’ cultivada em diferentes concentrações do meio WPM. UFLA, Lavras, MG, 2005.

Observa-se que com o aumento na concentração do meio, houve incremento no comprimento da parte aérea, atingindo o valor máximo (2,80cm) na concentração 103% do meio WPM, a partir do qual houve decréscimo. É possível que essa redução tenha ocorrido devido ao efeito tóxico causado pelas altas concentrações de sais no meio. Estes resultados concordam, em parte, com Brum (2001) que também registrou decréscimo para mesma variável, em concentrações superiores a 100% do meio WPM, na presença de AIB.

A presença de sacarose foi fundamental para o desenvolvimento das raízes *in vitro*, tendo em vista que, na sua ausência, não houve enraizamento (Figura 3). Estes resultados concordam com Mc Cown (1988), segundo o qual quando o suprimento de fotossintatos é insuficiente, não há formação de raízes *in vitro*.

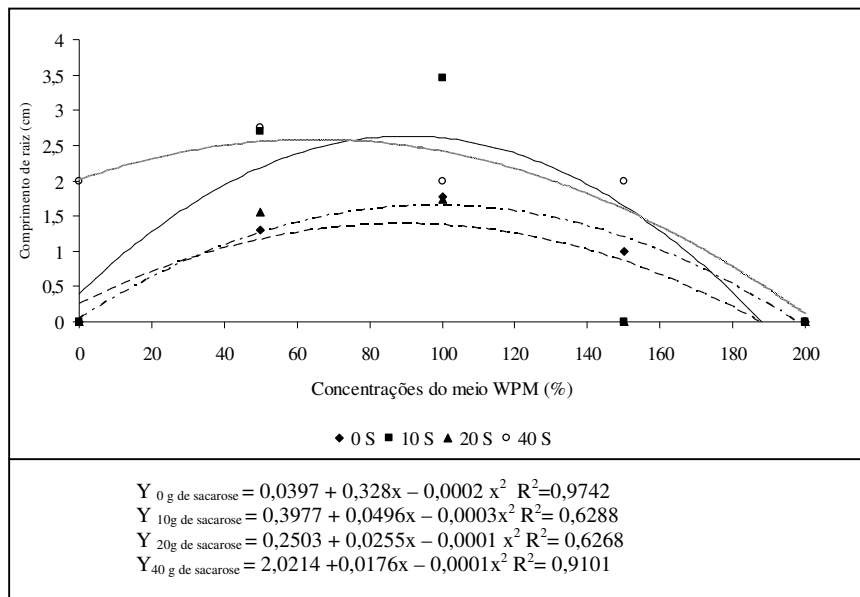


FIGURA 3 Comprimento de raiz de figueira ‘Roxo de Valinhos’ cultivada em diferentes concentrações do meio nutritivo WPM e diferentes concentrações de sacarose. UFLA, Lavras, MG, 2005.

A utilização de 10 e 40 g de sacarose proporcionou os melhores resultados para esta variável, de 2,45cm e 2,79cm, nas concentrações 82,66% e 88 % do meio WPM, respectivamente. Neste caso, como a diferença obtida foi pequena, recomenda-se a utilização de sacarose a 10gL^{-1} .

A presença de sacarose a 10gL^{-1} também promoveu maior incremento no peso da matéria seca de parte aérea (Figura 4).

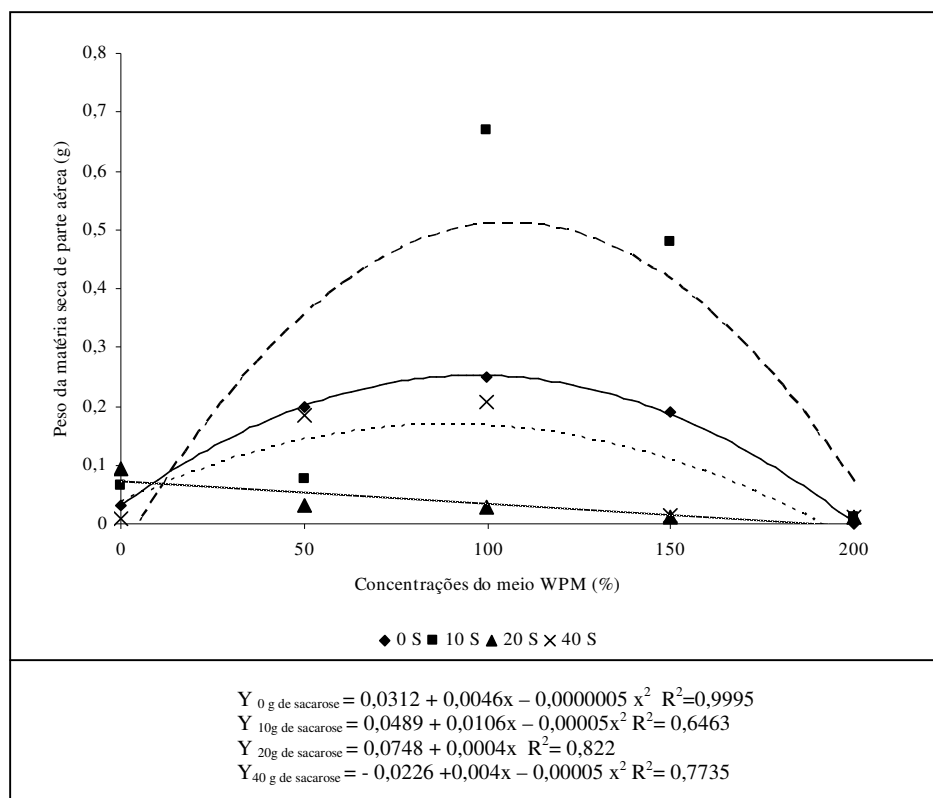


FIGURA 4 Peso da matéria seca de parte aérea de plântulas de figueira ‘Roxo de Valinhos’ cultivadas em diferentes concentrações de sacarose e meio WPM. UFLA, Lavras, MG, 2005.

De forma geral, os melhores resultados obtidos em todas as variáveis analisadas ocorreram quando foram adicionados 10gL^{-1} de sacarose em 100% do meio WPM, diferente de Brum (2001) que registrou melhor desempenho com adição de 20g^{-1} de sacarose.

Concentrações de cinetina e número de gemas

Houve interação significativa entre cinetina e número de gemas para número de brotações, comprimento de parte aérea e raiz e peso da matéria seca

de parte aérea (Tabela 10A) evidenciando o efeito correlacionado entre os fatores testados.

Pelo gráfico da Figura 5 observa-se que a concentração 2,0 mgL⁻¹ de cinetina se destacou entre as demais concentrações testadas, apresentando um comportamento crescente na multiplicação de brotos, atingindo seu valor máximo quando foram utilizadas 4 gemas. Estes resultados estão em concordância com Fráguas (2003), que também registrou um maior número de brotos na concentração 2,45 mgL⁻¹ de cinetina. O mesmo autor relata que o valor máximo obtido foi de 4,25, sendo inferior ao registrado no presente ensaio (7,48) que provavelmente foi favorecido pelo número de gemas.

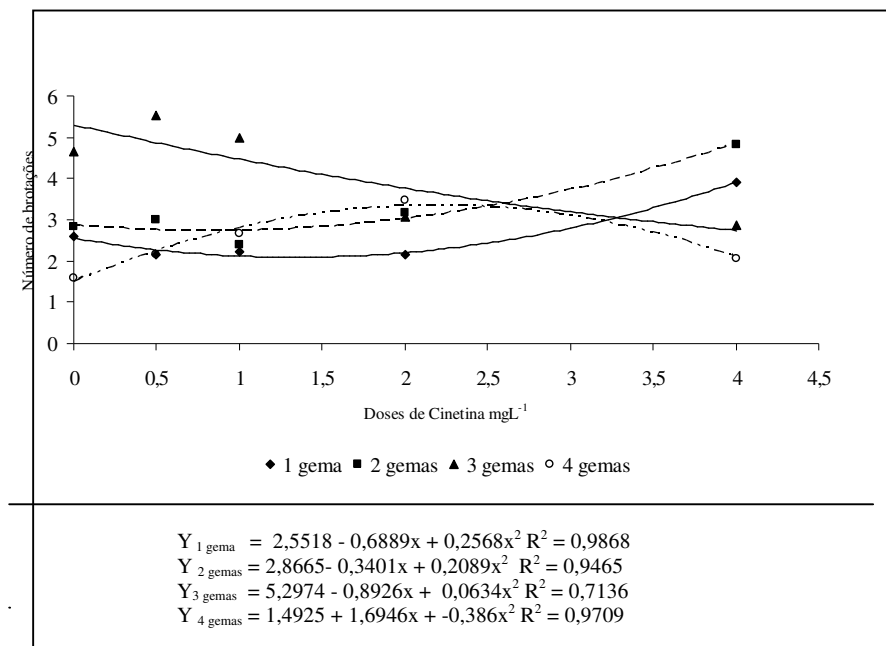


FIGURA 5 Número de brotações obtidas em plântulas de figueira ‘Roxo de Valinhos’ cultivadas com diferentes números de gemas e concentrações de cinetina. UFLA, Lavras, MG, 2005.

Na gráfico da Figura 6 observa-se que um melhor desempenho no comprimento de plântulas ocorreu na ausência da cinetina, atingindo o valor máximo (6,00cm) quando utilizaram-se 3 (2,53) gemas. Estes dados concordam com as afirmações de Novák & Juvová (1983) de que a adição de cinetina ao meio na micropropagação de videira afeta o crescimento e o desenvolvimento de meristemas de gemas axilares em todas as concentrações testadas.

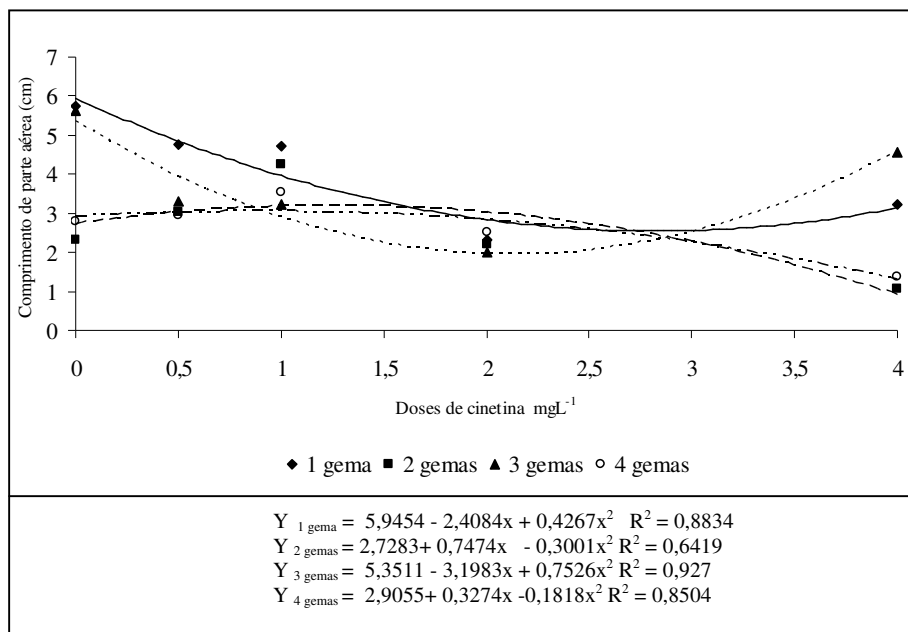


FIGURA 6 Comprimento de parte aérea de plântulas de figueira ‘Roxo de Valinhos’, cultivadas com diferentes números de gemas e concentrações de cinetina. UFLA, Lavras, MG, 2005.

O peso da matéria seca da parte aérea foi influenciado somente pelo número de gemas e não houve diferença significativa para essa variável, quando se utilizaram 2, 3 e 4 gemas (Figura 7).

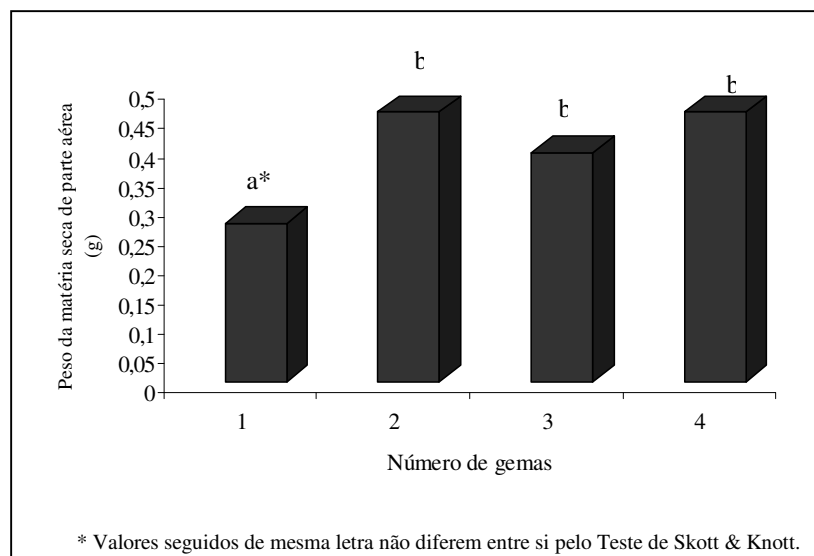


FIGURA 7 Peso da matéria seca da parte aérea de plântulas de figueira ‘Roxo de Valinhos’, cultivadas com diferentes números de gemas. UFLA, Lavras, MG, 2005.

Pel gráfico da Figura 8 observa-se que o comprimento médio de raiz decresceu a medida em que se aumentou o número de gemas, em todas as concentrações de cinetina.

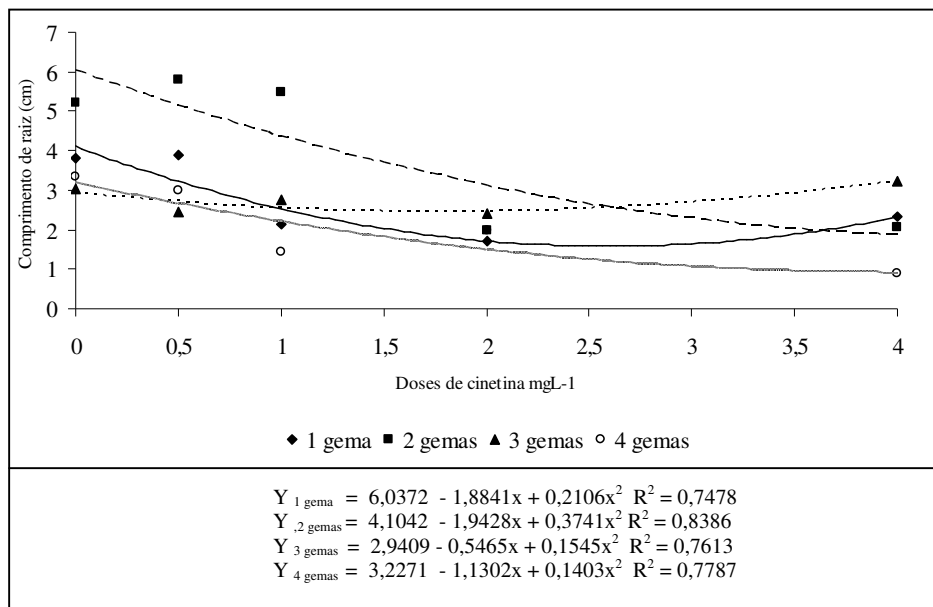


FIGURA 8 Comprimento de raiz de plântulas de figueira cultivadas em meio com diferentes números de gemas. UFLA, Lavras, MG, 2005.

Resultado semelhante foi encontrado em ensaios realizados por Fráguas (2003) no qual a presença de cinetina inibiu a formação de raízes, mesmo quando associada a GA₃.

4 CONCLUSÕES

Na multiplicação de brotações de figueira 'Roxo de Valinhos' pode-se utilizar 100% do meio WPM com adição de 10gL⁻¹ de sacarose.

Quando se deseja produzir brotos alongados, pode-se usar meio de cultura WPM, sem adição de cinetina e segmentos com 1 ou 2 gemas.

A adição de cinetina 0,5 mgL⁻¹ e a utilização de segmentos com 3 gemas promovem maior número de brotações.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AFREEN, F. et al. Photoautotrophic culture of *Coffea arabusta* somatic embryos: photosynthetic ability and growth of different stage embryos. **Annals of Botany**, London, v.90, p.11-19, 2002.

ARIGITA, L. et al. Influence of CO₂ and sucrose on photosynthesis and transpiration of *Actinidia deliciosa* explants cultured *in vitro*. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.115, p.166-173, 2002.

BARBOSA, W. et al. de. Produção de mudas de figueira ‘Roxo de Valinhos’ através da cultura *in vitro*. **O Agrônômico**, Campinas, v.44, n.1/3, p.6-10, jan./dez. 1992.

BRUM, G.R. **Micropropagação de figueira (*Ficus carica* L.)** 2001. 41p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia)-Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG

DEMIRALAY, A. et al. In vitro propagaion of *Ficus carica* L. vair Brusa Siyahi through meristem culture. **Acta Horticulturae**, Wageningenn, v.480, p.165-167, 1998.

FERREIRA, D.F. Análises estatísticas por meio do Sivar para Windows versão 4.0. In REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45., 2000, São Carlos. **Anais...** São Carlos: UFSCar, 2000. p.255-258.

FRÁGUAS, C.B. **Micropropagação e espectos da anatomia foliar da figueira ‘Roxo de Valinhos’ em diferentes ambientes.** 2003. 110p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia)-Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

FRÁGUAS, C.B. et al. Micropropagation of fig (*Ficus carica* L.) “Roxo de Valinhos” plants. **In Vitro Cell. Dev. Biol. –Plant**, v.40, p.471-474, Sept./Oct. 2004.

GÖSSLOVÁ, M. et al. Comparing carbohydrate status during norway spruce seed development and somatic embryo formation. **In Vitro Cellular and Developmental Biology – Plant**, v.37, p.24-28, 2001.

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M.A. Micropropagação. In: TORRES, A.; CALDAS, L.S.; BUSO, J.A. (Ed.). **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: EMBRAPA, 1998.v.1. p.183-260.

GUNVER,G.ve; ERTAN,E. A study on the propagation of figs by tissue culture techniques. **Acta Horticulturae**, v.480, p.169-172, June 1998.

HAELTERMAN, R.M.; DOCAMPO, D.M. In vitro propagation of mosaic free fig (*Ficus carica* L.) cultivars, using thermotherapy and shoot tip culture. **Revista de Investigaciones Agropecuarias**, Buenos Aires, v.25, n.3, p.15-22, 1994.

HU, J.G.; GUO, J.S. A study on tissue culture of *Ficus carica*. **Journal of Nanjing Forestry University**, v.18, n.3, p.73-76,1994.

KOZAI, T. Micropropagation under photoautotrophic conditions. In: DEBERGH, P.C.; ZIMMERMAN, R.H. (Ed.). **Micropropagation-technology and application**. Dordrecht: Kluwer Academic, 1991. p.447-469.

KOZAI, T; KUBOTA, C. Developing a photoautotrophic micropropagation system for woody plants. **Journal of Plant Research**, Tokyo, v.114, p.525-537, 2001.

KUMAR, V.; RODHA, A. CHITTA, S.K. In vitro plant regeneration of Fig (*Ficus carica* L. cv. Gular) apical buds from mature trees. **Plant Cell Reports**, v.17, n.9, p.717-720,1998.

LLOYD, G.; MCCOWN, B. Use of microculture for production and improvement of *Rhododendron* spp. **HortScience**, Alexandria, v.15, n.3, p.416-417, June 1980.

MC COWN, B.H. Adventitious rooting of tissue cultured plants. In: DAVIS, T.; HAISSIG, B.E.; SANKLA, N. (Ed.). **Adventitious root formation in cuttings**. Portland-Oregon: Dioscorides, 1988. v.2, p.289-299.

MURITHI, M.; RAGAN, T.S.; WAITE, B.H. *In vitro* propagation of fig through shoot tip culture. **HortScience**, Alexandria, v.17, p.86-87, Feb. 1982.

NOBRE, J. et al. *In vitro* cloning of *Ficus carica* L. adult trees. **Acta Horticulturae**, Amsterdam, n.480, p.161-164,1998.

NOVAK, F.J.; JUVOVÁ, Z. Clonal propagation of grapevine through in vitro axillary bud culture. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v.18, n.3, p.231-240, 1983.

PASQUAL, M. **Meios de cultura**. Lavras: FAEPE/UFLA, 2001.127p. (Textos Acadêmicos).

PONTIKIS, C.A.; MELAS, P. Micropropagation of *Ficus carica* L. **Hortscience**, v.21, n.1, p.153, 1986.

SONGUL, C. et al. Meristem culture of Fig cv. Bursa Siyahi and Alkuden.
Fruits, v.25, n.18. p.56-61, 2005.

TAIZ,L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. Porto Alegre: Artmed, 2004. 719p.

ANEXOS

ANEXO A	Página
TABELA 1A Solução nutritiva do meio WPM (Wood Medium Plant).....	84

TABELA 1B	Descrição dos tratamentos testados na determinação da sensibilidade figueira ‘Roxo de Valinhos’ a irradiação gama	85
TABELA 1C	Resumo das análises de variância para as variáveis: comprimento de parte aérea (CPA); peso (P); número de gemas (NG) para plântulas de figueira submetidas a diferentes tratamentos	87
TABELA 1D	Solução nutritiva de Murashige & Skoog (MS)	88
TABELA 1E	Meio utilizado na indução de calos de figueira ‘Roxo de Valinhos’	89
TABELA 1F	Resumo das análises de variância para as variáveis: peso e intensidade de crescimento de calos desenvolvidos a partir de diferentes explantes na presença de reguladores de crescimento	90
TABELA 1G	Resumo das análises de variância para as variáveis: peso e intensidade de crescimento de calos desenvolvidos a partir de segmentos foliares na presença de reguladores de crescimento em diferentes ambientes	91

TABELA 1H Resumo das análises de variância para as variáveis: peso e intensidade de crescimento de calos desenvolvidos em diferentes concentrações de 2,4D e cinetina 92

TABELA 1I Resumo das análises de variância para as variáveis: número de brotos (NB), comprimento de parte aérea (CPA); comprimento de raiz (CR); peso da matéria seca de parte aérea (PMSPA) e peso da matéria seca de raiz (PMSR) de explantes desenvolvidos em diferentes concentrações do meio WPM e sacarose 93

TABELA 1J - Resumo das análises de variância para as variáveis: número de brotos (NB), comprimento de raiz (CR); comprimento de parte aérea (CPA); peso da matéria seca de raiz (PMSR) e peso da matéria seca de parte aérea (PMSPA) de explantes desenvolvidos a partir de diferentes números de gemas e em meio com diferentes concentrações de cinetina 94

TABELA 1A Solução nutritiva do meio WPM. UFLA, Lavras, MG, 2005.

Compostos	Concentração Final (mg/L)
-----------	------------------------------

NH ₄ NO ₃	400,00
CaCl ₂ . 2H ₂ O	96,00
Na ₂ EDTA. 2H ₂ O	37,25
FeSO ₄ . 7H ₂ O	27,85
H ₃ BO ₃	6,20
KH ₂ PO ₄	170,00
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	0,25
Ca(NO ₃) ₂ . 4H ₂ O	556,00
K ₂ SO ₄	990,00
MgSO ₄ . 7H ₂ O	370
MnSO ₄ . 4H ₂ O	22,3
ZnSO ₄ . 7H ₂ O	8,6
CuSO ₄ . 5H ₂ O	0,25
Tiamina – HCl	1,00
Piridoxina - HCl	0,50
Ác. Nicotínico	0,50
Mio-Inositol	100,00
Glicina	2
Sacarose (2%)	20000,00

TABELA 1B Descrição dos tratamentos testados na determinação da sensibilidade da figueira ‘Roxo de Valinhos’ a irradiação gama. UFLA, Lavras, MG, 2005. (continua)

Tratamento	Dose	Tamanho	Posição
1	0 – Testemunha	1	1
2	0	1	2
3	0	1	3
4	0	2	1

5	0	2	2
6	0	2	3
7	0	3	1
8	0	3	2
9	0	3	3
10	10	1	1
11	10	1	2
12	10	1	3
13	10	2	1
14	10	2	2
15	10	2	3
16	10	3	1
17	10	3	2
18	10	3	3
19	20	1	1
20	20	1	2
21	20	1	3
22	20	2	1
23	20	2	2
24	20	2	3
25	20	3	1
26	20	3	2
27	20	3	3
28	30	1	1
29	30	1	2
30	30	1	3
31	30	2	1
32	30	2	2
33	30	2	3
34	30	3	1
35	30	3	2
36	30	3	3
			Tabela 1B Cont.
Tratamento	Dose	Tamanho	Posição
37	40	1	1
38	40	1	2
39	40	1	3
40	40	2	1
41	40	2	2

42	40	2	3
43	40	3	1
44	40	3	2
45	40	3	3
46	50	1	1
47	50	1	2
48	50	1	3
49	50	2	1
50	50	2	2
51	50	2	3
52	50	3	1
53	50	3	2
54	50	3	3

TABELA 1C Resumo das análises de variância para as variáveis: comprimento de parte aérea (CPA), peso (P) e número de gemas (NG) para plântulas de figueira submetidas a diferentes tratamentos. UFLA, Lavras, MG, 2005.

QM

FV	GL	CPA	P	NG
D	5	26.656395	1.008865	67.683951
T	2	2.969136	0.149092	1.228395
P	2	3.262469	0.003828	3.450617
DxT	10	5.637506**	0.091860**	16.850617**
DxP	10	2.080617	0.300761	3.250617
TxP	4	1.815247	0.010994	3.950617
DxTxP	20	2.672284	0.027855	5.072840
Erro	108	1.959506	0.023426	4.395062
CV (%)		58,30	52,94	58,15
Média geral		2,40	0,2890	3,604

** Significativo a 1% de probabilidade pelo Teste F

D- Dose; T – Tamanho de plântulas; P – Posição de gemas

TABELA 1D Solução nutritiva de Murashige & Skoog (MS). UFLA, Lavras, MG, 2005.

Compostos	Concentração final (mg/L)
NH ₄ NO ₃	1650,00

KNO ₃	1900,00
H ₃ BO ₃	6,20
KH ₂ PO ₄	170,00
KI	0,83
Na ₂ MoO ₄ . 2H ₂ O	0,25
CoCl ₂ . 6H ₂ O	0,025
CaCl ₂ . 2H ₂ O	440,00
MgSO ₄ . 7H ₂ O	370,00
MnSO ₄ . 4H ₂ O	22,30
ZnSO ₄ . 7H ₂ O	8,60
CuSO ₄ . 5H ₂ O	0,025
Na ₂ EDTA. 2H ₂ O	37,25
FeSO ₄ . 7H ₂ O	27,85
Mio-Inositol	100,00
Tiamina – HCl	0,50
Ác. Nicotínico	0,50
Piridoxina – HCl	0,50
Glicina	2,00
Sacarose (3%)	30000,00

TABELA 1 E Meio utilizado na indução de calos¹ de figueira ‘Roxo de Valinhos’. UFLA, Lavras, MG, 2005.

Componentes	Concentração (mg.L ⁻¹)
MS ²	½ dos sais

Tiamina-HCl	10,0
Piridoxina-HCl	1,0
Ácido Nicotínico	1,0
Glicina	1,0
Mio-inositol	100,0
Caseína Hidrolisada	100,0
Extrato de malte	400,0
Sacarose	30.000
Agar	5.000

¹/ Berthouly e Michaux-Ferriere (1996)

²/ Murashige e Skoog (1962)

TABELA 1F Resumo das análises de variância para as variáveis peso e intensidade de crescimento de calos desenvolvidos a partir de diferentes explantes na presença de reguladores de crescimento. UFLA, Lavras, MG, 2005.

FV	GL	QM	
		MFC ¹	ICC ²
2,4D	4	2,663958	1,720000
Explante	1	26,536195	38,720000
2,4D x Explante	4	5,89294**	5,120000**
erro	40	0,108259	0,350000
CV (%)		27,22	25,95
Média geral		2,28	1,208

** Significativo a 5% de probabilidade pelo Teste F

¹MFC- massa fresca de calos (g)

²ICC – intensidade de crescimento de calos

TABELA 1G Resumo das análises de variância para as variáveis: peso e intensidade de crescimento de calos desenvolvidos a partir de segmentos foliares na presença de reguladores de crescimento em diferentes ambientes. UFLA, Lavras, MG, 2005.

FV	GL	QM	
		MFC ¹	ICC ²
2,4D	4	1,986830	5,570000
Ambiente	1	16,771315	
		23,120000	
2,4DxAmbiente	4	1,712542**	9,670000**
erro	40	0,292156	0,710000
CV (%)		32,59	33,98
Média geral		1,65	2,48

** Significativo a 5% de probabilidade pelo Teste F

¹MFC- massa fresca de calos (g)

²ICC – intensidade de crescimento de calos

TABELA 1H Resumo das análises de variância para as variáveis peso e intensidade de crescimento de calos desenvolvidos em

diferentes concentrações de 2,4D e cinetina. UFLA, Lavras, MG, 2005.

FV	GL	QM	
		MFC ¹	ICC ²
2,4D	4	7,323985	12,108000
Cinetina	4	1,491035	4,828000
2,4D x Cinetina	16	0,797846**	1,878000**
erro	100	0,081705	0,736000
CV (%)		26,88	30,55
Média geral		1,063	2,80

** Significativo a 5% de probabilidade pelo Teste F

¹MFC- massa fresca de calos (g)

²ICC – intensidade de crescimento de calos

TABELA 1 I Resumo das análises de variância para as variáveis: número de brotos (NB), comprimento de parte aérea (CPA); comprimento

de raiz (CR); peso da matéria seca de parte aérea (PMSPA) e peso da matéria seca de raiz (PMSR) de explantes desenvolvidos em diferentes concentrações do meio WPM e sacarose. UFLA, Lavras, MG, 2005.

QM						
FV	GL	NB	CPA	CR	PMSPA	PMSR
WPM ¹	4	25,985552*	8,238216*	21,726979	0,275081	0,001528
S ²	4	4,297991	0,664826	2,132331	0,089286	0,000199
WPM x S	11	3,582953*	0,627089	5,330862*	0,093700*	0,000723*
erro	64	1,757397	0,410593	0,487969	0,045296	0,000160
CV (%)		60,11	32,72	76,96	129,19	143,11
Média geral		2,20	1,95	0,907	0,164	0,0088

¹WPM – Meio Wood Plant Medium; ² S - Sacarose

* Significativo a 5% de probabilidade pelo Teste de F

TABELA 1J Resumo das análises de variância para as variáveis número de brotos (NB), comprimento de raiz (CR); comprimento de parte

aérea (CPA); peso da matéria seca de raiz (PMSR) e peso da matéria seca de parte aérea (PMSPA) de explantes desenvolvidos a partir de diferentes números de gemas e em meio com diferentes concentrações de cinetina. UFLA, Lavras, MG, 2005.

QM						
FV	GL	NB	CR	CPA	PMSR	PMSPA
NG	4	6,143592	47,703148	11,487922	0,047921	0,153855**
Cin	4	9,605524	11,870904	11,285423	0,087403	0,065056
NGxCin	11	9,425883**	5,423437**	5,445250**	0,049072	0,033355
Erro	60	1,448685	1,472421	1,890655	0,053711	0,032795
CV (%)		37,77	44,50	40,66	63,82	50,74
Média Geral	3,28	2,72	3,38	0,363	0,356	

NG – número de gemas; Kin - cinetina

** Significativo a 5% de probabilidade pelo Teste F