

ANTÔNIO TADEU DA SILVA

**ACLIMATAÇÃO DE PLANTAS PROVENIEN-
TES DA CULTURA *In Vitro***

Dissertação apresentada à Escola Superior de Agricultura de Lavras, como parte das exigências do Curso de Pós-Graduação em Agronomia, área de concentração Fitotecnia e sub-área de cultura de tecidos.
Grau de "Magister Scientiae"

ESCOLA SUPERIOR DE AGRICULTURA DE LAVRAS
LAVRAS - MINAS GERAIS

1991

ANTÔNIO TADEU DA SILVA

1931

1931

1931

1931

ACCLIMATAÇÃO DE PLANTAS PROVENIENTES

DE OUTROS PAÍSES



Trabalho apresentado a Faculdade de Agronomia da Universidade Federal de Lavras, Minas Gerais, em cumprimento das exigências do Curso de Pós-Graduação em Agronomia, área de concentração em Fitotecnia e melhoramento genético de plantas, sob a orientação do Prof. Dr. Manoel de Menezes, Mestre em Agronomia.

ESCOLA SUPERIOR DE AGRICULTURA DE LAVRAS

LAVRAS, MINAS GERAIS

1931

ANTÔNIO TADEU DA SILVA

ACLIMATAÇÃO DE PLANTAS PROVENIENTES
DA CULTURA *in vitro*

ORIENTADOR: Moacir Pasqual

CO-ORIENTADORES: José Eduardo Brasil P. Pinto

Adimilson Bosco Chitarra

ESCOLA SUPERIOR DE AGRICULTURA DE LAVRAS

LAVRAS - 1991.

FICHA CATALOGRÁFICA PREPARADA PELO ÁREA DE CATALOGAÇÃO
E CLASSIFICAÇÃO DA BIBLIOTECA CENTRAL DA ESAL - LAVRAS, MG.

SILVA, Antônio Tadeu da.

Aclimação de plantas provenientes da
cultura "in vitro". Lavras, ESAL, 1991.
80p. ilustr.

Tese, Mestre em Agronomia: Fitotecnia.
Bibliografia.

1. Plantas - Aclimação. 2. Cultura de
tecidos "in vitro" (Plantas). 3. Plantas -
Cultura de Tecidos "in Vitro". 4. Fisiolo-
gia vegetal. 5. Bioquímica vegetal. 6. Mor-
fologia vegetal. 7. ECOLOGIA Vegetal. I.
ESCOLA SUPERIOOR DE AGRICULTURA DE LAVRAS.
II. Título.

CDD - 574.542
- 581.0724
- 581.1924

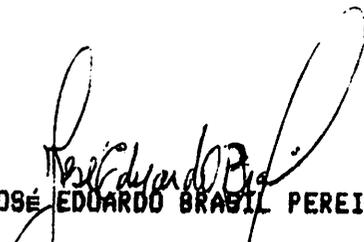
**ACLIMATAÇÃO DE PLANTAS PROVENIENTES
DA CULTURA " IN VITRO "**

APROVADA : EM 30 / 09 / 1991

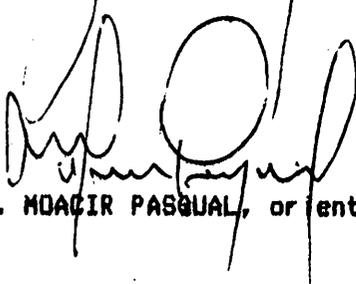


PROF. DR. ADMILSON BOSCO CHITARRA

BANCA EXAMINADORA:



PROF. DR. JOSÉ EDUARDO BRASIL PEREIRA PINTO



PROF. DR. MOACIR PASQUAL, orientador

ESAL, LAURAS - MG.

dedicatória

- àqueles que são parte da minha vida, e,
apesar de tudo, ainda lutam por uma vida melhor

- ao grupo de consciência esotérica (Lavras)
- ao grupo da Faz. Sta.Fé LAVRAS

pelos carinhos de mãe de:

Corina Juliana
Geny Lopes
Hercília Bueno

pela amizade sincera e carinhos de:

Tê; Léia; Déia; Maria; José e Janir;
Popo e Genyzinha.

Pelos carinhos e auxílio da querida, Lí

aos meus amigos de sempre;
e colegas do laboratório de c. t. dia 04/10.

DEDICO

agradecimento:

A Deus, Inteligência Suprema;
 por minha existência e sanidade físico-mental;
 "por minha mônada; que fez assim e colocou-me aqui"

À amizade, confiança, apoio e colaboração de:

- Prof. orientador Moacyr Pasqual, pela cordial ajuda
 - Prof. José Eduardo B. P. Pinto, pela oportunidade
 - Prof. Admílson Bosco Chitarra, pelas sugestões
 - Profa. Janice Carvalho Guedes, pela colaboração e amizade
 - Dra. Vânia Déia de Carvalho, pelas sugestões apresentadas,
colaboração e amizade
 - Aos prof(s). Agostinho e Luiz Henrique pelas sugestões no planejamento e análises estatística, ao colega Nazareno de Bastos, pela ajuda a mim concedida.
 - Ao Prof. Gui Alvarenga, DD. Chefe do dep. Agricultura
 - Aos Profs. Nilton N.J.Chalfun, Paulo Cezar Lima e Pedro Castro.
 - Aos Profs. Maria José Melo, Machado/Letícia e Maria das Graças, pela amizade.
 - Aos funcionários do CPD: Luís, Reginaldo, Maria e Marco.
 - Aos funcionários da Biblioteca Central, pela ajuda e presteza
 - Às secretárias: Silvinha, Viviane e Nelzi
 - Aos funcionários da EPAMIG, DCA, DQI, DCS e Oficina da ESAL,
especialmente; Adalto, Jairinho, Vicente Gualberto e Janir
 - Aos amigos, graduandas e colegas do Lab. de cultura de tecidos
- A todos que, direta ou indiretamente, contribuíram.

Às seguintes instituições pela oportunidade e auxílio:

- Escola Superior de Agricultura de Lavras (ESAL)
- Coordenadoria de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - (CAPES)

S U M Á R I O

	página
01. INTRODUÇÃO.....	1
02. REFERENCIAL TEÓRICO	3
2.1 Considerações gerais.....	3
2.2 Parede celular	4
2.2.1. Estrutura da parede celular	5
2.2.2. Composição química da parede celular	8
2.2.2.1 Celulose	9
2.2.2.2. Hemiceluloses	10
2.2.2.3. Lignina	11
2.2.2.4. Polímeros da matriz	13
2.2.3. Outras substâncias da parede celular	13
2.2.4. Parede celular da epiderme	14
2.3. Recipientes	15
2.4. Substratos	16
2.5. Fatores Que Interferem na Aclimação	17
2.5.1. Fatores Ambientais e Hereditários	18
2.5.2. Interações Ecológicas	20
2.5.3. Fatores Bioquímicos e Fisiológicos	23
03. MATERIAIS E MÉTODOS	24
3.1. Espécies Utilizadas	24
3.2. Obtenção das Plântulas	24
3.3. Descrição dos Tratamentos	25
3.4. Delineamento Experimental	27
3.5. Instalação, Condução e Coletas	27

v.

17 }
18 } *arweu*
20 }
23 }

3.6. Resumo do Esquema das Extrações	28
3.7. Análises dos Dados	29
04. RESULTADOS E DISCUSSÃO	29
4.1 TEORES BIOQUÍMICOS NAS PLÂNTULAS	29
4.1.1 Teor de MST nas Plântulas "in vitro".....	30
4.1.2 Teor de Hemicelulose "in vitro"	33
4.1.3 Teor de celulose das plântulas "in vitro"	35
4.1.4 Teor de Lignina das plântulas "in vitro" ...	37
4.2 ÍNDICE DE SOBREVIVÊNCIA	39
4.3 TEORES BIOQUÍMICOS NAS PLANTAS ACLIMATADAS	43
4.3.1 Teor de MST	43
4.3.2 Teor de Celulose nas Espécies aclimatadas..	47
4.3.3 Teor de Hemicelulose nas Espécies.....	50
4.3.4 Teor de Lignina nas Espécies Aclimatadas...	53
4.4 PARAMETROS FÍSICO-QUÍMICOS	54
4.4.1 Número de Folhas.....	55
4.4.2 Área Foliar	58
4.4.3 Peso da Parte Aérea Viva	61
4.4.4 Peso Fresco de Raiz	62
4.5.5 Relação de Peso	64
4.5.6 Matéria Sêca Total Acumulada	66
05. CONCLUSÕES	69
06. RESUMO	70
07. SUMMARY	72
08. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	74
09. APÊNDICE	8:3

LISTA de QUADROS

Quadro	Pág.
01. Descrição dos tratamentos	25
02. Análises físico-químicas dos substratos. ESAL, Lavras/MG - 1991	26
03. Resumo da ANAVA referente aos parâmetros: teores de celulose, hemicelulose e lignina na amostra de MS e o teor de MST das espécies nas condições "in vitro". ESAL, LAVRAS, MG.1991	29
04. Valores médios para os teores de MST, celulose, hemicelulose e lignina referentes as espécies avaliadas, no período de 18 dias após o enraizamento das plântulas "in vitro". ESAL, Lavras, 1991	30
05. índice de sobrevivência das espécies desenvolvidas em casa-de-vegetação, após sofrerem micropropagação. ESAL, Lavras- MG. 1991	40
06. ANAVA para os parâmetros bioquímicos avaliados nas espécies aclimatadas em casa-de-vegetação. ESAL, Lavras - MG., 1991	43
07. Valores médios para o teor de MST, nas épocas de coleta dentro do substrato, ESAL, Lavras - MG. 1991 ..	46
08. Valores médios para o teor de celulose nas espécies aclimatadas em casa-de-vegetação, para substrato dentro das espécies. ESAL - Lavras MG. 1991	48
09. Valores médios para o teor de hemicelulose nas aclimatadas dentro dos substratos, nas condições de casa-de-vegetação, ESAL, LAVRAS, MG. 1991	51
10. Resumo de ANAVA referente aos parâmetros físico-químicos da espécie "amora-preta". ESAL, Lavras, MG. 1991	54
11. Valores médios para o NF na planta de "amora-preta", nas condições em casa-de-vegetação, nas melhores idade (17 dias) e época (35 dias) ESAL, Lavras- 1991 ..	57
12. Valores médios para a AF de plantas de "amora-preta" nas condições de casa-de-vegetação, para substratos dentro de tamanho e formas de recipientes. ESAL, Lavras, MG. 1991	59

13. Valores médios para o PPAV das plantas de 'amora-preta', nas condições de casa-de-vegetação. ESAL, Lavras- MG. 1991	61
14. Valores médios para o P.F.RAIZ das plantas de 'amora-preta', nas condições de casa-de-vegetação para diferentes volumes dos recipientes avaliados. ESAL, Lavras, MG. 1991	63
15. Valores médios para MST da espécie 'amora-preta' nas condições de casa-de-vegetação, ESAL, Lavras- MG. 1991	67

LISTAS DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Poligonos representativos dos valores médios para o teor de mst	32
2. Curvas de regressão da interação dos fatores (IxSp), para o teor de hemicelulose na amostra de matéria seca das plântulas 'in vitro'	34
3. Curvas de regressão da interação dos fatores (IxSp), para o teor de celulose na amostra de mst, das plântulas 'in vitro'	36
4. Curvas de regressão da interação dos fatores (IxSp), para o teor de lignina na amostra de mst, das plântulas 'in vitro'	39
5. Curvas de regressão das interações (E X S) e (E X Sp), para o teor de MST, nas plantas aclimatadas	45
6. Curvas de regressão da interação dos fatores (E x Sp), para celulose e hemiceluloses, na amostra de amostra de mst, das plantas aclimatadas	48
7. Curvas de regressão da interação dos fatores (E:Subst.), para o teor de celulose na amostra de mst, das plantas aclimatadas	49
8. Curvas de regressão da interação dos fatores (E xS), para o teor de hemicelulose nas plantas aclimatadas	52

Figura 9. Polígonos de representação das médias	ix.
dos parâmetros: NF, AF e MST das plantas.....	56
10. Polígonos de representação das médias	
dos parâmetros: PPAV, PFRaiz e relação de	
PPAV/PFR das plantas aclimatadas	56

ABREVEATURAS USADAS

- AF - área foliar da planta
- 'C' - compostagem orgânica
- 'C.O.C.' - composto orgânico comercial
- CPD - centro de processamento de dados
- c. t. - cultura de tecidos
- CTC - capacidade de troca iônica
- DAG - departamento de agricultura
- DCA - departamento de ciências dos alimentos
- DCS - departamento de ciências do solo
- 'M' - mistura de subsolo + areia + esterco de curral
- 'MS' - meio básico de MURASHIGE & SKOOG (1962)
- MST - matéria seca total
- NF - número total de folhas
- PPAV - peso da parte aérea da planta viva
- PFR - peso fresco de raízes
- RNA - ácido ribonucleico
- DNA - ácido desoxiribonucleico
- TAL - taxa assimilatória líquida
- T - teste de Tukey a 5 % de probabilidade
- 'V' - vermiculita em flocos médios
-

1. INTRODUÇÃO

O aumento do consumo de produtos agropecuários tem como consequência a árdua necessidade de introduzir nos programas agrícolas maior eficiência dos recursos utilizados; no entanto, se faz o incremento da tecnologia para maximizar o sistema produtivo de qualquer natureza.

A cultura de tecidos vegetais caracteriza-se pela capacidade de multiplicar rapidamente as plantas e também possibilitar o desenvolvimento de quebras das "barreiras", até então tidas como entrave para os seres vivos. A aclimação constitui um passo fundamental na produção de plantas através da cultura "in vitro", uma vez que estas são obtidas em um ambiente controlado. Uma planta originada "in vitro" difere em muitos aspectos de uma produzida nas condições "in vivo". As plantas "in vitro" são como heterotróficas, devido à baixa produção fotossintética, não produzindo açúcares suficientes para se auto-sustentarem (BARRET & NELL, 1986). "

O sistema de proteção, às vezes, nem existe e os componentes da parede talvez não estejam sendo formados ou existem em pequenas quantidades, deixando as plantas altamente suscetíveis a quase todos os tipos de estresse. O sistema radicular é muito pouco e não possui as raízes axiais e, estando "in vitro", não forma simbioses com microorganismos, tais como: micorrizas,

rhizobium e outros gêneros que são específicos a cada espécie.

A aclimação de cada espécie obedece ao estágio do desenvolvimento das substâncias endógenas de sustentação e de proteção. Sendo a muda o produto final de um viveiro, traz consigo características distintas, visto que a manutenção e melhoria do sistema determinam todo o dinamismo para ter melhor qualidade dos produtos. As espécies que são fáceis de se enraizarem *in vivo*, no laboratório, não procedem assim. Nos trabalhos de SMITH; PALTA & McCOVAN (1986), estão descritas diferentes possibilidades de micropropagação com sistema ideal de transplante e critério mínimo necessário para a condução do plantio no substrato, mas, nem sempre o substrato comercializado é o ideal para a espécie em questão.

O substrato exerce influência significativa na arquitetura do sistema radicular e nas associações biológicas com o meio, formando o estado nutricional das plantas, assim como na translocação de água no sistema solo-planta-atmosfera.

Dentre os recipientes, os de plásticos ou polietileno têm sido os mais usados para aclimação, pela facilidade de se encontrarem no comércio; enquanto os de isopor são mais usados quando visam o transporte das plantas, evitando, assim, o aquecimento do sistema radicular das mesmas.

O presente trabalho teve os seguintes objetivos:

1. Estudar os parâmetros edafoclimáticos e fisiológicos relacionados com a aclimação das plântulas da cultura "in vitro".
2. Encontrar um recipiente que possibilite ótima relação de desenvolvimento do sistema radicular e da parte aérea, que possa

permitir boa morfologia e agregação das raízes axiais das espécies estudadas, até a fase de ir para o local definitivo.

3. Determinar um substrato que possibilite maior percentual de sobrevivência no transplântio; maior acúmulo de matéria seca total nas plântulas e dêem maior tolerância aos estresses.

4. Determinar a melhor idade de transplântio das plântulas para a casa-de-vegetação e a melhor época de remoção das mesmas para o local definitivo de cultivo.

5. Quantificar as substâncias endógenas que estão relacionadas com a parede celular e propiciem a maior plasticidade e correlacioná-las com a aclimatação.

6. Avaliar os parâmetros físico-químicos das plantas nas condições "in vivo", em casa-de-vegetação.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1. CONSIDERAÇÕES GERAIS

A aclimatação visa a exposição das plântulas desenvolvidas nas condições "in vitro", a sobreviver nas condições naturais, com umidade do ar reduzida, temperatura instável e suportar a transferência para o substrato. Às vezes é preciso levar as plântulas para um pré-tratamento com temperatura e umidade amenas específicas para cada espécie (ZIV & SHORT, 1986).

Nessa nova atmosfera a temperatura e umidade do ar devem ser fornecidas gradualmente para as plântulas que estavam em ambiente asséptico e controlado. AS tendas de plástico umedecidas e casa-de-vegetação com sistemas automáticos de umidade e temperatura, devem ser utilizadas para minimizarem os problemas,

juntamente com o enriquecimento de CO₂ e a suplementação luminosa, podendo, assim, melhorar o equilíbrio do ambiente, para propiciar o autotropismo das plantas (DESJARDINS et alii, 1987).

As folhas de uma planta "in vitro" sempre são delgadas, suaves, não sendo fotossinteticamente ativas, ainda não estando bem adaptadas para enfrentar as condições climáticas "in vivo". Os estômatos não operam eficientemente, causando estresse hídrico nas primeiras horas de aclimação. Os tecidos vasculares, embora conectados, parte aérea/raiz, não conduzem água o suficiente.

A parede celular é a estrutura mais dinâmica das plantas, pois sofrem mudanças profundas durante o desenvolvimento e o crescimento, também respondem à tolerância a qualquer tipo de estresse. Esta síntese subordinada a eventos modificadores, iniciados em resposta a um sinal, é fundamental para a expressão de mudança na lâmina da matriz a nível celular (BOLWELL, 1988).

A aclimação ainda é pouco estudada em seus vários aspectos e metodologias elaboradas ainda não são disponíveis para que possam ser utilizadas, de maneira simples e acessível.

2,2.PAREDE CELULAR

A parede celular é um componente fundamental de todas as células da planta com raras exceções, e seu tipo determina a forma e a textura de tecidos da planta, servindo como um suporte mecânico para os tecidos e tem um papel importante em várias atividades nos órgãos da planta, tais como: absorção, transpiração, translocação e secreção.

Sua característica é não protoplásmica, porque pode, no entanto, ser formada ou removida das atividades metabólicas do

protoplasto (ESAU, 1964). Em muitas plantas a parede vai se enrijecendo em relação a idade ou ao tipo de célula; geralmente nas plantas jovens e plântulas provenientes da cultura de tecidos, as células possuem paredes mais delgadas; quanto a estrutura complexa ser delgada ou espessa, frequentemente permite a recombinação química variando a espessura das camadas. ROLAND (1973) relata que a associação física da membrana plásmica e parede celular contribuem para proteção de injúrias que sofrem as plantas.

Por estas variações, é de interesse que se avaliem as espécies que tenham boas características de parede celular, para suportar os estresses provenientes com o período de aclimação, em seguida ao sair das condições assépticas "in vitro".

2.2.1. ESTRUTURA DA PAREDE CELULAR

Existem dois tipos de parede nas plantas superiores: parede primária e secundária, além da lamela média; a parede primária é fundamental no aumento celular; somente esta sofre alongamento, não acontecendo o mesmo com a segunda e a lamela média parece ser o local das reações.

LAMELA MÉDIA: é uma parte amorfa e opticamente inativa, sendo composta por íons de Ca combinados com compostos pécticos. Nos tecidos lenhosos a lamela está comumente lignificada. É difícil de identificar esta substância intercelular nos cortes de tecidos ao microscópio. Devido aos processos de crescimento da célula, ficam lamela e parede primária obscuras, porém nas células das traquéias, fibrilas, as quais desenvolvem tipicamente a parede secundária, aparece uma unidade de camada intercelular impregnada

com lignina, denominada lamela média, tornando-se complexa quando a primeira e segunda camadas não podem ser distinguidas; daí o termo certo é substância intercelular e não camada (ESAU, 1964).

PAREDE PRIMÁRIA: esta é a primária parede propriamente dita a ser formada numa célula desenvolvida e é a única parede em muitos tipos de células; assim sendo, contém celulose, hemiceluloses e algumas pectinas, às vezes lignificadas também (WARDROP, 1962).

Encontram-se na parede primária substâncias complexas, além de glicosídeos, oligossacarídeos, polissacarídeos de reservas, enzimas e ácidos orgânicos. Assim, pois, a ranogalacturona, arabinogalactona e as xiloglucanas, estão conectadas com proteínas por pontes covalentes, enquanto que as pontes de hidrogênio interconectam celulose e xiloglucano para a formação da parede primária, pois cerca de (20-25%) das plantas superiores sofrem um decréscimo notável no conteúdo desta durante o desenvolvimento, mostrado por (HAYASHI, 1989). O referido autor sugere que a xiloglucana funcione no alongamento e crescimento celular, devido à notável similaridade nos complexos entre xiloglucana e celulose, ainda que ambos contenham o β -1-4-glucopiranosose e α -1-4-glucano, estando presentes nessa parede formada.

Esta parede está, de certa forma, mais associada ao protoplasto nas regiões meristemáticas, atuando na divisão celular dessas zonas para crescer, e também retém o conteúdo citoplasmático durante a estação das secas ou na maturidade fisiológica da planta (ESAU, 1964).

PEREDE SECUNDÁRIA: esta surge seguindo a primária, consistindo de maior teor de celulose ligada com as hemiceluloses, sendo

bem diversificada pela deposição de lignina e outras substâncias. Não existe certa homogeneidade na estrutura das células das traquéias e fibrilas até então analisadas (ESAU, 1964).

Essas camadas, que podem ser triplas ou não, em células de *sycamore*, apresentam diferenças físico-químicas entre si, ou às vezes consistem de inversão das camadas em uma única parte da célula (ALBERSHEIM, 1975). Geralmente, a parede secundária está sobre a primária formando o incremento da área superficial, embora o aumento e crescimento de superfícies signifiquem boa característica para a parede celular; é mais certo falar em função de sustentação mecânica, pois é mais comum encontrar em tecidos com função especializada (fibrilas, traquéias e elementos vasculares); suas características são de mudanças irreversíveis, outras células em atividade como: protoplasto, xilema, parenquima, que também apresentam parede celular (ESAU, 1964).

O crescimento inicia-se na parede primária e passa a ser combinado com a parede secundária para ter aumento superficial; podendo ter ocorrido com um período de interrupção temporária, que é possível enrijecer, e ocorrendo também os dois tipos de crescimento combinados; daí a formação de estruturas complexas; e sobre essa complexidade há várias teorias (TOURINO, 1990).

ALBERSHEIM et alii (1973), que foram os primeiros a introduzir o mais completo modelo da estrutura da parede primária, trabalhando com célula de *sycamore* (*Acer pseudoplatanus*) desenvolvida, puderam de observar que a parede é constituída por polímeros de unidade de heptassacarídeos repetidos, consistindo de 4 resíduos de β -1-4-glicose ligada aos 3 resíduos de xilose

terminal, ou seja, a xilose está glicosidicamente ligada ao carbono 6 do resíduo 3-glicosil, e as xiloglucanas estão ligadas covalentemente com os polissacarídeos pécticos, e estando ligados de forma não covalente com as fibrilas celulósicas. As mudanças que aparecem podem ser reversíveis ou irreversíveis, dependendo da maneira e local, pois o ressecamento nos tecidos aeríferos pode levar a remoção de alguma substância química de outra região.

Referindo-se às pesquisas tentando relacionar o consumo de xiloglucano, que funcione no alongamento e crescimento celular, embora seja notável a similaridade entre xiloglucano e celulose, pois ambos contêm o β -1-4-glucopiranose e α -1-4-glucano.

A xiloglucana analisada nas paredes celulares de sementes das plantas dicotiledôneas mostrou um complexo de polissacarídeos: D?-glucose, D-xilose e D-galactose na razão molar de 4:3:1. Todos estão ligados ao β -1-4-glucano com os resíduos de α -xilossil na posição 6 do resíduo de β -glicosil e na posição final da galactose; desaparecem durante a germinação, sendo utilizado pelo embrião (BURKE, 1984).

2.2.2. COMPOSIÇÃO QUÍMICA DA PAREDE CELULAR

Os componentes fundamentais da parede estão associados a várias substâncias, na maioria das vezes são compostos carboidratados, e, às vezes, a parede de tecidos lenhosos está impregnadas de lignina. Os carboidratos mais comuns da constituição da parede são os que estão no sistema de sustentação mecânica das plantas: celulose, hemiceluloses, compostos pécticos, polissacarídeo e outros compostos menos frequentes, como: cutina, suberina

e ceras, ocorrendo variações no conteúdo, localidade e tipo de tecidos; são mais abundantes nas partes periféricas das plantas. Vários outros componentes, como os extratos orgânicos e compostos minerais, podem estar presentes, mas não fazem parte essencial da estrutura da parede (KIMO, 1986).

Encontram-se na parede substâncias complexas, além de glicosídios, oligossacarídeos, polissacarídeos de reservas, proteínas, enzimas e ácidos orgânicos.

2.2.2.1. CELULOSE

É um composto polissacarídeo cristalino relativamente hidrofílico, formado por resíduos de glicose ligados por pontes de oxigênio na posição β -1,4 do resíduo glicosídeo (FREY-WISSLING, 1959). Existem algumas publicações sobre a estrutura e comportamento da celulose nas paredes das plantas, mas o assunto é ainda complexo. Desde os trabalhos de ALBERSHEIM et alii (1973), com as células de Sycamore, ficou constatado que a ranogalacturona, arabinogalactona, xiloglucano e hidropocolina estão conectadas com as proteínas por pontes covalentes, enquanto que as pontes de hidrogênio interconectam celulose com xiloglucano.

Se a atividade da α -xilosidade pode atacar um xiloglucano, o resultado da hidrólise pode ser uma celulose, daí o fato de se achar que o xiloglucano seja um precursor da celulose, a qual nas fontes naturais nunca ocorre isolada, estando associada com inúmeros polissacarídeos (HAYASHI, 1989).

Na degradação do xiloglucano com ácidos e auxinas ocorre uma notável similaridade com a celulose, pois o xiloglucano analisado nas paredes celulares de sementes de planta dicotiledonares

mostrou um complexo de polissacarídeos no embrião (BURKE, 1984).

2.2.2.2. HEMICELULOSES

As hemiceluloses são grupos de polissacarídeos heterogêneos às vezes solúveis como as xilanas, mananas, galactonas e glucanas. Algumas substâncias pécticas ligadas a hemiceluloses passam a ter solubilidade diferente; destacam-se três grupos: protopectina, pectina e ácido péctico e os polímeros do ácido urônico.

Os compostos pécticos têm propriedades de manutenção no estado de alta hidratação na parede de células jovens. Estes compostos aparecem na lamela média e também estão associados à celulose nas camadas de parede primária (ESAU, 1964).

As hemiceluloses são o segundo carboidrato mais abundante encontrado nos vegetais, cerca de até 40 % do material da parede celular, agindo como substância de sustentação e reserva, na maioria das vezes são constituídos por 2 a 4 e, raramente, 5 a 6 resíduos de açúcares diferentes, constituindo as pentoses (xiloses e arabinoses), hexoses (glucose, manose e galactose) e ácidos urônicos (WHISTLER & RICHARDS, 1970).

A parede primária de coleoptilo do arroz é principalmente composta de α -celulose e hemicelulose, as quais são constituídas de arabinoxilano, β -(1-3,1-4)-glucano e xiloglucano (SHIBUYA & IWASAKI, 1985). Os trabalhos de AKIYAMA & KATO (1982), mostram a degradação parcial das β -glucanas, que se tornam as hemiceluloses solúvel em água, e a dipolimerização da xiloglucana deixa a hemicelulose insolúvel em água.

Segundo BAUER et alii (1973), observaram que a parede primária das dicotiledôneas tem mais hemiceluloses, sendo composta

de xiloglucanas neutras e arabinoxilanas ácidas nas monocotiledôneas. Algumas hemiceluloses estão ligadas ao 'H' da celulose, porém o agente, que é capaz de quebrar essa ligação, solubilizando um pequeno percentual da hemicelulose da parede, é o 4-metil-morfoline-N-oxidehidrase a 120°C, é raro; outros agentes que conseguem solubilizar a hemicelulose, (FRY, 1986).

2.2.2.3. LIGNINA

A lignina é o maior componente da parede celular em plantas anhosas e gramíneas, compreendendo de 15 - 25% do material da parede. A estrutura consiste em uma variedade de unidades monoméricas de fenyl propano ligadas junto ao carbono-carbono em outras ligações (GOULD, 1982).

Está a lignina presente nas três camadas da parede, embora ocorra lignificação das substâncias lenhosas e parede primária antes da formação da parede seguinte. A lignificação na parede primária está adjacente à lamela média resultando em engrossamento dessa região e, na parede secundária, a lignificação vai se formando com a síntese e acúmulo de celulose e outros polissacarídeos (FREY-WYSSLING, 1959). Nos tecidos lenhosos, tanto lamela média e parede primária, são mais lignificadas que a parede secundária (BURKE et alii, 1984).

UCHIYAMA et alii (1983) relatam que através da cultura de tecidos, com as técnicas usadas para interligar resistências de plantas aos patógenos, obtiveram várias respostas trabalhando com calos de arroz após inoculação com vários fungos patogênicos e não-patogênicos. Um aumento na atividade das peroxidases e fenilalanina amonialiase, provoca formação de lignina, a qual é ati-

va "barreira" na defesa da planta; as mudanças qualitativas nos fenóis livres em calos de arroz, quanto a uma resposta à infecção de fungos, foi de raro estabelecimento; e os metabólitos secundários das células cultivadas, em meio infestado, são frequentemente diferentes daquelas plantas das quais foram originadas. As injúrias mecânicas também afetam o metabolismo fenilpropanóide de tecido vegetal; normalmente este metabolismo conduz a formação de ácido cinâmico, que é um precursor de compostos encontrados na lignina e flavonoides (VANICE, 1980).

Na relação lignina/suberina, em suas deposições, encontrou-se diferenças significativas quando se tratou de tecidos de pêsego, maçã e nectarina (BIGGS, 1986). Ligações covalentes podem formar-se entre lignina e hemiceluloses. As ligninas são sempre associadas a outras substâncias como: os polissacarídeos e proteínas, devido à lignina ter vários tipos de grupo funcional; isto dificulta as análises de mensuramento qualitativo (VANICE, 1980). A lignina confere maior resistência à parede deixando-a com maior força compressiva. As células da parede lignificada dificultam a dissolução de enzimas de fungos, se atacadas.

A indução de folhas de trigo para lignificação faz resistir a degradação enzimática. A formação de lignina é um mecanismo de resistência da planta às doenças, sendo a lignina uma das mais abundantes em cada um bíopolímero, e um dos mais resistentes à degradação dos microorganismos, atuando como resposta à penetração destes e danos mecânicos sofridos (MATSUMOTO & ASADA, 1976).

As fitoalexinas podem ser induzidas por elicitores abióticos, como foi verificado em folhas de trigo tratadas com substân-

cias elicitoras de fitoalexinas; além da lignina, a parede pode conter cutina e a suberina, tendo os fatores ambientais e de desenvolvimento, quais podem levar a modificações FRY, (1986).

2.2.2.4. POLÍMEROS DA MATRIZ

O desenvolvimento da parede celular das plantas é como uma estrutura bifásica, consistindo de um esqueleto rígido de microfibrilas de celulose junto com uma matrix gel. A matriz é formada por vários polissacarídeos não-celulósicos e glicoproteínas; são encontrados associados, tais como: amido, pectina, lignina, celulose e hemicelulose, através da ligação (1-4), estes polímeros, após extraídos da parede, são solúveis, porque são: poli-hidroxi, moléculas hidrofílicas, polímeros maiores, e nas plantas vivas são hidratados corretamente; assim, o fato da matriz da parede ser insolúvel na água, é muito coerente. Se esses polímeros interligados à parede são insolúveis, estes inter-polímeros estão ligados em elo cruzados, (LAMPORT, 1970).

2.2.3. OUTRAS SUBSTÂNCIAS DA PAREDE CELULAR

Cutinas, Suberinas e Ceras; são substâncias importantes que pertencem à parede celular da planta. As ceras são fáceis de serem removidas com uso de solventes fortes; a cutina e a suberina são solúveis nos ácidos fortes também. A Suberina ocorre associada com a celulose nas fibrilas do cortex e na epiderme. A Cutina forma uma camada contínua ligada com a celulose - cutícula por toda superfície epidérmica de toda parte aérea. As Ceras associadas com suberinas e cutinas formam uma superfície que protege as plantas da perda de água excessiva e controla a difusão

dos gases; a deposição dessa camada na epiderme é responsável pela defesa nos frutos, folhas e caules herbáceos (ESAU, 1964).

2.2.4. PAREDE CELULAR DA EPIDERME

Pela posição periférica na planta, a natureza química das substâncias da epiderme são consideradas efetivas na transpiração e proteção das folhas e dá consistência à lamina foliar; um relativo enrijecimento por certo verniz celular pode proteger a penetração de parasitas no tecido e certas injúrias mecânicas. A peroxidase pode ser a controladora das reações de crescimento, pois sua atividade na parede celular está na zona de alongamento da epiderme (MASUDA & YAMAMOTO, 1980). Além das enzimas que usualmente tomam parte no processo de respiração, há várias outras de oxidação-redução, que estão envolvidas no sistema oxidativos; (polifenoloxidasas, peroxidases e as catalase); os processos enzimáticos são observados em tecidos lesados, convertendo fenóis em quinonas BIDWELL, (1974).

As camadas da parede da epiderme também apresentam cutina ligada à celulose. Esta parede da epiderme frequentemente mostra degradação de celulose pura de um lado da camada e sofre variação dos compostos pectícos e substâncias oleosas para surgir uma camada de cutícula, livre de celulose e pectinas ESAU, (1964).

Há interesse em investigar a localização citoquímica da peroxidase na epiderme, para caracterizá-la. Estas enzimas são acionadas somente se ocorrer peróxido de hidrogênio na parede primária, hipoteticamente. O contraste à biossíntese de H_2O_2 , na lignificação da parede, tem sido pesquisado há algum tempo e parece ter dois caminhos: com NADH e com NAD, sendo que o malato

pode ser usado no lugar do NADH para produzir H₂O₂ (FRY, 1986).

Os polissacarídeos ao se hidrolizarem, produzem: celulose e liberam B-D-glucose; e as hemiceluloses liberam: grupos acetil, ácido urônico, pentoses e hexoses (KIMO, 1986).

O aumento da deposição de calose na epiderme está envolvido com os polissacarídeos da planta para responder pela maior tolerância a qualquer estresse que possa ocorrer. WALLNER, (1986).

2.3. RECIPIENTES

SIMÕES (1978), citado por CARVALHO (1989), relata que o sistema de mudas embaladas é o mais indicado para regiões tropicais, pois assegura alto índice de pegamento no plantio. Comparando o custo de plantio de Eucaliptus no Hawaí, entre sistema "tubete" e raiz nua, constatou-se que mudas embaladas custam mais na produção e transporte, mas, no custo total no final do plantio, com o uso de tubetes resultou numa economia substancial, mostrando que a taxa de sobrevivência no sistema de tubetes rígidos chegou a 91 %, enquanto que, no de raiz nua, foi de somente 56%.

Os recipientes têm que proteger as raízes contra danos mecânicos e contra a desidratação; devem promover boa arquitetura do sistema radicular e ajudar no estágio inicial das radículas (ELLAM & KOELLING, 1974). SCHIDT VOGT (1984 b) relata que a influência do recipiente é considerada, pois, como o crescimento em espiral das raízes continua na fase de campo, o que pode proporcionar uma baixa estabilidade das futuras plantas, ocorrendo maior tombamento. Alguns autores mostram que trabalhar com recipientes de polietileno é mais fácil; para o transporte,

são materiais leves; sem resíduos, dando maior rendimento no plantio, além de mais econômico, citado por CARVALHO, (1989)

2.4. SUBSTRATOS

O substrato deve ser de baixa densidade, rico em nutrientes, composição química equilibrada e física uniforme, elevada CTC, alta capacidade de retenção de água, aeração e drenagem, boa coesão entre as partículas ou aderência junto às raízes e ser preferencialmente estéril às plantas daninhas e com boa flora bacteriana (COUTINHO & CARVALHO, 1983).

KOZLOWSKI, (1986) relata que a deficiência de oxigênio resulta na paralização do crescimento, com injúrias e morte das raízes. E CAMPINHOS Jr. et alii (1983), que ressaltam-se por outro lado o pH baixo é prejudicial, por reduzir a atividade bacteriana e actinomicetos, a formação de nitratos e sulfatos diminui o Ca, Mg e K, insolubiliza o P, B, Cu e Zn; porém, provoca o aparecimento do Al tóxico; por outro lado, o pH elevado também gera deficiências, sendo melhor em torno de 6.0.

AGUIAR & MOMOGIOS (1988), trabalhando com substratos à base de vermiculita, para produção de mudas de espécies florestas, em bandeja de isopor, observaram uma péssima agregação das raízes e o substrato; ainda que ocorra a poda das raízes pelo ar, logo ao sair do recipiente, que é próprio desse sistema de produção de mudas, não promove o crescimento das raízes, citado por CARVALHO (1989). Mas, CAMPINHOS Jr. et alii (1984), testando os seguintes substratos: turfa, vermiculita, serragem e suas combinações, como meio de crescimento de mudas de *Eucaliptus* & *Pinus* em tubetes, concluíram que o meio obtido com a mistura entre turfa e vermi-

culita, na proporção de 2:1, foi o melhor para mudas e sementes, enquanto para estacas o melhor foi a vermiculita pura. Uma mistura de esfagno e vermiculita, na proporção de 1:1, foi o meio de crescimento que propiciou bom desenvolvimento para plantas de eucaliptus, utilizando sistema "dibbling-tube" no Hawaí. Esses autores salientam que o substrato terra é bastante denso, dificultando as operações de transporte e manuseio no transplante.

ELLAM & KOELLING, (1974) avaliaram as funções biológicas dos substratos para melhor interagirem com as raízes, nutrindo-as. Concluíram que o crescimento do sistema radicular é função do solo, devido ao requerimento de energia das células das raízes, as quais o fazem por meio da respiração, junto ao oxigênio.

2.5. FATORES QUE INTERFEREM NA ACLIMATAÇÃO

A distribuição das espécies não ocorre igualmente na superfície terrestre, sendo encontradas naqueles lugares onde há condições climáticas que permitam a sobrevivência e perpetuação da espécie, o dinamismo de melhoristas e fisiologistas para modificar as informações genética e induzir a síntese de substâncias endógenas responsáveis pela adaptação das plantas cultivadas, tem contribuído para maior proteção e tolerância das plantas às condições de estresses (DANSERAU, 1973).

Durante a aclimação de plantas de trigo a frio, ocorreu aumento do teor de proteínas e conteúdo de RNA, que foram acompanhados pelo aumento de DNA e da atividade da RNAPolimerase (SARHAN & CHEVRIER, 1985).

As espécies sofrem barreiras abióticas, quanto bióticas e edáficas, sendo que a vida tende para um incessante aprimoramento

da comunidade se adaptar ao meio ambiente (ARIZA, 1967). O conjunto de certas modificações internas, provocadas por causas externas, pode gerar variedades ou raças, que perpetuam novas espécies (GARNIER, 1986). Os resultados de ASTON & LANGHANS (1987), mostraram algumas espécies, que são fáceis de se enraizarem "in vivo", mas no laboratório, às vezes, não procedem assim.

Segundo VIANA (1981), algumas práticas, como por exemplo, a proteção contra a plena insolação e deficits hídricos, auxiliam na aclimatação. É preciso também que a plântula seja sadia e com um desenvolvimento normal parte aérea e do sistema radicular. Nos seus trabalhos com mudas de café foram fundamentais as condições de meia sombra para alcançar um melhor desenvolvimento inicial.

BARRET & NELL, (1986), trabalhando com podas das folhas, verificaram que acima de um certo índice de área foliar, ocorre um decréscimo na taxa de crescimento da comunidade, causado pela diminuição da taxa asssimilatória líquida (TAL), talvez provocado pelo auto sombreamento. VIANA (1981), observou que a eliminação das folhas de mudas, por ocasião do transplante para o campo, causou diminuição no desenvolvimento.

2.5.1. FATORES AMBIENTAIS E HEREDITÁRIOS

É importante conhecer a ação do meio sobre qualquer parâmetro em estudo, pois há inúmeras pronunciações sobre as interações dos seres com o meio onde estão. Segundo STTEBINS, (1970), todos os seres vivos possuem a capacidade de interagir e ajustar-se fisiologicamente para responder às flutuações do ambiente, podendo, assim, enfrentar os fatores adversos do clima e as mudanças que venham a ocorrer no ambiente. Em alfalfa

Saranac, mudanças nas bases metabólicas e fisiológicas são conhecidas durante a aclimatação a frio, a exemplo de mudanças de 100 % no teor de proteínas e conteúdo de RNA total, elevando a sobrevivência de 6% para 40%, e os tratamentos a -10°C ocorreu aumento na taxa de incorporação de metionina [35S] e outros precursores (MOHAPATRA et alii, 1987).

BARRET & NELL (1986), trabalhando com *Poinsettia*, notaram que a abscisão das folhas resulta de secagem das plantas ao florescer e o potencial hídrico passa de $-1,3$ para $-1,1$ mPa, e as plantas tornam-se mais susceptíveis a qualquer estresse, após iniciação dos dias curtos. As plantas, quando expostas à seca, de maneira geral, os estômatos se fecham. Isto ocorre quando a pressão está em torno de $-0,8$ mPa e completa o fechamento quando o potencial hídrico chega a $-1,2$ a $-1,4$ mPa. Quando o potencial de pressão no xilema for superior ao das folhas, a abscisão destas ocorre ao chegar em torno de $-1,7$ mPa.

A aclimatação a frio (2°C) em *Pyrus sp* causou mudanças nos polissacarídeos solúveis extracelulares e aumentou a deposição de calose na parede celular. A localização aparente da calose no plasmalema e parede celular nas células de *Pyrus sp.*, é consistente com a idéia que poderia estabilizar esta região (WALLNER, 1986). Plantas jovens de tomate são sensíveis ao frio noturno, e requerem uma proteção para manter a temperatura entre $5 - 15^{\circ}\text{C}$. As plantas de verão são sensíveis ao frio e inadequadas a aclimatar-se, especialmente sendo planta herbácea. Frequentemente, no outono, varia a faixa de estresse à aclimatação, devido à queda de temperatura (SHEN & LI, 1983),

As adaptações são simples se ocorrem em circunstâncias ambientais novas, porém, mediante alterações sistemáticas da frequência dos genes; se tornam complexas quando os movimentos genéticos decorrem de forças que fazem os movimentos adaptativos, como a base genética que os sustentam (HANFORD, 1973). A genética entra na adaptação normalmente na evolução para adaptar-se, pela seleção, às condições ambientais oferecidas pelo local flutuante (FORD, 1975). Assim, uma espécie pode ter o comportamento morfofisiológico responsável pela incapacidade de seguir, detalhadamente, as situações ecológicas às quais estão expostas; ao contrário, poderá ser forçada a responder-lhes, passando abruptamente de uma para a outra das séries limitadas de sistemas genéticos equilibrados, que lhe ajustam as condições encontradas num local (FORD, 1980).

2.5.2. INTERAÇÕES ECOLÓGICAS

É importante conhecer a ação do meio sobre qualquer parâmetro em estudo, pois este está estritamente ligado às populações. A importância da variabilidade, que é típica de cada indivíduo, serve para ajustá-lo às novas condições impostas, uma vez que toda variabilidade sofrida é resultante da variação ambiental e genética, que assegura às plantas as mudanças em suas estruturas e funções orgânicas, para suportar alterações e conseguir manter-se no ambiente (ARIZA, 1967).

As plantas estão providas de diferentes recursos para combinar a sua existência ao meio ambiente no qual vivem. Possuem aparatos no caule, folhas e raízes para evitarem o calor exces-

sivo, excesso ou carência de água, quedas abruptas da temperatura, ventos, substâncias tóxicas, sais indesejáveis e outros, constituindo-se em contínuo objeto de pesquisa dos processos que conduzem à tal adaptação (WALLACE, 1975). Observações em folhas de cravo e couve-flor permitiram conhecer que, quando as plântulas são transplantadas, devem ser removidas para umidade alta, pois elas não têm todas as folhas formadas e as já formadas são novas e muito sensíveis, faltando, principalmente, as estruturas epicuticulares. Há um declínio da condutância estomática nas plantas com o decréscimo do potencial hídrico foliar e com o aumento constante da temperatura das folhas, segundo GROUT, ASTON & MILLAN (1985).

As plantas de *Rubus idaeus* cresceram mais quando inoculadas com fungos micorrízicos *Glomus* sp. (MARANDI, 1986), citado por PIERIK, (1987). O mesmo aconteceu nos trabalhos de FREITAS et alii (1980), que observaram melhora nas condições de crescimento das plantas de *Erythrina falcata*, inoculadas com *Rhizobium* spp. Os substratos onde as espécies se encontram permitem o desenvolvimento das mesmas, não sendo, porém, eficientes, para as plantas "ex vitro"; novos substratos podem ser preparados para melhorar os resultados da propagação, especialmente quando se usam salas equipadas (ZIV & SHORT 1983).

Quando as plantas são transferidas para local sem proteção, é necessário manter proteção contra plena insolação e deficit hídrico; faz-se necessário manter água nas raízes, a umidade do ar perto de 100%, podendo, com isso, evitar injúrias. Para aclimatar-se, o indivíduo recombina seu próprio nicho, que nada mais é que adaptar-se aos elementos comuns, pela evolução que conduz ao

que adaptar-se aos elementos comuns, pela evolução que conduz ao seu próprio desenvolvimento (GOMIDE & ZAGO, 1980).

As semelhanças físico-morfológicas que existem entre espécies distantes se especificam pela existência de elementos comuns no habitat onde as formas se encontram. Para fazer a transferência das plantas, faz-se necessário que as mesmas estejam sadias e não demonstrem nenhum sintoma de deficiência, bem como apresentem bom desenvolvimento da parte aérea e sistema radicular (VIANA 1981). Conforme os resultados dos trabalhos de DESJARDINS et alii (1987), na suplementação luminosa não ocorre interação com CO₂, mas o maior acúmulo de MS nas plantas se dá a partir dos 20 aos 30 dias após transferência para o substrato e levados para casa-de-vegetação, quando se torna difícil a fixação de CO₂ para a planta fazer autotrofismo, não ocorrendo melhora significativa durante o período de aclimação, nos primeiros dias seguintes ao transplântio. *

As mudanças anatômicas, que variam paralelamente entre as folhas à sombra e as expostas ao sol, em plantas cultivadas 'in vitro' e\ou em casa-de-vegetação, podem ser consequência do confinamento, alta umidade, baixa intensidade luminosa no local de cultivo, além de sua condição nutricional heterotrófica que leva as plantas à baixa capacidade fotossintética, provocando modificações nas folhas. Com isto apareceram as seguintes modificações anatômicas nas plantas microcultivadas: Redução na divisão celular (embora as folhas tenham células de tamanho reduzido); os espaços ocupados pelos tecidos vasculares no interior dos pecíolos são reduzidos significativamente e foi mais intensa a

camada palissádica, indicando que a estrutura celular também foi alterada (SMITH; PALTA & MCCOY, 1986).

camada palisádica, indicando que a diferença celular também foi alterada, (SMITH; PALTA & McCOWN, 1986).

2.5.3. FATORES BIOQUÍMICOS E FISIOLÓGICOS

Nas espécies adaptadas, todos os seus seres possuem a capacidade de ajustar-se fisiologicamente para substituir as flutuações imediatas do ambiente. O desdobramento das reservas armazenadas nos órgãos é importante para atender uma demanda metabólica, durante um estresse, ou no período de aclimação (SHIMOYA et alii, 1971), citado por SOUZA (1990).

Com a deposição de calose na parede celular de *Pirus* sp., foi notado por WALLNER et alii (1986), o fato de que havia menor liberação de polissacarídeos neutros no meio de cultivo, como: manose, xilose, galactose, sendo em torno de 80% dessas frações de arabinose, manose e xilose, outras frações de menor percentual. A baixa temperatura prejudicou o acúmulo extracelular de polissacarídeos pécticos de maior peso molecular.

As plantas "ex vitro" dependem das reservas contidas nas raízes e brotações para se manterem durante os primeiros dias da aclimação, até que a produtividade das folhas novas seja utilizada. Os resultados obtidos por JAFFE et alii (1984), indicam que a deposição de calose é um elemento crítico do mecanismo de diferentes estresses, respondendo ao aumento da resistência. Outros estudos demonstram que a parede celular com seus polissacarídeos está envolvida na resposta das plantas a qualquer estresse sofrido citados por (WALLNER et alii, 1986).

3. MATERIAIS e MÉTODOS

O experimento foi instalado e conduzido na casa-de-aclimação do laboratório de cultura de tecidos da ESAL, com aproximadamente 90% de umidade do ar, temperatura noturna não menor que 15°C e diurna em torno de 30°C, com nebulização, irradiação natural e ventilação forçada. A região apresenta um clima do tipo Cwb, de acordo com a classificação de KOPPEN.

3.1 ESPÉCIES UTILIZADAS

As espécies escolhidas para desenvolver o referido trabalho saíram do acervo de plantas mantidas "in vitro" do laboratório de cultura de tecidos da ESAL. As espécies foram classificadas pelo grau de facilidade de aclimatar-se, sendo que: - "Amora-preta" (*Rubus idaeus*), por ser bastante rústica e de fácil aclimação recebeu nota (A). - "Batata-doce" (*Ipomoea batatas*), por ser rústica e de boa aclimação recebeu nota (A) também. - "Mandioca" (*Manihot sculentum*) cv "mantiqueira", com grau médio de aclimação, nota (B). - "Pau-santo" (*Kilmeyera coreacea*); considerada planta modificada quando desenvolvida "in vitro", e bem difícil de aclimatar-se, nota (C), segundo SILVA et alii (1989).

3.2. OBTENÇÃO DAS PLÂNTULAS

As plântulas foram provenientes de explantes de matrizes mantidas em condições artificiais, no laboratório de cultura de tecidos da ESAL. Os explantes (2 por tubo) foram desenvolvidos em tubos lacrados com parafilm, contendo meio básico de "MS" para as espécies "amora" e "batata-doce", e acrescidos do regulador de

crescimento benziloaminopurina (BAP), - 4 mg/l, para as espécies 'mandioca' e 'pau-santo'. Os tubos foram mantidos em sala de crescimento com 25° C de temperatura e 2200 LUX aproximadamente, até enraizamento dos explantes, sendo descartados os tubos em que os dois explantes não enraizaram no mesmo período.

3.3. DESCRIÇÃO DOS TRATAMENTOS

Quadro 1.

RECIPIENTES	SUBSTRATO	IDADE	ESPÉCIE	ÉPOCA
25 ml	(M) MISTURA	0 - 3 DIAS	AMORA	I
50 ml	(C) COMPOSTAGEM	7 - 10 "	BATATA	II
100 ml	(COC) C.COMERCIAL	15 - 18 "	MANDIOCA	III
200 ml	(V) VERMICULITA	---	PAU-SANTO	IV

a. Tamanho e forma dos recipientes: foram usadas bandejas de isopor (40x40x12 cm), subdivididas de forma a deixar 25 ml de volume do substrato para cada planta e bandejas de (60x40x12 cm), com espaço de 50 ml e copos de plástico de 100 e 200 ml.

b. Substratos: foram usados quatro tipos diferentes de substratos previamente qualificados e de grande uso tanto nas pesquisas como pelos produtores: (M) mistura tradicional de solos + areia + esterco de curral (1:1:2), adubado com a formula 4-14-8 (1 ton/ha). (C) compostagem orgânica produzida no DAG, ESAL, segundo metodologia de (GOMES & PACHECO, 1988). (COC) composto orgânico comercial, sem especificação. (V) substrato mineral, vermiculita em flocos médios, que é usado pela sua leveza, sempre pura, insolúvel em água e solventes orgânicos; não são tóxicas às plantas e apresenta alta capacidade de retenção de água, que é uma propriedade dos outros também.

c. Idade de Enraizamento: observou-se a emergência de raízes nos explantes, e, a partir daí, foram estabelecidas as

idades para transferência das plantas para serem pré-aclimatadas em: Idade 1: 2-3 dias, Idade 2: 8 - 11 dias e idade 3: 15 - 18 dias após emergência da primeira raiz.

No quadro 1 estão os resultados das análises dos substratos.

QUADRO 2. Análises físico-químicas dos substratos. ESAL, Lavras/MG - 1991.

Parametros\SUBST.	MISTURA	COMPOSTAGEM	COC	VERMICULITA
pH (H2O)	7,3 AIF	7,1 AIF	6,8	8,0
P (ppm)	29 A	504 A	-	0,08 = oxidos
K (ppm)	156 A	156 A	-	1,28
N %	0,61 M	0,70 M	-	7,33
Ca..(mg\100 cc)..	3,30 M	9,5 A	-	-
Mg	1,1 A	6,5 A	-	24,2
Al	0,0 B	0,0 B	-	9,58
H + Al	1,2 B	1,3 B	-	-
Soma	4,8 M	16,4 A	-	-
t	4,8 M	16,4 A	-	-
T	6,0 M	17,7 A	-	-
m (%)	0 B	0 B	-	47,0
V (%)	80 A	93 MA	-	95 MA
Carbono.(%)	1,8 A	22,7 A	-	-
M. Org..(%)	3,1 A	39,1 A	-	-
Zn.(ppm)	2,9	19,2	-	-
Cu.(ppm)	2,6	2,0	-	-
Fe.(ppm)	75,5	26,3	-	4,25
Mn.(ppb)	54,1	53,0	-	-
B.	0,44	0,14	-	-
S.	5,31	18,32	-	-
Na				1,27
Ti.				0,55
Si.(%)				43,27
				K20 sol.(H2O).....0.03

1/ Análises realizadas no lab. de ciências do solo - ESAL.

2/ legenda: A: alto B: baixo M: médio

d. Época de coletas: as épocas foram estabelecidas quando as plantas estavam em pleno desenvolvimento, sem apresentar qualquer sintoma de deficiência, o que se deu aos 20 dias pós transplântio, sendo considerada a primeira época de coletas; as demais se seguiram de 5 em 5 dias, constituindo-se em 4 épocas de coletas (20; 25; 30; 35 dias)

3.4. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

O delineamento escolhido foi inteiramente ao acaso num fatorial de $(4)3 \times 3$ em 3 repetições, num modelo "split-plot" no tempo, sendo que a subparcela ficou com as épocas de coleta, num total de 192 tratamentos, 576 unidades experimentais. A parcela foi constituída de 3 vasos com uma planta em cada, somando um total de 1578 plantas, acrescidas de 5% para suprir as perdas.

3.5. INSTALAÇÃO, CONDUÇÃO E COLETAS.

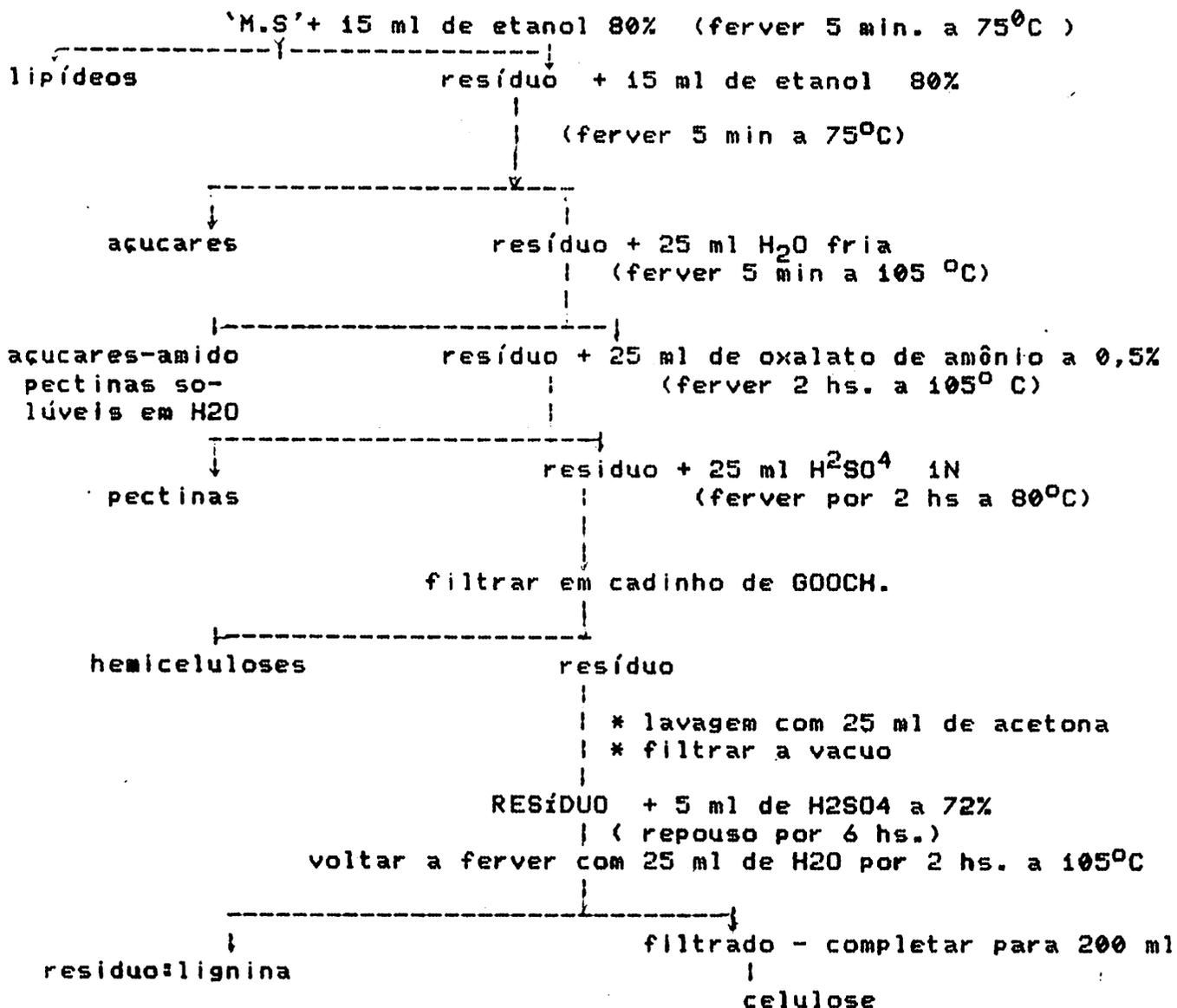
- O parafilme dos tubos foi retirado e as plântulas foram deixadas por 48 horas em local sombreado e nas condições naturais; para uma pré-aclimatação, em seguida as plântulas já pré-aclimatadas foram lavadas em água corrente e transferidas para o substrato. Não foi acrescido nenhum tratamento adicional, até se procederem as coletas para as devidas avaliações. As plantas foram coletadas pela manhã e em seguida levadas para o laboratório para serem submetidas às análises físicas: para a área foliar usou-se o "integrador eletrônico" como padrão de uma única amostra; que se constitui de 10 folhas intactas e daí se determinou o valor real da área foliar, pela fórmula: (valor real/valor aproximado); determinou o fator de correção (K) para as espécies. O valor obtido foi de 0.956 ("amora") e 0.687 para "batata-doce".

Para as demais amostras, a área foliar foi determinada com uso de um compasso e réguas milimétricas, medindo-se a maior largura e maior comprimento, calculando-se o produto e usando o fator (K) para as correções ($AF = C \times L \times k$), segundo método de (KVET & MARSHALL, 1967). Em seguida o material foi lavado em água corrente e enxaguado em água destilada, secado à sombra pelo ar

depois, depois então, levado à estufa de 75 °C, por 72 horas.

Resumo do esquema das extrações

AMOSTRA DE MATERIA SECA (50 mg)



- Após secagem, o material foi desitegrado em moinho tipo 'WILEY' com peneira de 20 "mesh" e após foi guardado em frascos tampados, até proceder-se às análises químicas: de celulose, hemiceluloses e lignina, no laboratório do 'DCA' da ESAL. A extração foi feita de acordo com a metodologia descrita por BAILEY (1962) e o

doseamento pelo método "fenol/sulfúrico" de DUBOIS et alii (1956), conforme esquema ilustrado na página anterior.

3.6. ANÁLISES DOS DADOS

Os dados foram processados pelo programa AVBRPOOL, no CPD da ESAL, baseados nos métodos de SNEDECOR e SPEEL. Os dados referentes a NF, obtidos por contagem, foram transformados para \sqrt{X} .

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. TEORES BIOQUÍMICOS DAS PLÂNTULAS "IN VITRO"

A avaliação dos compostos estruturais foi de acordo com os relatos de BOOYSEN & NELSON (1979), que ao pesquisarem as reservas de várias plantas, concluíram que o percentual de carboidratos solúveis não é a melhor base para avaliar o vigor e o nível de energia das reservas. Isso porque uma pequena massa com alta concentração pode conter menor quantidade que uma grande massa com baixa concentração relativa, e os processos de respiração fazem constante oxidação desses carboidratos.

Quadro 3. Resumo da ANAVA referente aos parâmetros: teores de celulose, hemiceluloses e lignina na amostra de MS e o teor de MST das espécies nas condições "in vitro". ESAL, LAVRAS, MG.1991.

F.	V.	Gl.	Quadrados médios			
			MS	celulose	hemicelulose	lignina
espécie	03	768,66*	5,48**	1,182**	5,040*	
idade	02	220,84ns	0,58*	0,106ns	3,57ns	
Ix sp	06	181,01ns	0,84*	0,39*	3,87*	
resíduo	12	114,45	0,039	0,133	1,131	

* F significativo 5% e ** F significativo 1% de probabilidade.

No quadro 3 estão apresentados os resultados das análises de variância dos parâmetros bioquímicos nas plântulas: teores de

MST, de celulose, de hemicelulose e de lignina, em 3 idades de enraizamento 'in vitro' e em meio de cultivo específico a cada uma das seguintes espécies: *Rubus idaeus*, *Ipomoea batatas*, *Manihot esculentus* e *Kilmeyera coreacea*.

4.1.1. TEOR DE MATÉRIA SECA NAS PLÂNTULAS 'IN VITRO'

Pelo quadro 3, observa-se que o percentual de MST obteve diferenças significativas apenas para espécies. Verifica-se que estas possuem comportamento próprios e distintos no desenvolvimento quando no interior dos tubos. O fator espécie é de importância maior para os trabalhos com a aclimação, pois, as informações contidas em uma espécie respondem de maneira diferente de outras, no período em que as mesmas permanecem 'in vitro'.

Não houve diferenças para idade de enraizamento das plântulas e a interação entre ambos, quanto ao percentual de MST contido nas plântulas 'in vitro'. Como o fator idade de enraizamento 'in vitro', não diferiu pelo teste de F a 5% entre as 4 espécies avaliadas nos níveis estabelecidos, então a figura 1 mostra os pontos dos valores médios do percentual de MST das espécies, embora que a diferença fosse pequena, parece ter apresentado modificações do metabolismo com as condições.

Quadro 4. Valores médios para os teores de MST, celulose, hemicelulose e lignina referentes as espécies avaliadas, no período de 18 dias após o enraizamento das plântulas 'in vitro'. ESAL, Lavras, MG. 1991.

ESPÉCIE	% MST	% HEMICELULOSE	% CELULOSE	% LIGNINA
Pau-santo (K)	10,1 B	9.97 AB	7,20 C	8,67 C
Mandioca (M)	12.1 B	9.47 B	6,74 C	13.8 B
Batata-doce (I)	28.0 A	9.86 AB	7,96 B	15.3 AB
Amora (A)	26,5 A	10.55 A	8,92 A	17.7 A
DMS =	5,705	0.887	0.484	2.209

As médias seguidas da mesma letra na horizontal não diferem entre si pelo teste Tukey a 5 %.

No quadro 4 estão os valores médios e os conceitos obtidos para o percentual de MS, celulose, hemicelulose e lignina para as plântulas das espécies desenvolvidas "in vitro". Por outro lado, o teor de MST não diferiu entre as duas últimas até a data da avaliação; que ocorreu até aos 18 dias após o enraizamento, com o melhor crescimento da arquitetura para a "amora" e "batata".

A emergência das raízes nos explantes aconteceu para "batata-doce" e "amora-preta" aos 10 e 12 dias, para o "pau-santo" e "mandioca" aos 14 e 21 dias, respectivamente, em média, após a inoculação dos explantes no meio de cultivo. Com o fenômeno da emergência e o desenvolvimento das raízes nos explantes, aconteceu uma queda, acentuada no teor de MST, das espécies "amora" e "mandioca", uma queda e posterior aumento na "batata" e, no "pau-santo" não ocorreu queda e sim um acréscimo lento, o que é considerado adverso Figura 01; com metabolismo muito diferente. A "batata-doce" com a "amora" acumulam maior teor de MST, conseqüentemente menos água para o metabolismo. As outras espécies acumulam menores percentual de MST ou retêm mais água nos tecidos vivos quando "in vitro" (Quadro 4).

Essa variação apresentada na figura 1, embora decrescente, não afeta as plântulas; parece ser um fato natural, pois as espécies ao saírem dos tubos apresentam bom desenvolvimento e sobrevivência; como a interação dupla foi não significativa, pode ter sido de baixa influência a contribuição desse fator, pois, segundo DHAWAN (1986), as plântulas no meio tem vida heterotrófica. O fato de os explantes emitirem raízes, o crescimento das mesmas não chega a alterar o comportamento das plântulas em

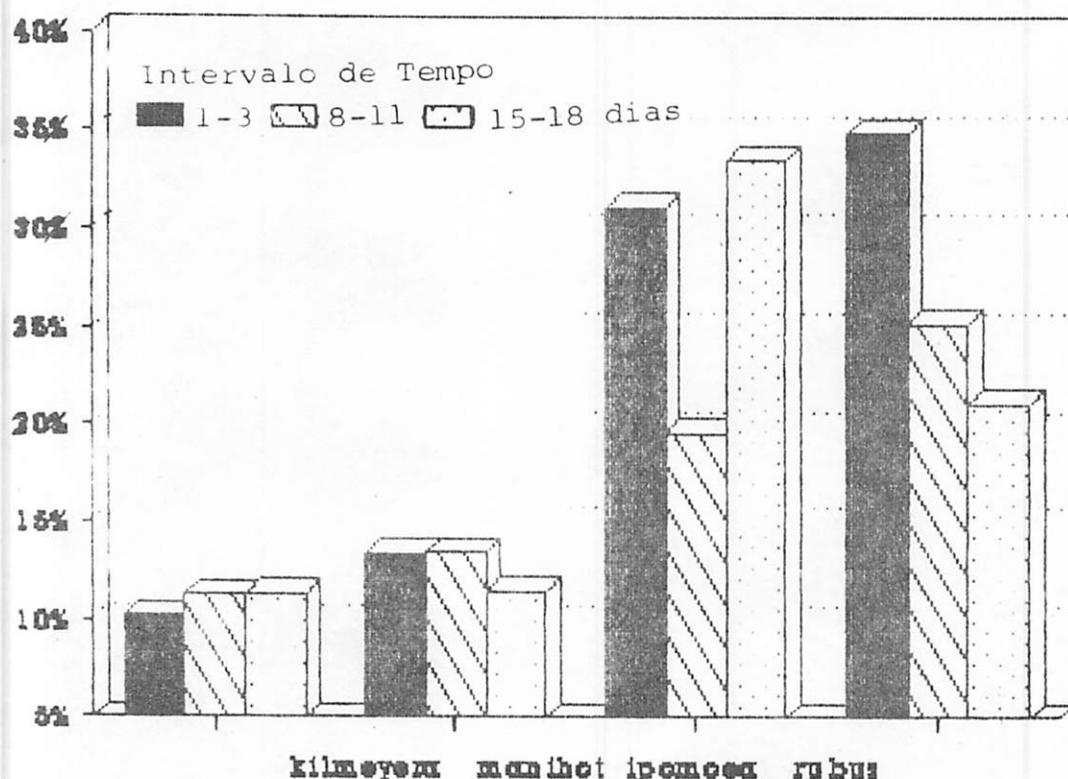


FIGURA 01. Poligonos representativos dos valores médios para o teor de MST.

acumular MS, ou seja, os explantes sofrem essa modificação morfo-anatômica, sem modificar totalmente seu metabolismo normal.

Observa-se na figura 1 que nos primeiros dias o índice de MS da "amora" está mais elevado, ocorrendo um decréscimo contínuo até idade III. Com a "batata-doce" o decréscimo aconteceu até a segunda idade (8-11 dias), para haver depois uma nova elevação. Embora esse fato ocorresse com estas duas espécies, não apresentou diferenças no teor MS. A mandioca destacou-se no teor de água nos tecidos da segunda para terceira idade de raízes.

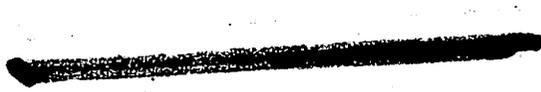
O dinamismo da atividade metabólica foi verificado no cres-

cimento e síntese das substâncias que constituem os tecidos estruturais. Para as espécies "mandioca" e "pau-santo" os valores médios e o comportamento ficaram mais próximos, que além de acumular menores teores de matéria orgânica não mostram similaridade metabólica com as outras duas espécies, nem uma oscilação extensa quanto "amora" e "batata", da mesma maneira como foi avaliado por (GOMIDE & ZAGO, 1980), que verificaram em estudo sob a variação das reservas durante a rebrota e a emissão de novos órgãos, mostrou queda no início, subsequente elevação e posterior estabilização de reservas, a medida que a planta recuperava a síntese das clorofilas pela expansão dos tecidos foliar, o que é devido ao envolvimento dos compostos na formação dos tecidos.

Considerando-se o grau de aclimação proposto por Silva et alii (1989), nota-se nas espécies com conceito (A) para aclimatar-se, que o teor de MST "in vitro" está mais elevado que na espécie 'B' e estas mais que na espécie 'C', nas condições avaliadas durante o período de 0 a 18 dias após a emergência das primeiras raízes "in vitro". O Quadro 4 mostra o índice médio de MS das espécies, a média geral de 19,37 %, aos 3 dias de enraizamento, caindo para 16,83% de média aos 18 dias, o que ainda é considerado alto para plantas jovens.

4.1.2. TEOR DE HEMICELULOSE DAS PLÂNTULAS "in vitro"

No Quadro 3 são apresentados os resumos da análise de variância do teor de hemiceluloses na amostra de MST das plântulas nas condições "in vitro". O fator idade de enraizamento, não influenciou a síntese das hemiceluloses e a diferença apresentada foi para o fator espécies e ocorreu a interação destes.



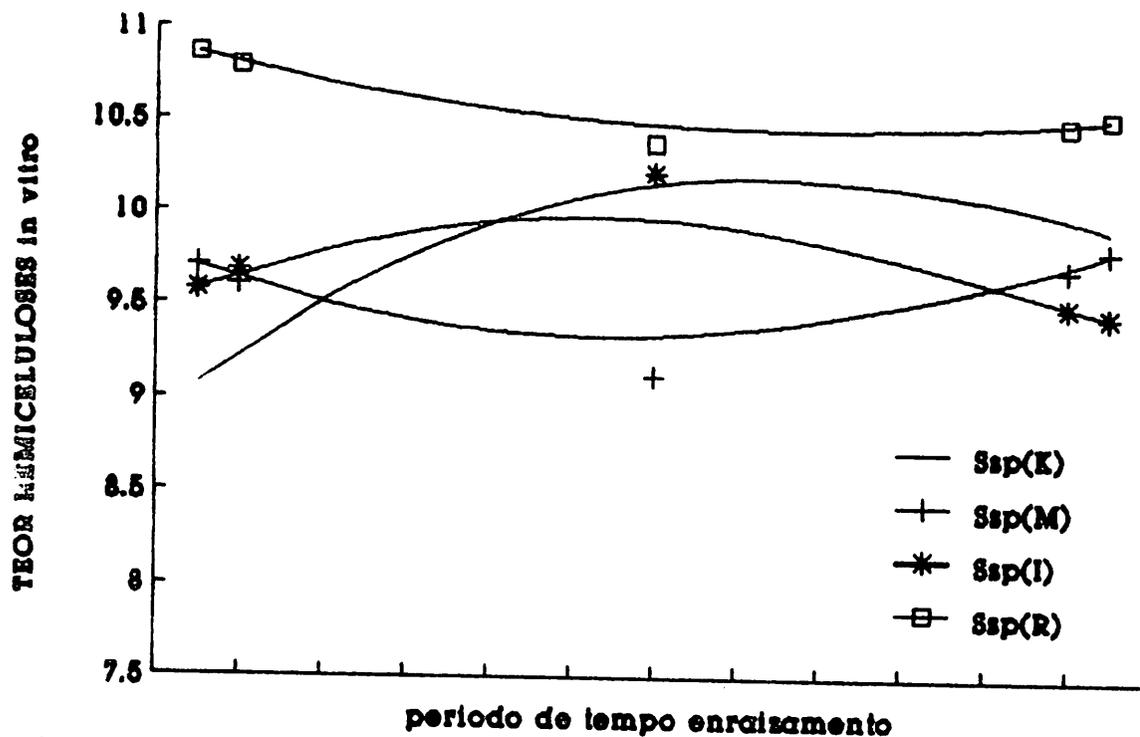


Figura 2. Curvas de regressão da interação dos fatores (I X Sp), para o teor de hemiceluloses na amostra de MST das plântulas, nas condições 'in vitro'. ESAL, Lavras, MG, 1991.

Intervalo de tempo: 1= 0-3 dias 2= 10 dias 3= 15 - 18 dias

$$\begin{aligned}
 F(I:Ssp_K) &= 6.464 + 3.61X - 0.795X^2 & R^2 &= 1.000 \\
 F(I:Ssp_M) &= 11.12 - 2.04X + 0.522X^2 & &= 1.000 \\
 F(I:Ssp_I) &= 8.0 + 2.239X - 0.560X^2 & &= 0.999 \\
 F(I:Ssp_R) &= 11.74 - 1.22X + 0.267X^2 & &= 1.000
 \end{aligned}$$

Na figura 2 está expresso o comportamento da espécie, sendo que o ajuste da equação foi quadrática, para todos, segundo REVI-LA & ZARRA (1987), esse tem sido o melhor comportamento para as hemiceluloses nas plantas jovens. Ainda pela Figura 2, nota-se que as espécies "mandioca" e "Amora" apresentaram equações crescentes enquanto que, "pau-santo" e "batata-doce" foram decrescentes, mostrando com isso que as hemiceluloses são substâncias que estão na parede celular das plantas com alto dinamismo, de acordo com enunciados de (BURKE et alii, 1984), pois ao desenvol-

verem, as plantas desempenham suas funções na parede celular.

No que se refere à idade de enraizamento, verificou-se resposta linear, ou seja, aumentou o teor de hemicelulose com o passar do tempo; a idade 1 foi a pior e a idade 3 foi a melhor para o acúmulo de hemicelulose. Ao comparar o comportamento das hemiceluloses com o da matéria seca nas condições 'in vitro', nota-se que não ocorreu similaridades em nenhuma das espécies, porém, na 'mandioca' e 'amora' foi o oposto, enquanto a MST decresceu as hemiceluloses cresceram.

Pelo Quadro 4 observa-se os conceitos das espécies: a 'amora' foi a espécie que apresentou o maior teor de hemiceluloses, seguida pelas espécie 'batata' e 'pau-santo' e com menor índice ficou a 'mandioca', embora as diferenças são pequenas, isso revela que nas condições 'in vitro' existe algumas similaridades das espécies na via de síntese de hemiceluloses.

Pelos resultados leva-se a crer que as espécies com maior teor de hemiceluloses são mais vigorosas 'in vitro', pois a 'amora' tem comportamento excelente. Concorde-se com os relatos de FRY (1986) que na fase jovem as hemiceluloses convertem-se em açúcares facilmente.

4.1.3. TEOR DE CELULOSE DAS PLÂNTULAS 'in vitro'.

Pelo resumo da análise de variância, apresentado no Quadro 3, observa-se que os fatores espécies e idade de enraizamento foram significantes para o teor de celulose na amostra de MS e interagiram-se.

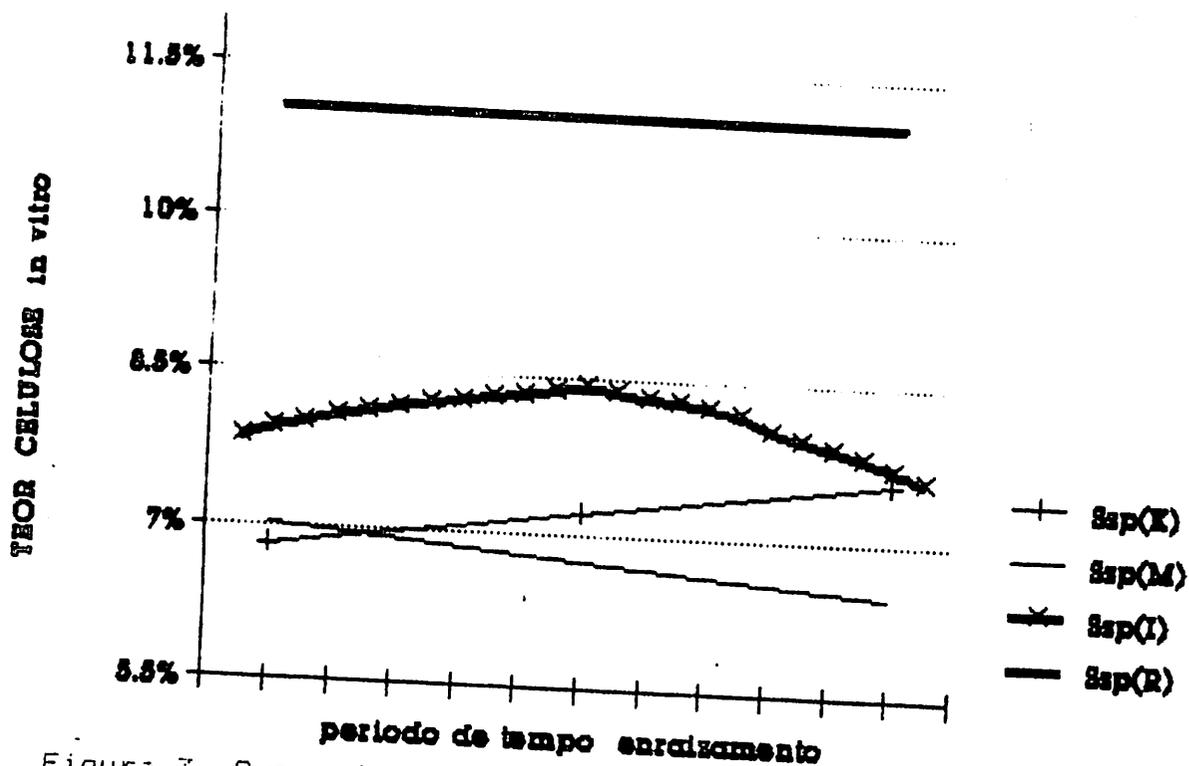


Figura 3. Curvas de regressão da interação dos fatores (I X Sp), para o teor de celulose na amostra de MST, das plântulas nas condições 'in vitro'. ESAL, Lavras, MG. 1991.

Intervalo de tempo: 1= 0 -3dias 2= 7 -10 dias 3= 15 -18 dias

$$F(I:Ssp_K) = 6.42 + 0.385X$$

$$F(I:Ssp_M) = 7.28 - 0.273X$$

$$F(I:Ssp_I) = 6.69 + 1.669X - 0.444X^2$$

$$F(I:Ssp_R) = 11.08 - 0.0108X$$

$$R^2 = 0.9237$$

$$= 0.9462$$

$$= 0.5850$$

$$= 0.9699$$

Como mostra a Figura 3, para o "pau-santo" ocorreu ajuste linear crescente, para a "amora-preta" linear decrescente e, para a "batata-doce" o ajuste foi de grau 2 com pico máximo aos 10 dias, em torno de 8,25 % da MS, que é constituída de celulose.

No desdobramento de fatores (quadro 3) nota-se que entre as espécies houve comportamento distinto quanto ao conteúdo de celulose nas amostras de MST. A espécie "batata-doce" obteve ajuste quadrático decrescente, o mesmo acontecendo, com a "amora-preta" e "mandioca", que também apresentaram teor decrescente, embora a equação tenha sido linear, quando no

interior dos tubos, devido certamente, ao maior acúmulo de polissacarídeos solúveis em relação a celulose. Para 'pau-santo' a equação foi linear crescente, tendo o metabolismo sido adverso às outras espécies, na síntese de celulose, ou pode ser outra via de deposição de celulose na parede celular, pois, sabe-se que, a maior parte da celulose encontra-se na parede das células.

Pelo quadro 4, observa-se que a 'amora-preta' obteve maior percentual de celulose na amostra de MST, seguida pela 'batata-doce'. a qual possui índice superior a 'mandioca' e 'pau-santo', que não diferiram entre si, pelo teste T (5%). Os índices da celulose apresentam variação maior que de hemiceluloses nas condições 'in vitro', mostrando que a 'mandioca' tem menos hemicelulose e celulose dentre as espécies avaliadas e a 'amora' apresentou os maiores índices, de acordo com os resultados de (WILKE, 1977) que encontrou maior teor de celulose que hemiceluloses nos tecidos avaliados.

As duas espécies 'mandioca' e 'pau-santo' são consideradas iguais nos percentuais de MST e celulose, e tem os menores índices das substâncias da parede celular, ou seja, menos carboidratos estruturais, os que as levam a ter menor índice de MST; isso ficou coerente nas duas espécies. Conseqüentemente, a 'amora' tem maior quantidade de carboidratos estruturais. A Figura 4 mostra que 'pau-santo' e 'mandioca' não são exatamente iguais porque o 'pau-santo' permaneceu mais constante que a 'mandioca'.

4.1.4. TEOR DE LIGNINA DAS PLÂNTULAS 'in vitro'

Observa-se no quadro 3 que ocorreram diferenças no teor de lignina para o fator espécies e os fatores se interagiram;

novamente, a idade de enraizamento não diferiu no teor de lignina da amostra de MST, discordando dos resultados de GOLDBERG et alii (1985) que não encontraram diferenças em pesquisas com tecidos de plantas jovens. No entanto, a idade de enraizamento 'in vitro' não interferiu em nenhum dos parâmetros endógenos avaliados.

Pela Figura 4, nota-se que o comportamento da lignina está estritamente ligado a espécie. Como esta substância é formada pelas últimas vias que completam a planta, é possível que o comportamento encontrado não seja o definitivo; devido ao curto período que foi avaliado as análises revelaram paredes pouco lignificadas. A equação linear para as espécies 'pau-santo' e 'mandioca' mostra que foi ocorrendo acúmulo de lignina no passar do tempo, porém, mais lentamente. O ajuste quadrático para 'amora' e 'batata' mostra maior dinamismo nessas espécies em acumular lignina na parede celular; e a curva decrescente pode ser por um mecanismo de crescimento que a parede tenha que sofrer modificações, ou mesmo mais acúmulo de outras substâncias.

Verifica-se na Figura 4 que a 'batata' apresentou ponto mínimo aos 10 dias do enraizamento, enquanto que a 'amora' aos 10 dias apresentou ponto máximo, então, o comportamento nas duas espécies é oposto, mostrando que as espécies tem síntese própria para a lignina, e que são diferentes, quando nas condições 'in vitro'. E pelo Quadro 4 observa-se que os valores médios do teor de lignina estão em maiores quantidades nas espécies: 'amora' e 'batata'. O 'pau-santo' tem índice inferior dentre as espécies estudadas, com isso, menor enrijecimento e daí, sua maior

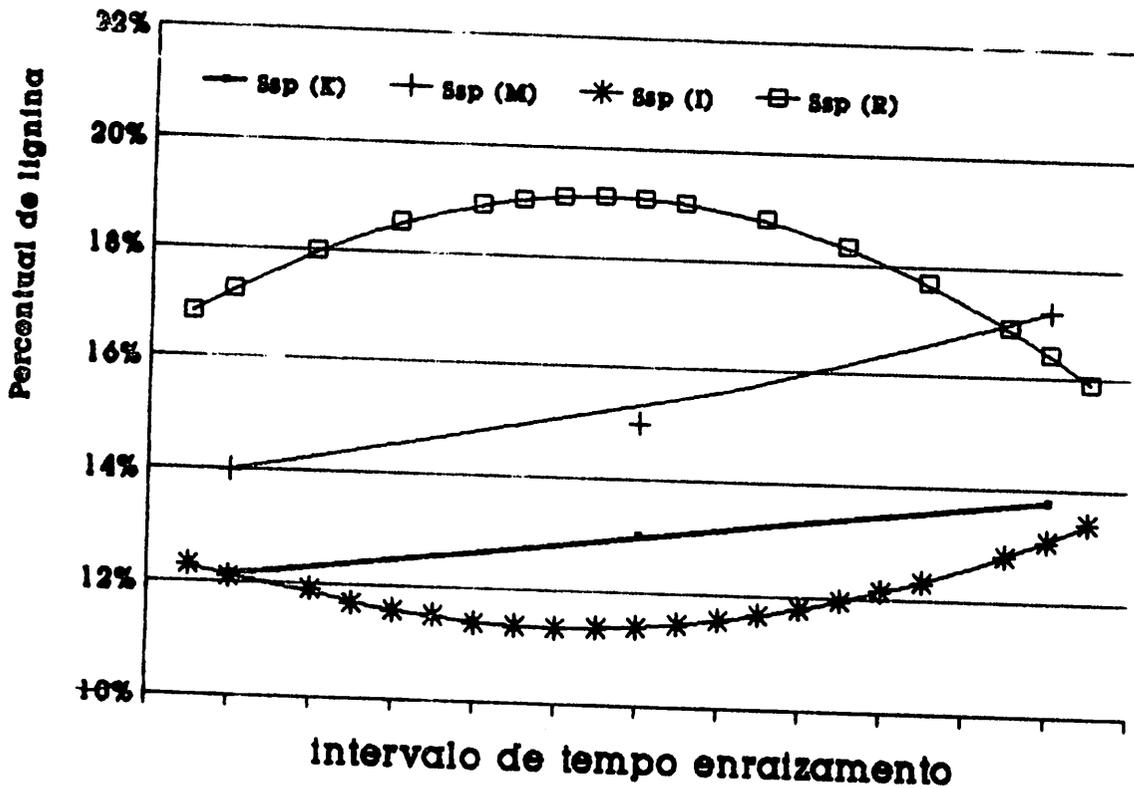


Figura 4. Curvas de regressão da interação dos fatores (I X Sp). para o teor de lignina na amostra de MST, das Plântulas nas condições 'in vitro'. ESAL, Lavras, MG. 1991.

Intervalo de tempo: 1= 0 -3; 2= 7 -10 e 3= 15 - 18 dias

$$F(I:Ssp_K) = 11.47 + 0.765X$$

$$F(I:Ssp_M) = 12.37 + 1.608X$$

$$F(I:Ssp_I) = 25.31 - 7.46X + 2.04X^2$$

$$F(I:Ssp_R) = 10.9 + 8.59X - 2.29X^2$$

$$R^2 = 0.9989$$

$$= 0.9551$$

$$= 0.7381$$

$$= 0.8345$$

fragilidade, apresentando problemas e dificuldades em aclimatar-se, pois, segundo FRY (1986), a lignina é a principal substância enrijecedora da parede celular.

4.2. ÍNDICE DE SOBREVIVÊNCIA EM CASA-DE-VEGETAÇÃO

No Quadro 5 estão os valores médios de sobrevivência das 4 espécies com os respectivos conceitos sob o prisma da aclimação, após sofrer pré-aclimação e decorrer vinte dias do transplante em casa-de-vegetação, quando se deu a primeira época

de coletas para avaliação. A "amora" e "batata" receberam conceito 'A' (maior pegamento), e em seguida a "mandioca" conceito 'B' e, por último, o "pau-santo", com conceito 'C', ou seja, menor índice de sobrevivência. Esses resultados comprovam a conceituação pré-estabelecida por SILVA et alii (1989), classificando-se as espécies em ótimas, médias e difíceis de aclimatar-se.

Ainda observa-se no Quadro 5, que os fatores utilizados não influenciaram diretamente o índice de sobrevivência, em casa-de-vegetação, após a micropropagação dos explantes nas condições assépticas "in vitro". Dentre aos fatores pesquisados, apenas a idade de enraizamento I (1-3 dias) mostrou-se menos eficiente em todas as espécies, na resposta à sobrevivência ou seja, somente 53,8 % das plantas sobreviveram, enquanto que a média nas outras idades estudadas chegou a 62,2 %. Devido a esses dados, verifica-se que com a idade de enraizamento I as plântulas não estão aptas a deixar os tubos para serem aclimatadas. Também BALLONI (1982), embora nas condições naturais, verificou que a idade da muda é um fator crítico de sobrevivência e crescimento; observou-se que no transplântio de *E. grandis*, ocorreu menor mortalidade nas plantas de idade maior.

Quadro 5. índice de sobrevivência das espécies desenvolvidas e casa-de-vegetação. ESAL, Lavras- MG. 1991.

TRAT.	RECIPIENTE				SUBSTRATO				IDADE			md.
	1	2	3	4	M	C	COC	V.I	I	II	III	
MAN.	35	40	40	40	49	48	49	51	25	50	49.1	B
AMR.	99	98	99	97	100	99	99	97	94	98	100	A
BAT.	98	99	100	100	100	100	100	98	96	100	100	A
P.S	0.5	0.5	0.3	0.5	20	0.4	0.4	0.2	-	-	-	C
Med.	58.2	59.5	59.8	59.	62.5	61.5	62.	61,6	53.8	62.2	62.4	---

As médias seguidas da mesma letra não diferem entre si.

Os índices de sobrevivência mostraram que as espécies que melhor se aclimataram foram, claramente, as que melhor se desenvolveram nas condições assépticas "in vitro", mostrados no quadro 3. Ressalte-se que o "pau-santo" é uma espécie de maiores dificuldades para aclimatar-se seguido da "mandioca" quadro 4.

Sobre essas dificuldades encontradas em algumas espécies em sobreviver após estresse, descrevem HSIÃO & AZEVEDO (1973) que as plantas estão altamente integradas às condições do meio, e à medida que ocorre escassez ou deficiência afetando alguns de seus processos, os mecanismos de controle podem ser ativados, visando ajustar outros processos para manter o equilíbrio necessário a sobrevivência; então, nas espécies que aclimataram-se bem (amora e batata) esse mecanismo foi perfeito, na "mandioca" medianamente e no "pau-santo" o ajuste desse mecanismo não chegou a ocorrer, porque o percentual de aclimação ficou em torno de 1,5- 3,0 %.

Por terem sido poucas as plantas de "pau-santo" que sobreviveram, ficou impossível mais avaliações. Ocorreu a senescência destas, perante uma deterioração uniforme nos primeiros dias após o transplante, mostrando que as condições propostas foram insuficientes. Essas plantas apresentaram os menores teores de MST, lignina, os componentes da epiderme também apresentaram em menores quantidades ou mesmo estiveram ausentes, quando desenvolvidas nas condições "in vitro". Há relatos de que, em algumas espécies poderá estar faltando a cutícula, daí a grande fragilidade apresentada.

Os sinais de queima uniforme apresentados pela espécie *K. coreacea*, devem estar relacionados com a produção de ácido

abscisico, segundo RASCHKE & ZEEVART (1976); ao sofrer um estresse agudo a planta desequilibra suas rotas e passa a aumentar o teor desse ácido. Sobre afirmação da teoria do ácido abscisico, NETTING et alii (1982) trabalhando com plantas de Eucalyptus estressadas, encontrou o nível de ácido abscisico aumentado de 2-3 vezes.

Importa dizer que a 'mandioca' sobreviveu em índice superior ao 'pau-santo', mostrando assim, que em espécies com menor índice de MST (12,1 %) nas condições 'in vitro', a aclimatação é mais dificultada. O teor de MST das plântulas não são bem correlacionado com o índice de sobrevivência e por isso, não deve ser o unico indicativo da aclimatação por si só, pois, as espécies 'mandioca' e 'pau-santo' que não diferiram entre si no teor de MST, apresentaram pegamento em índices diferentes.

Para a espécie 'batata', os resultados concordam plenamente com as conclusões de SIHACHAKH & OSSE (1986), que trabalhando na aclimatação desta espécie, observaram que é uma planta rústica, de fácil micropropagação, aclimatação e cultivo, apresenta alta tolerância às condições adversas e, respondem com ampla adaptação. A 'amora-preta' também apresentou comportamento semelhante ao da 'batata', rustica e sem nenhum problema para aclimatar-se.

Verificou-se que o crescimento e desenvolvimento em casa-de-vegetação das plantas que aclimataram-se foram normais; tal procedimento, mostra que há correlacionamento positivo entre aclimatação das espécies, com alto teor de matéria seca acumulado, (26,5 %), evidenciando que as plantas que sobreviveram estavam em pleno crescimento e desenvolvimento, pois, ocorreu

acumulo de MST com o decorrer do tempo (quadro 4); o mesmo ocorreu nos relatos de KVET et alii (1971), que observaram que se a parte aérea tem bons sintomas, certamente, o sistema radicular está funcionando bem, porque qualquer deficiência neste, apresentará sinais no desenvolvimento da parte aérea. E no presente experimento não se constatou nenhum sinal perceptível de deficiência até a quarta época (35 dias) após o transplante em casa-de-vegetação.

4.3. TEORES BIOQUÍMICOS NAS PLANTAS ACLIMATADAS

Quadro 6. ANAVA para os parâmetros bioquímicos avaliados nas espécies aclimatadas nas condições de casa-de-vegetação. ESAL, Lavras - MG., 1991.

FATORES		PARAMETROS AVALIADOS			
F.	U.	GL	MST.(*)	CELULOSE (%)	HEMICELUL.(%)
SUBST.	03		*	**	*
IDADE	02		-	**	*
ÉPOCA	03		-	**	**
I * S	06		*	**	*
E * S	09		*	*	*
E * I	06		*	--	*
S * I * E	18		-	*	*
erro(a)	35		36,71	0.485	1,688
ESPÉCIE	1		*	*	*
repet.	02				
S * Sp	03		*	**	*
I * Sp	03		*	**	*
E * Sp	03		*	**	*
Sp * S * I	06		-	**	*
E * S * Sp	09		*	**	*
E * I * Sp	06		-	**	*
EISR	18		-	**	*
erro(b)	47		25,687	0.4133	1,647
C.V.(a) = 8,64 %		C.V.(b) = 12,12 %			

* F significativo a 5 % e ** F significativo a 1 %.

4.3.1. TEOR DE MATÉRIA SECA TOTAL (% MST)

A matéria seca é uma das características mais importante no

estudo do desenvolvimento das plantas nas condições naturais, uma vez que seu teor influencia diretamente o grau de plasticidade e densidade, podendo dar uma idéia da estrutura dos tecidos e de como foi a atividade fotossintética das plantas. Segundo LEVITT (1980) e HSIÃO & AZEVEDO (1974), após um estresse qualquer ou mal funcionamento da absorção de água pelo sistema radicular, leva as células a um estresse pelos desequilíbrios, fato este, amplamente aceito para sofrer redução no crescimento e no acúmulo de fotoassimilados.

Pelo quadro 6, observa-se que ocorreram diferenças para o teor de MST somente nos fatores: substratos e espécies, e os fatores de tempo não alteraram-se, embora tenha ocorrido interação dos fatores (SxI), sendo que as espécies foram de maior variação, segundo BAKER (1979), que encontrou diferenças nos seus trabalhos com vários genótipos de plantas superiores, afirmando que as taxas de produtos são fixadas geneticamente, e por isto as diferenças encontradas serem significativas.

Na Figura 5 está o efeito da época dentro de substrato ocorreu diferenças apenas no substrato 'M' (mistura de areia, subsolo e esterco), com ajuste da equação de 2^o grau, com ponto mínimo aos 25 dias após o transplante (E2), isso concorda com os relatos fito por CONCEIÇÃO (1983), que trabalhando com mudas estressadas de *Hevea brasiliensis*, encontrou ajuste quadrático para os tratamentos sem estresse, e ajuste linear para os estressados. Salienta também que o substrato que apresenta maior teor de MST, pode estar relacionado com os sais de íons contidos neles, contribuindo para melhor função das raízes; no Quadro 2

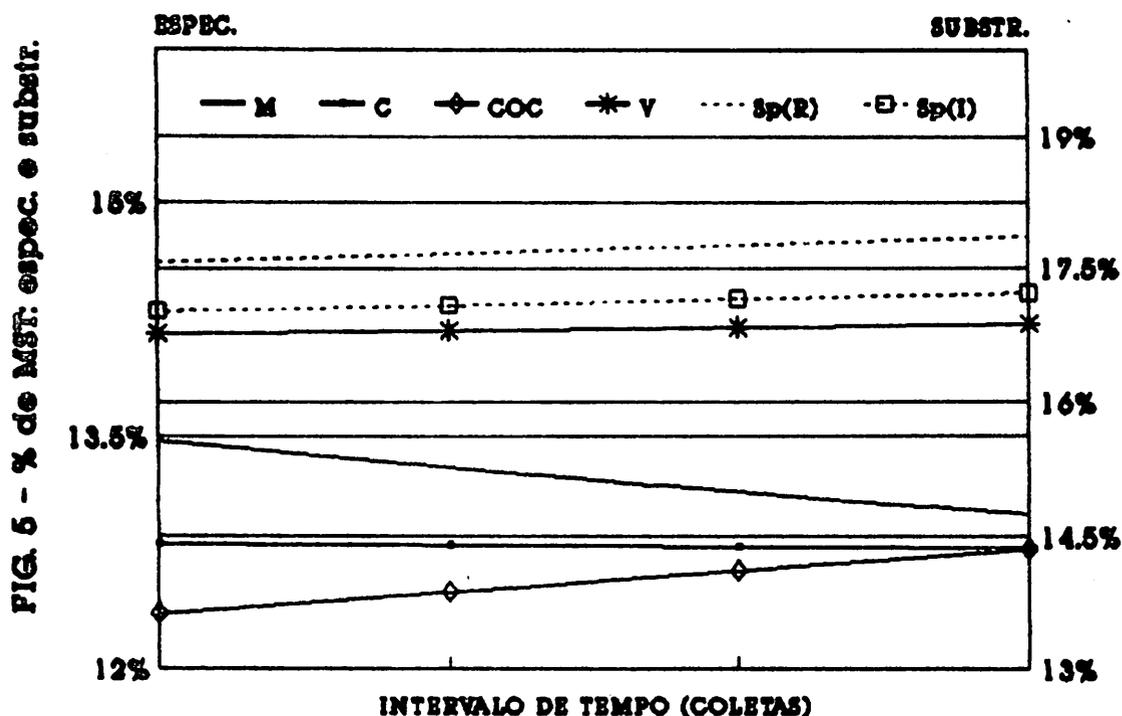


Figura 5. Curvas de regressão das interações (E X S) e (E X Sp), para o percentual de MST, nas plantas aclimatadas. ESAL, Lavras, MG. 1991.

Intervalo de tempo: 1= 20; 2= 25; 3= 30 e 4= 35 dias após transplântio.
 legendas: S= substratos Ssp= espécie I= Ipomoea e R= Rubus idaeus

$$\begin{aligned}
 F(E:S_M) &= 19.47 - 5.52X + 1.32X^2 & R^2 &= 0.9904 \\
 F(E:S_C) &= 14.54 - 0.148X & &= 0.9302 \\
 F(E:S_{COC}) &= 11.44 + 2.97X - 0.539X^2 & &= 0.9582 \\
 F(E:S_V) &= 16.45 + 0.346X & &= 0.8760 \\
 Y_2(E:S_{SpR}) &= 14.122 + 0.545X & &= 0.9543 \\
 Y_2(E:S_{SpI}) &= 13.97 + 0.362X & &= 0.9627
 \end{aligned}$$

nota-se que o íon Ca^{2+} está em níveis diferentes no quatros substratos avaliados; com isso pode ter ocorrido diferenças no conteúdo de água nas plantas dentre os substratos. Nos compostos com alto teor de matéria orgânica (Compostagem e COC = composto orgânico comercial) produziram índices menores de MST, ou seja, maiores facilidades para as raízes se hidratarem, ou ainda, conforme relatos de PONDS (1983), substratos onde micorrizas

crecem melhor, produzem maior teor de água na planta, enquanto no substrato 'M' pode ter ocorrido menor atividade desses fungos, isso a partir da quarta época (35 dias), pois até a terceira época (30 dias) não houve nenhuma diferença nos teores de MST. Até a terceira época, todos os substratos foram suficientes para as espécies sintetizarem e acumularem material de reservas. A partir da quarta época, confirmou-se que os substratos com alto teor de matéria orgânica propiciaram às plantas a maior absorção de água, pois, segundo alguns autores, o maior desenvolvimento 'in vivo' não quer dizer o mesmo para o acúmulo de matéria seca.

Quadro 07. Valores médios para o teor de MST, nas espécies dentro do substrato, ESAL, Lavras - MG. 1991.

ép\Subst.	MIST.	COMP.	C.O. C.	VERMIC.
BATATA-DOCE	14.4 A a	13.9 A a	13.8 A a	14.3 A b
AMORA-PRETA	15.3 B a	14.1 C a	13.9 C a	16,9 A a
DMS = 1.1483				

As médias seguidas da mesma letra na vertical não difere entre si, para espécies, e na horizontal para substratos, pelo teste T a 5% de Probab.

Pelo Quadro 7 evidencia-se que o teor de MST variou com os tipos de substratos, apenas na época 4 (35 dias), sendo superior para os substratos 'M' (solo + areia + esterco) e 'V' (vermiculita em flocos médios), que são os de menor teor de matéria orgânica; ainda verifica-se que foi preciso de um valor de 1,15% no teor de MS para que tenha-se diferenças, entre espécies. Com isso, nota-se que para ter-se diferença é preciso que as plantas tenham em torno de 80 - 100 mg de peso de matéria verde. E foi a espécie 'amora-preta' que apresentou maior teor em relação a 'batata-doce',

No quadro 12 observa-se que ocorreram diferenças para o

percentual de MST na interação dos fatores (E x R) e não aconteceu a interação dos fatores substrato x recipientes, isso mostra que a quantidade de substrato não reverte as qualidades apresentadas por estes.

4.3.2. TEOR DE CELULOSE NAS ESPÉCIES ACLIMATADAS

O resumo da análise de variância para a celulose na amostra de MST das espécies aclimatadas, apresentado no quadro 6, mostra que o teor da celulose foi influenciado por todos os fatores estudados, com as respectivas interações de interesse. Então há resposta dos fatores influenciando as plantas a enrijecer mais e certamente, a parede celular vai se completando.

Pela Figura 6, verifica-se que as espécies comportam-se diferentemente, embora tenham sido semelhantes na aclimatação. Ao comparar-se os dados da figura 3, nota-se que o comportamento "in vitro" é bem diferente da planta nas condições "in vivo" em casa-de-vegetação, conforme relatos de (SMITH et alii, 1986) sobre o caráter heterotrófico das plântulas "in vitro". Comprovam os resultados de (DIAS, 1987) que é possível mudar o comportamento das plantas, pois, conseguiu modificar o teor dos biopolímeros da casca de sementes de Theobroma, com a adição de celulases aplicada nos tecidos dos frutos retirados das plantas.

Ainda a Figura 6 mostra o comportamento da época dentro das espécies de fácil aclimatação, onde a "batata-doce" recebeu ajuste de segundo grau, e a "amora-preta" recebeu ajuste de 3º grau. As espécies apresentaram comportamento opostos no teor de celulose. Assim sendo, nota-se que a celulose não age sozinha na tolerância aos estresses com a aclimatação, sendo mais provável

Fig. 6 % de celulose e hemiceluloses

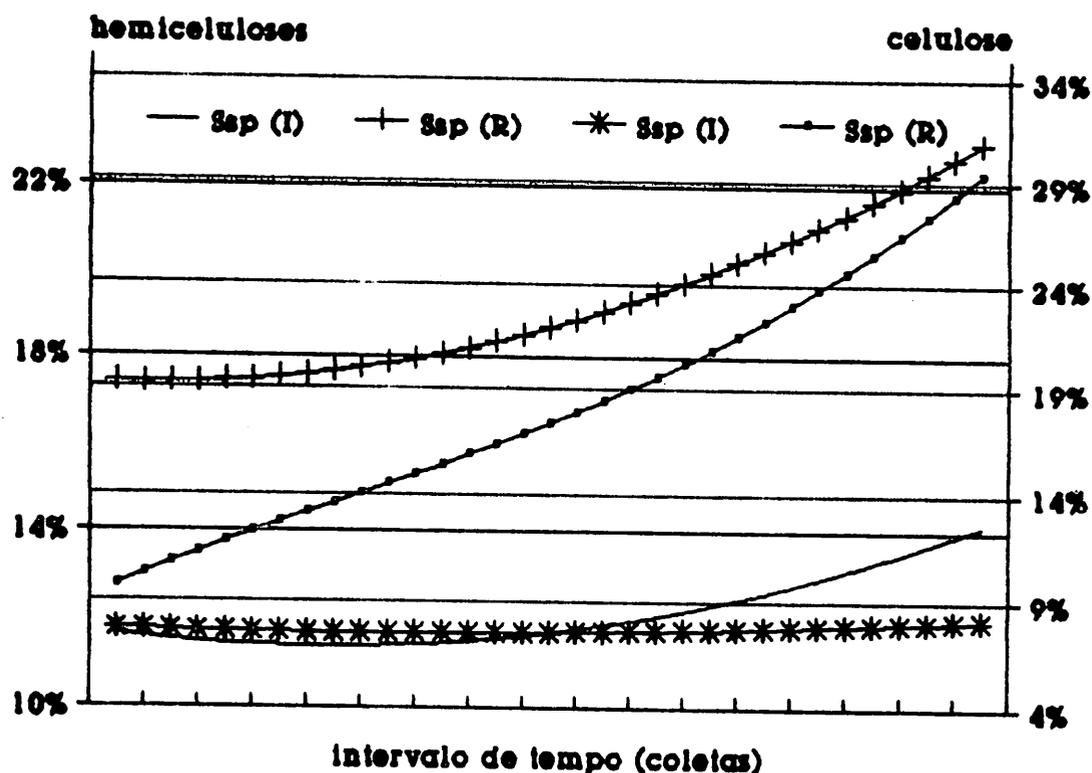


Figura 6. Curvas de regressão da interação dos fatores (E X Sp), para celulose e hemiceluloses, na amostra de MST, das plantas aclimatadas. ESAL, Lavras, 1991.

Intervalo de tempo: 1= 20; 2= 25; 3= 30 e 4= 35 dias após plantio.

$$\begin{aligned}
 F(E:Sp_I) &= 12.719 - 1.58X + 0.469X^2 & R^2 &= 0.6854 \\
 F(E:Sp_R) &= 18.12 - 12.292X + 4.97X^2 & &= 0.6345 \\
 F'(E:Sp_I) &= 8.12 - 0.593X + 0.144X^2 & &= 0.6115 \\
 F'(E:Sp_R) &= 3.84 + 8.03X - 2.01X^2 + 0.384X^3 & &= 0.8227
 \end{aligned}$$

Quadro 08. Valores médios para o teor de celulose nas espécie aclimatadas em casa-de-vegetação, para substrato dentro das espécies. ESAL - Lavras MG. 1991.

Esp.:SUBST.	MIST.	COMP.	C.O.C.	VERMICULITA
BATATA-DOCE	7,46 A ab	8,48 A a	8,27 A ab	6,68 B b
AMORA-PRETA	8.37 A a	9.21 A a	8,16 A a	8,08 A a
DMS = 1,19523				

As médias seguidas da mesma letra maiusculana vertical não diferem entre si, na espécie e na horizontal no substrato, pelo teste Tukey a 5 % de probabilidade.

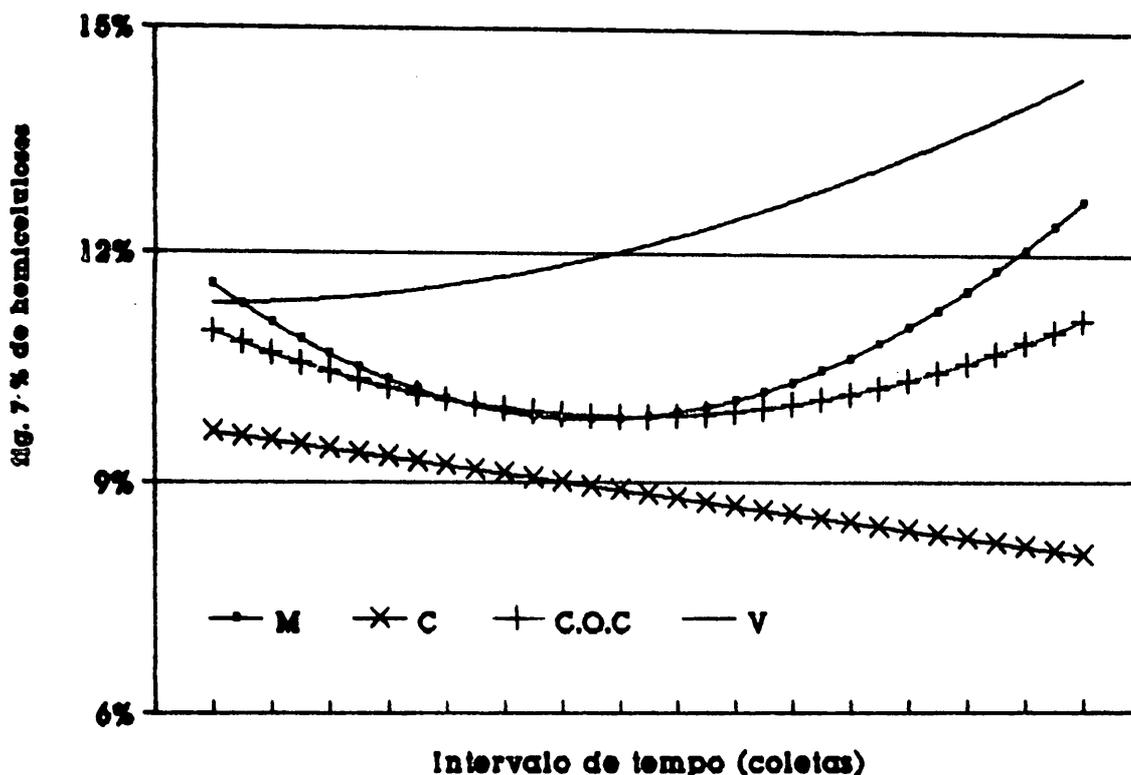


Figura 7. Curvas de regressão da interação dos fatores (E:Subst.), para o teor de celulose na amostra de MST, das plantas aclimatadas. ESAI, Lavras, MG. 1991.

Intervalo de tempo; 1= 20; 2= 25; 3=30 e 4= 35 dias após plantio.

$$\begin{aligned}
 F(E:S.M) &= 9.243 - 0.0104X + 0.211X^2 & R^2 &= 0.8988 \\
 F(E:S.C) &= 0.169 + 12.01X - 4.72X^2 + 0.552X^3 & &= 0.9554 \\
 F(E:S.COC) &= 5.48 + 4.05X - 1.78X^2 + 0.238X^3 & &= 0.9681 \\
 F(E:S.V) &= 8.39 - 1.32X + 0.304X^2 & &= 0.6537
 \end{aligned}$$

ser uma característica intrínseca da espécie, do que ter sido influenciada por algum dos fatores estudados. Segundo BARRICHELO et alii (1983), a celulose está relacionada com o teor de MST, pois foi o que se encontrou em várias espécies de Eucalipto analisadas, embora em tecidos já amadurecidos. A espécie herbácea obteve menores valores em todos os substratos, que espécie "amora" semi-lenhosa. Isto mostra que o teor de celulose nas plantas não é estático, mesmo sendo estas de fácil aclimação.

O efeito do desdobramento da espécie dentro de substratos (Quadro 8), não mostrou diferenças para os substratos orgânicos e, diferiram nos substratos minerais ('M' e 'V'), sendo para a 'amora' a 'mistura' foi melhor e para 'batata' os substratos orgânicos, que não diferiram e foram os melhores para a produção de celuloses. A vermiculita foi a pior para acúmulo de celulose, mas foi a melhor para produção de MST. O teor de celulose foi superior na espécie 'amora-preta' desde a fase 'in vitro'. Embora, ao comparar esses dados com os de PLAYNE (1984), que obteve até 40% de celulose na MST de plantas de cana-de-açúcar, nota-se que o teor encontrado neste trabalho foi bem abaixo.

Pela Figura 7 observa-se que há influencia do substrato na síntese de celulose e estrutura da parede nas plantas, pois o comportamento apresentado foi similar para os substratos minerais e diferente nos orgânicos, que foram similares entre si. O ajuste da equação para os substratos minerais foi de segundo grau, enquanto para os orgânicos, o ajuste foi de terceiro grau (Figura 7). BARRICHELO et alii (1983), encontraram o teor de celulose nas plantas de Eucalipto, com ajuste quadrático também, embora as plantas já estivessem aos 7 anos de idade. Nas espécies fáceis de aclimatar-se, a celulose desenvolveu-se mais nos substratos com alto teor de matéria orgânica e mais ricos em nutrientes também, enquanto que na vermiculita encontrou-se os mais baixos teores de celuloses.

4.3.2. TEOR DE HEMICELULOSES NAS ESPÉCIES "IN VIVO"

Pelo resumo das análises no quadro 6 observa que todos os fatores e suas interações apresentaram diferenças para o teor de

hemicelulose, inclusive a interação quadrupla. Para os fatores de tempo, o comportamento foi crescente com o decorrer do tempo. O efeito do desdobramento das épocas dentro das espécies mostrou comportamento semelhantes para as duas espécies aclimatadas (Figura 6), porém, contendo a 'amora' quantidades inferiores.

A quantidade de hemiceluloses na 'batata-doce' foi bem superior, ocorrendo o inverso da celulose, embora, as espécies sejam semelhantes na aclimação. Devido a isto, que a 'batata-doce' obteve maior teor de MST, e daí sua rusticidade.

As quantidades de hemiceluloses obtiveram uma resposta oposta a da celulose: comparando-se os resultados, existem menores teores de hemiceluloses do que celuloses na 'amora-preta' e o contrário na 'batata-doce'.

A Figura 8 representa o comportamento das interações de época dentro dos substratos, somente a compostagem obteve resposta linear, porém, decrescente; talvez seja, por ter propiciado às plantas maior absorção de água, pois o mesmo aconteceu com o percentual de MST. O teor de hemiceluloses foi crescente no passar do tempo com ajuste quadrático para os outros substratos, nas duas espécies, enquanto que a vermiculita apresentou o contrário da compostagem.

Quadro 09. Valores médios para o teor de hemicelulose nas espécies aclimatadas dentro dos substratos, nas condições de casa-de-vegetação, ESAL, Lavras- MG. 1991.

ESP.:SUBST.	MISTURA	COMP.	C.O.C.	VERMICULITA
BATATA	11,56 A b	10,29 A b	12,47 A ab	14,83 A a
AMORA	10,45 A a	7,38 B b	8,51 B ab	10,21 B ab
DMS = 2,406				

As médias seguidas da mesma letra maiúscula na vertical (espécies) e minúsculas na horizontal (substrato), não diferem entre si, pelo teste Tukey a 5% .

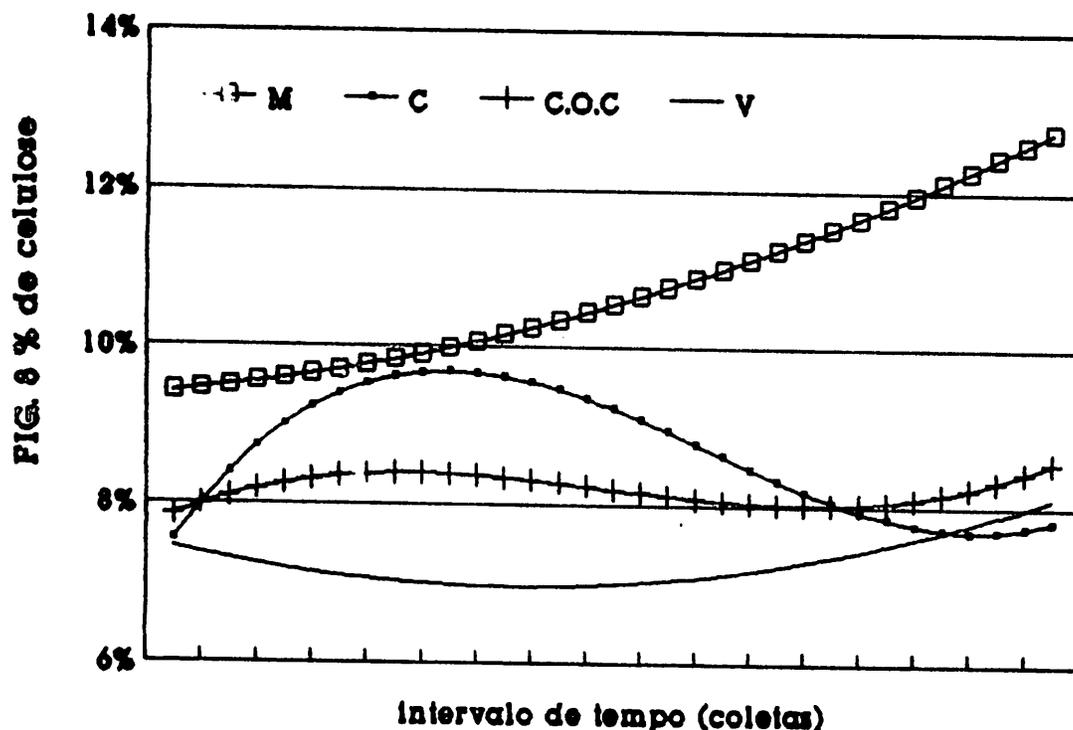


Figura 8. Curvas de regressão da interação dos fatores (E x S), para o teor de hemiceluloses na amostra de MST, das espécies aclimatadas, ESAL, Lavras, MG. 1991.

Intervalo de tempo: 1= 20; 2= 25; 3= 30 e 4= 35 dias após plantio.

$$\begin{array}{ll}
 F(E:S_M) = 9.247 - 0.0104X + 0.211X^2 & R^2 = 0.9008 \\
 F(E:S_C) = 0.169 + 12.01X - 4.74X^2 + 0.211X^3 & = 0.9901 \\
 F(E:S_{COC}) = 5.48 + 4.05X - 1.78X^2 + 0.238X^3 & = 0.7847 \\
 F(E:S_V) = 8.39 - 1.32X + 0.304X^2 & = 0.5823
 \end{array}$$

No quadro 9, verifica-se que a espécie 'batata-doce' apresentou os maiores teores de hemiceluloses que a 'amora'; quando 'in vitro', era o contrário, então, a 'batata' foi acumulando no passar do tempo, enquanto a 'amora' acumula mais lentamente. Após a aclimação e estar nos substratos, a 'batata' mostrou maior capacidade em metabolizar compostos fenólicos, o que foi observado durante os processos de extração e, também, o índice de hemiceluloses mostrou isso. O metabolismo mais acentuado numa espécie é comprovado pelo maior teor de água nos tecidos, e foi a

batata-doce' que apresentou maior quantidade de água; pelos relatos de CHU (1979), que plantas com maior metabolismo retêm mais água nos tecidos.

O teor hemícelulose em função do efeito do substrato, mostrou que os substratos orgânicos obtiveram as piores médias; com menores valores para a compostagem, enquanto a vermiculita foi o substrato que produziu os maiores teores de hemíceluloses. Observou-se ainda, que a hemicelulose foi mais influenciada pela interação dos fatores, pois cada espécie apresentou maior resultado quando em substrato diferente.

4.3.4. TEOR DE LIGNINA NAS PLANTAS ACLIMATADAS

Para o teor de lignina, o método de extração utilizado não foi eficiente, devido ao alto teor de fenóis contidos nas amostras, por esse fato, os resultados não foram aproveitados para análises. Acredita-se, que por ser a lignina formada nas últimas vias dos processos de síntese, deveria estar em baixos teores, mas não ausentes em umas espécies e elevados nas outras, embora o período de avaliação fosse curto (35 dias).

Sabendo-se dos relatos de (MATSUMOTO & ASADA, 1977), que a lignina é a responsável pelo enrijecimento dos tecidos de sustentação e formação da arquitetura dos tecidos, o seu teor nas plantas está diretamente relacionado com o teor de fibras nos vegetais; podendo seu teor favorecer à tolerância à aclimação. Com isso, correlacionando-se o grau de aclimação com o teor de lignina, foi correto que as espécies com o maior teor de lignina 'in vitro' foram mais tolerantes aos estresses da aclimação.

Devido ter encontrado, nas espécies 'batata-doce' e a 'amora', os mais altos percentuais de lignina, e receber conceito 'A' para aclimatar-se. WALLNER (1986) relata que o requisito para envolvimento da parede celular na aclimação da planta está na capacidade de mudanças para responder às condições impostas pela temperatura e umidade do ar. Pois, o conteúdo de glicose e galactose pode ser modificado, pela ocorrência de mudanças no metabolismo da parede, e membranas do plasmalema na interface que afeta as enzimas.

4.4. PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS.

Quadro 10. Resumo de ANAVA referente aos parâmetros físico-químicos da espécie 'amora-preta'.

ESAL, Lavras, M.G. 1991.

FATORES	PARÂMETROS AVALIADOS									
	F.	V.	GL	NF.	AF.	PPAV	PFR	RP.	MST.	%MST
RECIP.	03	-	-	-	-	-	*	-	-	**
SUBST.	03	*	**	**	**	**	**	*	*	*
R * S	09	-	*	-	-	-	-	-	-	-
IDADE	02	*	**	**	**	*	*	*	*	-
I * R	06	-	-	-	-	-	-	-	-	*
I * S	06	-	-	-	*	-	-	-	-	*
I * R * S	18	*	-	-	-	-	-	-	-	-
erro(a)	96	0.237	70,39	1.6111	3.565	0.835	116,5	37.9		
ÉPOCA	03	**	**	**	**	**	*	*	*	**
E * R	09	-	-	*	-	-	*	-	-	-
E * S	09	-	*	*	-	-	-	*	-	*
E * I	06	*	*	*	-	-	-	*	-	-
E * R * S	27	-	-	-	-	-	-	-	-	-
E * R * I	18	*	-	-	-	-	-	-	-	-
E * S * I	18	*	-	-	-	-	-	-	-	*
EISR	54	*	-	-	-	-	*	-	-	-
E * re	06									
erro(b)	283	0.123	34,28	998.12	2658,64	0.86	82.1	25,778		
CV(a) %		11.48	8,27	4.87	8,12	5.94	4.76	39.		
CV(b) %		8.2	5,76	3.89	7.0	6.01	4.06	32.7		

* F significativo a 5 % e ** F sig. a 1% de probabilidade.

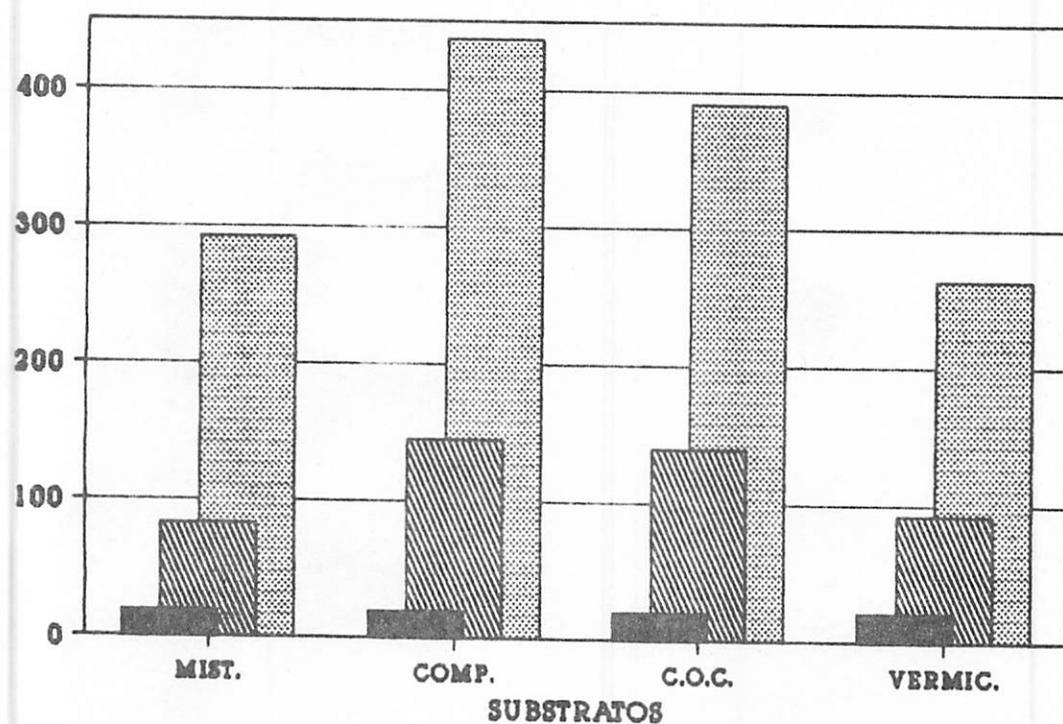
No quadro 10 estão expressos os resultados das análises de variância dos parâmetros: número de folhas, área foliar, peso da parte aérea viva, peso fresco das raízes, taxa de peso fresco e MST, das plantas da espécie de melhor resultado com a aclimação ('amora-preta') desenvolvidas em casa-de-vegetação.

4.4.1. NUMERO DE FOLHAS (NF)

Para o parâmetro NF, observa-se no Quadro 10 que todos os fatores estudados se interagiram entre si, pois obteve-se a interação quádrupla significativa. Como o fator recipientes não diferiu, no entanto, foram estudados os fatores de tempo isolados para facilitar as explicações (quadro 1 Ap).

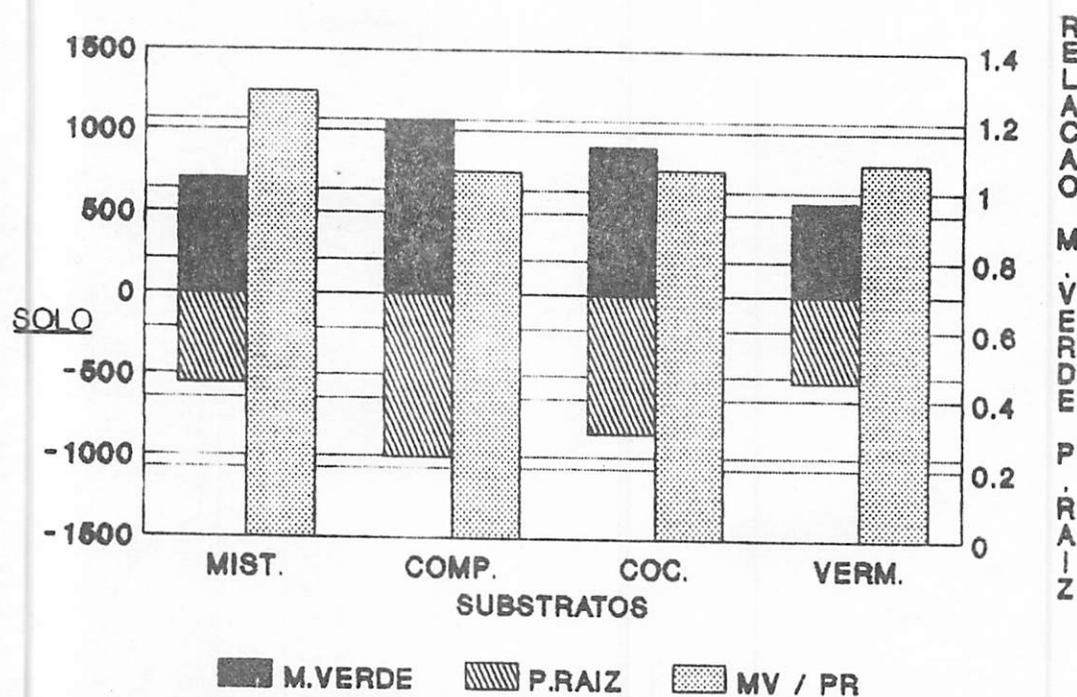
Os fatores de tempo responderam linearmente; isso implica dizer que, as plantas aumentaram o NF no passar do tempo e que as plântulas de maior idade apresentaram mais folhas, estando conforme resultados de (DIAS FILHO, 1987) que encontrou aumento linear para o NF em *Panicum* com o passar do tempo em casa-de-vegetação, comentou-se que após um certo período pode ter queda do NF pela senescência das folhas velhas para suprir as mais novas, porém, devido ao período avaliado ser curto, isso não aconteceu. Também MORAIS & BRUNE (1983), citados por CARVALHO (1989), estudando a correlação juvenil-adulta em *E. grandis*, verificaram que diferenças iniciais no tamanho das mudas no viveiro, somente apresentaram diferenças no primeiro ano.

Nota-se no Quadro 10 que o fator recipiente não influenciou o NF, concordando com os resultados de VIANA (1981), em plantas de cafeeiro nas condições de viveiro. Os comentários dos parâ-



■ N.FOLHAS ▨ A.Foliar (cm²) ▩ MST (g)

Figura 9. Polígonos das representações dos parâmetros físico-químicos das plantas aclimatadas. ESAI, Lavras, 1991



■ M.VERDE ▨ P.RAIZ ▩ MV / PR

Figura 10. Polígonos das representações dos parâmetros físico-químicos das plantas aclimatadas. ESAI, Lavras, 1991.

metros que mostraram influência foram discutidos, usando-se a melhor idade (17 dias) e a melhor época, conforme mostra o (Quadro 11); porque nestes o crescimento e desenvolvimento das plantas estavam com maior veracidade (Figura 9). Esses resultados estão de acordo com os de (SUTTER & LANGHANS, 1982), que encontraram diferenças no NF de repolho, somente após o 28^o dia do plantio.

Quadro 11. Valores médios para o NF na planta de 'amora-preta', nas condições de casa-de-vegetação, nas melhores idade (17 dias) e época (35 dias) ESAL, Lavras, MG. - 1991

SUBST: Id. X Ep.	I3. E3	I3. E4
MISTURA	20,3 A	22,15 A
COMPOSTAGEM	18,4 B	21,78 A
COMP.ORG. C.	20,4 A	22,3 A
VERMICULITA	20,2 A	22,4 A
DMS = 0,6371		

As médias seguidas da mesma letra na vertical não diferem entre si pelo teste Tukey a 5 %.

No quadro 11 aparecem os valores e conceitos para os substratos dentro das melhores época e idade. Observou-se que não ocorreram diferenças entre os demais tratamentos, sendo os substratos responsáveis pelas interações significativas, porém, o maior interesse foi naqueles de melhor comportamento, devido as plantas estarem com maiores quantidades de massa. Ainda pelo Quadro 11, verifica-se que os substratos que melhor responderam dentro das interações triplas (SxExI) foram o 'C.O.C.' e 'M'; o 'V' foi melhor na época e idade 3, enquanto que compostagem ficou com o pior valor. No entanto, as diferenças desapareceram na época 4 (figura 9). Isso concorda em partes com os resultados de EZEQUIEL (1980), que encontrou maior NF nas plantas de C. arábica crescidas em casa -vegetação com maior proporção de esterco

misturado aos substratos e areia, sendo que a adição de micronutrientes (Zn e B) não apresentaram diferenças, parecendo ser mais um comportamento da espécie, do que resposta dos tratamentos.

4.4.2. ÁREA FOLIAR (AF)

Pela alta sensibilidade foliar encontrada nas plantas da cultura de tecidos, se torna interessante avaliar os parâmetros provenientes das folhas. Pelo quadro 10 verifica-se que a área foliar não sofreu as mesmas influências do NF, encontrando apenas interações duplas significativas, e provavelmente devido a resposta do substrato; com isso, mostra-se o crescimento diferente dos órgãos na mesma planta, em relação ao substrato, uma vez que o número de folhas não diferiu após a terceira época de coletas, mostrando um período de paralização do desenvolvimento entre 30-35 dias após o transplântio para os substratos. CHU (1979), encontraram em seus trabalhos com *B. catharticus*, quando em condições controladas de temperatura e umidade do ar, entre outros fatores, pode ter contribuído para que as plantas apresentasse paralização ou queda da AF mais tardios, ao sofrer problemas com o suprimento de água do solo.

HITCHIE (1981), conclui em suas pesquisas, após análise minuciosa da influência da extração da solução dos substratos, sob a taxa relativa de vários processos fisiológicos, que o mecanismo de alongação foliar é o mais sensível dentre outros, sendo que a alongação da folha pára completamente, perante qualquer deficiências no deslocamento da água nos vasos, e que até com o estresse do calor e da água no ar.

Para as discussões, estudar-se-á o efeito do desdobramento

de recipiente dentro do substrato, pois os fatores de tempo obtiveram ajuste linear (quadro 2 Ap). Embora o tamanho e forma de recipiente não apresentaram diferenças, isso mostra que todos os tamanhos foram suficientes para o desenvolvimento das plantas, e o recipiente de 200 ml obteve ligeira vantagem, apenas visual. Nos resultados de KRIZEK et alii (1985), com plantas de *G. max*, encontraram redução na expansão foliar somente quando as plantas foram cultivadas em volumes de substrato que restringiam o volume da zona radicular.

Quadro 12. valores médios para a AF de plantas de 'amora-preta' nas condições de casa-de-vegetação, para substratos dentro de tamanho e formas de recipientes. ESAL, Lavras, MG. 1991.

Subs\RECEP.	25	50	100.	200 (ml)
MISTURA	8,49 B	5,75 B	8,56 B	7,88 C
COMPOST.	9,98 AB	13,91 A	12,30 A	14,72 A
C.ORG.COMC.	12,66 A	11,98 A	12,00 A	12,86 B
VERMICULITA	11,21 AB	6,46 B	6,32 B	7,33 C
DMS =	3,06821			

As médias com a mesma letra na vertical não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5%.

O quadro 12 apresenta o efeito do desdobramento do substrato dentro de recipientes. Os substratos minerais 'M' e 'V' foram inferiores e não diferindo nos recipientes a partir de 50 ml de volume de substrato, os substratos orgânicos 'COC' e 'C' mostraram superiores e pela figura 9, observa-se que esses obtiveram as maiores médias, daí a importância dos substratos com alto teor de matéria orgânica e nutrientes, conseqüentemente de nitrogênio na elongação foliar e no desenvolvimento das plantas.

EZEQUIEL (1980), trabalhando com plantas de café no viveiro; e usando composto com esterco de curral, obteve uma

média de 255 cm^2 de AF enquanto os tratamentos na ausência de composto a média foi de $128,2 \text{ cm}^2$. Resultados similares foram obtidos por BOON & NIELS, (1985), registrando que somente o teor de nitrogênio dos substratos orgânicos proporcionaram melhor crescimento das plantas de coníferas comparadas com as crescidas no substrato padrão, permitindo desenvolver as associações de microrganismos que auxiliam as plantas.

Também os enunciados de PONDS (1983) que as fontes mais comuns de macro e micronutrientes são os adubos orgânicos, que não se deve levar em consideração somente estes valores, mas que o seu efeito sobre o substrato, como: processos microbianos, aeração, melhora da estrutura e capacidade de retenção da água e a regulação da temperatura do meio. A compostagem obteve as melhores respostas, mostrando que o substrato mais rico permite com que as plantas se desenvolva as funções fisiológicas em melhores condições e como consequência, pode-se deduzir que a área foliar respondeu muito bem aos altos teores de nutrientes dos substratos orgânicos (Figura 9).

No quadro 2 Ap, observa-se que a idade de enraizamento da espécie 'amora' 'in vitro' recebeu ajuste linear, para AF, mostrando que após aos 17 dias, as plântulas ainda estavam em pleno desenvolvimento no interior do tubo. O mesmo comportamento foi mostrado por CONCEIÇÃO (1983), trabalhando com plantas jovens de seringueira em casa-de-vegetação, onde a AF aumentou linearmente com a idade das mudas, e recebeu ajuste linear quando as plantas passavam por um estresse de água, e ajuste quadrático quando não sofria nenhum estresse.

4.4.3. PESO DA PARTE AÉREA VIVA (PPAV)

O resumo das análises de variância encontra-se no quadro 10, observa-se que o tamanho do recipiente não contribui para o desenvolvimento da parte aérea.

No Quadro 3 Ap nota-se que os fatores de tempo responderam linearmente, concordando com os resultados de KVET et alii (1971), que encontraram resposta linear para o PPAV com o decorrer do tempo, até na época de floração, desde que tenha as condições mínimas necessárias. O mesmo aconteceu com trabalhos de KRAMER (1983), com *Camellia sinensis*, que mudou o comportamento linear com o passar do tempo, quando se provocou estresse hídrico no solo. O efeito do desdobramento da interação, época de coletas dentro dos substratos foi de ajuste linear para todas as épocas de coletas e o mesmo para as idades de enraizamento das plantas.

Quadro 13. Valores médios para PPAV das plantas de 'amora-preta', nas condições de casa-de-vegetação, ESA1, Lavras- MG. 1991.

Substrato/idade	1-3	7-10	15-18 (dias)
MISTURA	37,59 B	66,02 B	82,29 C
COMPOSTAGEM	59,75 A	93,20 A	125,85 A
C.ORG.COM.	47,88 A	83,10 A	104,23 B
VERMICULITA	34,47 B	52,46 B	67,25 D
DMS	= 14,3352		

As médias seguidas da mesma letra na vertical não diferem entre si, pelo teste Tukey a 5 % de probabilidade.

O quadro 13 mostra o efeito do desdobramento de substrato dentro das idades de enraizamento, observa-se em todas as idades que a compostagem proporcionou maior aumento no peso da massa verde das plantas em todos tratamentos, demonstrando, que substratos ricos proporcionam maiores produções de massa nas plantas de 'amora', devido ao equilíbrio de macro e micronutrientes

apresentado por este. Porém, segundo OZANNE (1980), é comum encontrar menos PPAV nas plantas crescidas em substrato com deficiência de N e P, principalmente. Porém, (SKOLMEN & GOO, 1986), citado por (SOUZA, 1991) que estudando o efeito de 11 substratos diferentes no crescimento e germinação de *Eucalyptus saligna*, encontraram como melhor tratamento a mistura de turfa + vermiculita na proporção de 2:1.

Pela Figura 10, observa-se que a massa verde das plantas obteve maiores valores da PPAV nos substratos orgânicos, e o pior para a vermiculita. Os dados obtidos concordam com os relatos de UIQUIAGA et alii (1982), os quais salientam que matéria orgânica, ao melhorar a estrutura do solo, contribui com o desenvolvimento das plantas, citado por TOURINO (1990). Esses resultados concordam com EZEQUIEL (1980), que trabalhando com mudas de *C. arabica*, em casa-de-vegetação, obteve aumento crescentes do PPAV com doses crescentes de adubação orgânica junto com os substratos utilizados, e a testemunha ficou com o menor valor de PPAV.

4.4.4. PESO FRESCO DA RAIZ (PFR)

Pelos resumos do Quadro 10 verifica-se que o PFR, não ocorreu interação entre os fatores avaliados; porém, ressalte-se que foi o único parâmetro em que o fator recipientes interferiu significativamente. No Quadro 3 Ap está esposto o comportamento para tamanho e forma de recipiente, mostrando ajuste linear, para o volume de substrato, conformes os relatos de SOUZA (1991), que obteve maior crescimento para as raízes das plantas de Crisântemo em casa-de-vegetação.

Referentes ao PFR, a análise dos fatores isolados obtiveram

ajuste linear com o passar do tempo (quadro 3 Ap). E ainda nota-se que, não ocorreu nenhuma interação dos fatores avaliados; então, para os fatores isolados valem os relatos de (BLAKE, 1979) que conclui ser este parâmetro muito criticado por diversos autores; porque sistemas radiculares de igual peso podem suportar partes aéreas diferentes, sendo as limitações encontradas por falta de métodos práticos para avaliação segura. O comportamento do sistema radicular não mostrou semelhanças com o da parte aérea, a probabilidade da planta desenvolver as raízes está relacionada com a partição dos fotoassimilados e as condições do meio encontradas pelas raízes. HAINING (1974) relata a importância da relação L/N para avaliar o enraizamento em estacas de Tomateiro, podendo o mesmo parâmetro ser considerado quando as plantas passam a sua autosuficiência. TURNER & BEGG (1981) sugerem que o crescimento das raízes sob estresses, pode ser favorecido em relação a parte aérea.

Quadro 14. Valores médios para o P.F.RAIZ das plantas de 'amora-preta', nas condições de casa-de-vegetação para diferentes volumes dos recipientes avaliados. ESAL, Lavras - MG. 1991.

RECIPIENTE	25	50	100	200 (ml)
MÉDIA	710,3 B	722,1 B	752,3 A	755,9 A
DMS = 16,4802				

As médias com a mesma letra não diferem entre si pelo teste Tukey a 5%.

Pelo quadro 14, observa-se que o recipiente de 100 ml de volume de substrato foi igual ao de 200 ml de volume, ou seja, 100 ml de volume é um tamanho ideal para o crescimento das raízes e desenvolvimento das plantas na fase de aclimação.

Pela Figura 10 mostra-se que o substrato que mais contribuiu no peso de raízes foi a compostagem, seguida do composto or-

gânico comercial, e os substratos minerais não diferiram entre si ficando com o pior peso de raízes, esses resultados alcançados concordando-se com os relatos de (RODRIGUES, 1990), que com a adição de compostagem orgânica de alto nível de P e N, proporcionaram melhor crescimento do sistema radicular em relação aos adubos minerais que aumentam a acidez do solo, dificultando o desenvolvimento das raízes. Isso foi verificado no presente trabalho, pois nos substratos mais ricos em nutrientes e com maior teor de matéria orgânica, as plantas desenvolveram mais o sistema radicular, podendo ter ocorrido maior equilíbrio da flora microbiana, segundo SMITH et alii (1986).

Concordam também com os resultados GOWIN & WALKER (1977), que observaram melhor crescimento das plantas jovens de *L. tulipifera* L. e *C. florida* L. quando se misturava ao solo arenoso a compostagem, melhorando o crescimento radicular, e a absorção de água, no entanto, Carvalho (1989), observou que foi a vermiculita que deu efeito favorável a retirada das mudas de *Eucalyptus saligna*, em bandeja de isopor, então para avaliar-se o melhor, deve-se considerar o objetivo. Sabendo que alguns autores citam que a deficiência de nutrientes, ou mesmo o desbalanceamento nutricional na vermiculita, chega a ser limitante, uma mistura seria ideal para as condições de crescimento e desenvolvimento radicular das plantas.

4.4.5. RELAÇÃO DE PESO (PPAV/PFR)

No quadro 10, está o resumo das análises de variância para a relação de peso PPAV/PFRaiz, onde nota-se que ocorreu influencia dos fatores avaliados, menos para tamanho de recipiente. Segundo

AUNG (1974), esse parâmetro mostra a distribuição de fotossimilados pela planta, uma vez que, parte aérea e sistema radicular estão em constante competição pelas substâncias assimiladas ou sintetizadas pela planta que são necessárias ao desenvolvimento. Esta relação pode servir como base para identificação dos fatores ambientais e químicos que influenciam o crescimento e desenvolvimento das plantas.

A relação de peso obtida nesse trabalho não foi constante no passar do tempo, mostrou-se o franco desenvolvimento das plantas que aclimataram-se; e o fator idade de enraizamento recebeu ajuste linear decrescente. (Quadro 04 Ap). Isso concorda com os resultados de (GOODWIN & WALKER, 1977), que encontrou o mesmo dinamismo em *L. perene*, quando as plantas cresceram normalmente, pois, ao sofrer um estresse na fase de crescimento, ocorre um aumento crescente da relação PPA/PSR. (OZZANE, 1980) relata que nos seus trabalhos de nutrição, a deficiência de P nos substratos levou a menor desenvolvimento da PA e conseqüentemente ao aumento da relação de peso PA/SR. No presente trabalho não foram verificadas diferenças na relação de peso, para os recipientes; isso aconteceu devido às plantas terem conseguido crescer normalmente em todos os recipientes utilizados porque para o dinamismo das raízes ocorreram diferenças pequenas quanto ao tamanho do recipiente (quadro 16). Mas, como a relação não variou, significa que a parte aérea cresceu proporcionalmente. Isto concorda com relatos de (TUNNER & BEGG, 1984) que encontraram variação crescente da relação PPA/PR, para as plantas que apresentam prevenção contra estresse, principalmente provenientes com a estação seca.

Pela figura 9 observa-se que ocorreu uma similaridade entre a relação de peso, o mesmo aconteceu nos trabalhos de FERREIRA (1977), que ao avaliar 6 espécies de florestais em condições de viveiro, concluiu que as respostas foram devidas mais aos tratamentos do que propriamente à espécie.

Somente o substrato mistura obteve uma relação diferente, e maior, ou seja, mais crescimento da parte aérea em relação ao sistema radicular, e desenvolveu menos a parte radicular em comparação aos outros substratos. Isso se deve ao substrato ter apresentado alguma propriedade física ou química que dificultou o bom crescimento das raízes, daí a relação ter sido tão afastada de 1. A mistura tradicional, por ser o substrato mais denso, dificultou o crescimento das raízes, daí a maior relação de peso, embora que, a sua parte aérea não fora a de maior desenvolvimento em relação aos demais.

4.4.6. MATÉRIA SECA TOTAL (MST)

Pelo resumo das análises de variância no Quadro 10, observa-se que o acúmulo de MST foi influenciado por todos os fatores, exceto para o tamanho de recipientes. Pelos relatos de FAÇANHA (1983), um dos melhores meios de avaliar o crescimento de uma espécie vegetal é através da quantificação do acúmulo de MST, pois, sempre o acúmulo é afetado pelos diversos fatores que têm sido testados. Nesse experimento aconteceu a interação tripla dos fatores (SxIxE); o efeito do desdobramento dos fatores de tempo mostrou ajuste linear com o decorrer do tempo, que não foi diferente dos demais parâmetros físicos avaliados, Quadro 6 Ap.

[REDACTED]

Muitos autores revelaram que ajustes lineares para o acúmulo de MS nas diversas partes da planta, são consequência de avaliações efetuadas em períodos de estudo geralmente muito curtos, quando comparados com o ciclo de vida das espécies.

Quadro 15. Valores médios para MST da espécie 'amora-preta' nas condições de casa-de-vegetação, ESAL, Lavras- MG. 1991.

SUBST\ÉPOCA	20	25	30	35 (dias)
MISTURA	93,6 C	167,1 C	206,3 C	292,7 C
COMPOSTAGEM	154,4 A	237,1 A	328,5 A	412,1 A
C.ORG. COM.	117,1 B	226,1 B	282,2 B	358,0 B
VERMICULITA	151,1 C	151,1 D	211,8 D	239,5 D
DMS = 9,21002				

As médias seguidas da mesma letra na vertical, não diferem entre si, pelo teste Tukey a 5 % de probabilidade.

O quadro 15 mostra os valores das médias e seus respectivos conceitos para os substratos dentro das épocas de coletas, que foi o fator de maior amplitude nos parâmetros avaliados. Ainda pode-se observar que para o acúmulo de MST, o comportamento não se alterou nas épocas (Quadro 6 Ap), ou seja, o melhor composto foi melhor desde o início, propiciando às plantas a ter maior desenvolvimento. Esses dados são coerentes com relatos de RAC (1985), que afirma ser ótimo o uso da adição de substratos com compostagem para proporcionar maior aeração e retenção da água, para que as plantas não sofram deficit hídrico, além de estabilizar a estrutura do solo, e que para cada espécie existe uma combinação adequada.

Pela figura 9 observa-se que o substrato 'C' (compostagem) foi o melhor na produção de MST, seguido pelo 'C.O.C' seguido de 'M'; a vermiculita apresentou a pior quantidade, nas condições de casa-de-vegetação. Pelos valores dos dados da MST das plantas

nas condições naturais de casa-de-vegetação, ao serem correlacionados com a tolerância das mesmas, mostrou ser um bom parâmetro para avaliar a aclimatação das plantas 'ex-vitro'. Também EZEQUIEL (1980), encontrou maiores incrementos e diferenças em todos parâmetros físicos avaliados nas mudas de café em vasos, com o uso de compostagem como substrato rico em nutrientes com alto teor de matéria orgânica, permitindo um melhor desenvolvimento das plantas..

Os valores alcançados neste trabalho e apresentados na Figura 9. concordam com (NODARI et alii, 1984), que relataram a necessidade da adição de 20 % no mínimo, de adubos orgânicos, adequadamente decompostos, para a formação de mudas de *Schizolobium* e *Didymopanax* e, citam ainda, que com isto, o tempo de formação das mudas foi reduzidos. Com base nos valores obtidos para a MST (Quadro 15), ficou claro, que este é um parâmetro importante também para avaliar o desenvolvimento de plantas durante a fase de aclimatação, nas condições de casa-de-vegetação, pois DESJARDINS et alii (1987), relatam que as plantas estão aclimatadas e prontas para serem conduzidas ao local definitivo quando atingirem o mínimo de 300 mg de MST. A média do presente trabalho chegou a 223 mg, sendo que na época 4 (35 dias pós transplantio) chegou a 325,4 mg /planta. Isso mostra que são bons estes resultados, ou seja, nesse estágio as plantas já podem sair para o local definitivo.

5. CONCLUSÕES

1. Parâmetros endógenos das plantas foram de grande interesse, pois todos apresentaram diferenças entre os tratamentos.

2.- Nas condições "in vitro": a) As plântulas apresentaram queda no teor de MST com decorrer do tempo, e mesmo assim, mostraram teores altos (20%). b) O teor de MST não deve ser considerado como fator único da avaliação de aclimação. c) Os teores de celulose e lignina foram superiores para as espécies de fácil aclimação, podendo ser considerados bons indicativos da tolerância a estresses. Não houve diferenças no teor de hemicelulose com os diferentes graus de aclimação.

3. Nas condições "in vivo" em (casa de vegetação):

- Parâmetros Físico-Químicos: Todos os parâmetros físico-químicos avaliados apresentaram diferenças entre os fatores estudados, sendo que, o número de folhas e o percentual de MST foram os que mais diferiram; obtiveram maiores influências frente aos fatores e as interações dos fatores. As plântulas apresentaram acréscimo no teor de MST com o tempo. E o que menos diferiu foi o peso fresco de raízes; porém, foi importante para analisar formas e tamanho de recipientes. E o teor de lignina foi o que mais se destacou e recebeu os mesmos conceitos da sobrevivência.

-Quanto aos fatores avaliados: Houve significância da forma e tamanho de recipientes, somente para a massa de raízes.

. A idade de enraizamento "in vitro" é um fator importante, pois, houve significância em todos os parâmetros e até os 17 dias (idade 3), nenhum sintoma de deficiência foi registrado nas condições de casa-de-vegetação. A época de colheita apresentou

ajuste linear para quase todos os parâmetros estudados.

. Os substratos com alto teor de matéria orgânica, especialmente o composto produzido pela ESAL, foram superiores para os parâmetros físicos. O teor de hemícelulose foi maior em presença de vermiculita, enquanto o de celulose teve índices similares em todos os substratos testados.

. Os conceitos pré-estabelecidos com relação a aclimação: 'amora' e 'batata' (A), mandioca (B) e pau-santo (C), foram confirmados no experimento. E os fatores estudados não afetaram o índice de sobrevivência, por ser, certamente, uma característica intrínseca de cada espécie.

RESUMO

ACLIMAÇÃO DE PLANTAS PROVENIENTES DA CULTURA 'IN VITRO'

O objetivo do presente trabalho foi obter informações sobre a aclimação de plântulas desenvolvidas 'in vitro', das espécies: *Rubus idaeus*, *Ipomoea batatas*, *Manihot esculentum* e *Kilmeyera coreacea*.

O experimento foi conduzido no laboratório de cultura de tecidos da ESAL, no período de janeiro a julho de 1990. O delineamento experimental utilizado foi um DIC, em parcelas subdivididas no tempo, com 3 repetições. Os tratamentos constaram de espécies e idade de enraizamento para as condições 'in vitro' e, nas condições de casa-de-vegetação foram: tamanho de recipientes, substrato, idade de enraizamento e épocas de coletas.

As características avaliadas foram: teores de MST, lignina, hemiceluloses, celulose nas condições 'in vitro', e os teores de MST, celulosas, lignina e hemiceluloses nas condições de casa-de-

vegetação. Também, os seguintes parâmetros físicos: NF; AF; PPAV; PFR; PFA/PFR e a MST foram avaliados.

Os parâmetros endógenos (celulose, lignina, Hemiceluloses e MST), avaliados nas plântulas de 'in vitro' foram de interesse, para a aclimação, devido todos terem apresentado diferenças entre os tratamentos e, com isso dando resposta na aclimação.

As espécies que aclimataram nas condições propostas, apresentaram os maiores teores de tais substâncias, durante o período que permaneceram 'in vitro'. Os parâmetros físicos avaliados sofreram influência dos fatores estudados, e apenas o NF não diferiu entre os tratamentos.

Os recipientes de 100 ml e bandeja de isopor sem divisórias, foram melhores para desenvolver as raízes. A vermiculita produziu maior teor de hemicelulose nas plantas que aclimataram-se e para o acúmulo de MST, os substratos não apresentaram diferenças, embora os substratos orgânicos propiciaram melhor aspecto e desenvolvimento vivo das plantas. As espécies aclimatadas não diferiram, no teor de celulose tanto 'in vitro' como 'in vivo'. A 'amora' foi semelhante a 'batata-doce' no teor de hemicelulose, nas condições 'in vitro', não diferindo após a aclimação. O teor de MST nas condições 'in vitro' foi superior e decresceu ao passar para as condições naturais. O teor de lignina nas plântulas apresentou ótima relação com a tolerância da planta para aclimatar-se, enquanto que o índice de sobrevivência das plântulas sofreu variação apenas da idade 1 (3 dias) de enraizamento, sendo a sobrevivência considerada, como uma característica de cada espécie.

SUMMARY

ACCLIMATIZATION of PLANTS PRODUCED by CULTURE "IN VITRO"

The purpose of the present work was to obtain information on the acclimatization of plants development 'in vitro', of the species (*Rubus idaeus*), (*Ipomoea batatas*), (*Manihot esculentum*) and (*Kilmeyera coreacea*). This work was conducted in the laboratory of tissues culture of the Department of Agriculture at Esal, Lavras - MG, from January to July in 1990. The experimental design used was completely randomized, in split-plot in time, with 3 replications. Species, age of rooting were the treatments in the essays carried out under glass-house conditions.

The evaluated characters in vitro essays were: TDM, cellulose, hemiceluloses and lignin contents. In natural conditions, the characters considered were TDM, cellulose and hemiceluloses contents. In addition, physical parameters; LN - LA - FWAP - RFW - FWAP/RFW and DM building up were also considered in this work.

Assessing cellulose, hemicelulose, lignin and TDM contents in the present work was of great interest because all of them presented differences among the treatments in terms of acclimatization.

The species which showed response to acclimatization, under the proposed conditions, presented the higher contents of these substances in the 'in vitro' essays. The physical parameters evaluated were influenced by the factors studied, except LN which showed no difference among the treatments.

The 100 ml containers and isopor trays with no internal division, provided better conditions for root development. Higher content of hemicelulose was produced by weathred plants grown on vermiculate substrate. Although the organic substrates provided better aspect and living development of the plants no difference was observed among substrates with regard TDM accumulation. In terms of cellulose content no difference was noted among the adapted species. With regard hemiceluloses content there was no difference between 'mulberry' and 'sweet-potato' under 'in vitro' conditions.

'In vitro' conditions the TRM content was higher and had a drop under natural conditions. The lignin content in the seedlings presented good relation with plant tolerance to acclimatization, whereas the surviving index of the seedlings showed variation only at the 3rd day of rooting age. Thus the survival was considered a characteristic of each specie.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICA

- ALBERSHEIM, P. NEVIS, D.J.; ENGLISH, P.D. & KARR, A. A method for the analysis of sugars in plant cell-wall polysaccharides by gas-liquid chromatography. *Carbohydrate Research*, Amsterdam, 5:340-45, 1967.
- ----- . The walls of growing plant cells. *Scientific American*, New York, 232:81-9, 1975.
- AKIYAMA, Y. & KATO, K. An arabinoxyloglucan from extracellular polysaccharides of suspension-cultured tobacco cells. *Phytochemistry*, Elmsford, 21:2112-14, 1982.
- ARIZA, D. *Ecologia Objetiva*, 6ed. São Paulo. Nobel, 1967, 225 p.
- ASTON, M.J.; GROUT, B.W; & MILLAN, S. Photosynthetic development of micropropagated strawberry plantlets following transplanting. *Annual Botany*, S.l., 55:129-31, 1985.
- AUNG, L.H. Root-shoot relationship. In: CARSON, E.W. The plant root and its environment. Charlottesville. Univ. Press of Virginia, 1974. p. 29-61. *
- BAILEY, R.W. Quantitative studies of ruminant digestion. II. Loss of ingested plant carbohydrates from the reticulo rumen. *New Zeland Journal Agricultural Research*, Wellington, 10:15-32, 1967.
- BAKER, J. C.; WHALEN, C. H.; KORMAN, R. Z. & BATEMAN, D.F. α -L-Arabinofuranosidade from (*Sclerotinia sclerotiorum*): Purification characterization and effects on plant cell walls and tissue. *Physiology and Biochemistry*, New York, 69 (8):789-92, 1979.
- BALLONI, A.; SIMÕES, J.W. & SILVA, A.P. Condução de touças de eucalipto. *Silvicultura*. São Paulo, 2(14):87-89, 1978.
- BARRET, J.E. & NELL, T.A. Water potential measurements for vegetative (*Poinsettia* ssp.) *Journal of the American Society for Horticultural Science*, Mount, 111(5):773-76, 1986.
- BARRICHELO, L.E.G. & BRITTO, J. O. Potencialidade de espécies tropicais de eucalipto para produção de celuloses sulfato branqueadora. IPEF. Curitiba, (13):9-37. 1976.
- BAUER, W. D.; TALMADGE, K.W.; KEEGSTRA, K. & ALBERSHEIM, P. The structure of plant cell walls. *Plant Physiology*, Washington, 51:174-87, 1973.

- BAYDOUN, E.A.H. & FRY, S.C. The immobility of pectic substances in injured tomato leaves and its bearing on the identity of the wound hormone. *Planta*, Berlin, **165**:269-76, 1985.
- BIDWELL, R. G. S. Protein synthesis and turn over in cultured plant tissue: sources of carbon for synthesis and the fate of the protein breakdown products. *Nature*, London, **203**, (44943):367-73, 1974.
- BIGGS, A. R. Prediction of lignin and suberin deposition in boundary zone tissue of wounded tree bark using accumulated degree days. *Journal of the American Society For Horticultural Science*, Alexandria, **111**(5):751-57, 1986.
- BLAKE, T.J. Coppice system for short-rotation intensive forestry: The influence of cultural, seasonal and plant factors. *Australian Forestry research*, Sidney, **13**:279-91, 1983.
- BOLWELL, G. P. Synthesis of cell wall components: Aspects of control. *Phytochemistry*, Elmsford, **27**(5):1235-53, 1988.
- BOON, J. & NIELS, H. Use of Back onf of sad on cuttings from moorland vegetations in potting mixtures. *Acta Horticultural S. I* (172):55-65. 1985
- BOOYSEN, P.V. & NELSON, C.J. Leaf area and carbohydrate reserve in regrowth of Tall Fescue. *Crop Science*, Madison, **15**(2):262-66, mar-apr., 1975.
- BURKE, D.; KAUFMAN, P.; McNEIL, M. & ALBERSHEIM, P. The structure of plant cell walls. VI. A survey of the walls of suspension-cultured monocotyledones. *Plant Physiology*, Washington, **54**:109-15, 1984.
- CAMPINHO Jr, M. C.; IKEMORI, Y.K. & MARTINS, F.G.G. Introdução de nova tecnica na produção de mudas de essencias florestais. *Silvicultura*, São Paulo, **8**(28):226-8, 1983.
- CARVALHO, P.L.T. de. Interação genótipo X ambiente em clones de (Eucalyptus grandis) Hill ex. Maiden. Viçosa, UFV. Jul/ 1984 74 pág. (Tese M S)
- CARVALHO, P.L.P.T. de, Interação X genótipo em clones de Eucalyptus grandis Hill ex. Maiden. Viçosa, UFV. 1982. 74 p. (Tese MS).
- CHU, A.C.P.; McPHERSON, H. G. & HALLINGAN, G. Recovery growth following water deficits of different duration in prairie grass. *Australian Journal of Plant Physiology*, East Melbourne, **6**:255-63, 1979.
- CONCEIÇÃO, H.E.O.da. Avaliação fisiológica de clones de Seringueira (hevea brasiliensis Mall. Arg.) submetidos a diversos

- regimes hídricos. Viçosa, UFV. 1983. 80 p. (Tese MS).
- COUTINHO, M. & CARVALHO, E. J.M. Caracterização das propriedades de alguns substratos para a propagação de mudas. Bragantia, Campinas, 14:167-76, 1983.
- DANSERAU, P. O equilíbrio do mundo moderno. In: Dorst, J. Antes que a natureza morra. São Paulo, Edgar Blucher, 1973 p 1-17.
- DESJARDINS, Y.; GOSSELIN, A. & YELLE, S. Acclimatization of ex vitro strawberry plantlets in CO₂-environments and supplementary lighting. Journal American Society Horticultural Science, Alexandria, 112(5):846-51, 1987.
- DHAWAN, M. Acclimatization the plants. IN: PIERIK, R.L.M. In vitro culture of higher plants. Dordrecht, Martinus N. Publishers, 1987. v.1, cap.15, p. 183-192.
- DIAS, J.C. Permeabilidade da casca da semente do cacau ao ácido acético: Evolução na fermentação e efeito na adição de celuloses, antes da secagem, na acidez do produto final. Lavras, ESAL, 1987. 92 p. (Tese MS).
- DIAS FILHO, M.B. Efeito do estresse hídrico em algumas respostas morfológicas de *Panicum maximum* Jacq. cv Tobiantã. Piracicaba, USP, 1986. (Tese MS).
- DUBOIS, M.; GILLES, K.A.; HAMILTON, J.K.; REBERS, P.A. & SMITH, F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. Analytical Chemistry, Washington, 28 (3):350-5, Mar. 1956.
- DUNSTAN, C. & TURNER, K.E. The acclimatization of micropropagated plants. In: VASIL, I.K. Cell culture and somatic cell genetics of plants, New York, Academic, 1984, p. 123-29.
- ELAM, W. W. & KOELLING, H. A. Some biological and engineering design aspects of a coated clay containers. Proceeding, Denver Great Plains Agricultural Council. 136-9. 1974.
- ESAU, K. Plant anatomy, New York, John Wiley & Sons, Toronto, 1964, 767 p. cap.3, p. 33-65.
- EZEQUIEL, A. C. Efeitos da adição de Boro e Zinco ao substrato no desenvolvimento de mudas de Cafeeiro (*Coffea arabica* L.), Lavras, ESAL, 1980. 72 p. (tese MS).
- FACANHA, J. G. V. Aspectos fisiológico do crescimento de *Eucalyptus* spp., submetidos a deficiência hídrica, Viçosa, UFV, 47 p. 1983. (Tese MS).
- FERREIRA, M. G.M. Efeito do substrato na produção de mudas de quatro espécies Florestais Nativas. Viçosa, UFV, 42 p. 1972.

- FORD, E. B. **Genética e adaptação**. S. Paulo, ed. Universitária de São Paulo, v. 9, 1980. 69 p.
- **Ecological genetics**, Chapman & Hall, London, 1975.
- FREITAS, J.R. de, et al. Aplicação de matéria orgânica, vermiculita e inoculação de *Rhizobium* spp. em sementes de *Erythrina falcata* IPEF Piracicaba, (20):101-13. Jul/1.980
- FREY-WYSSLING, A. The cell wall. IN: ESAU, K. **Plant anatomy**, New York John Wiley & Sons - Toronto, 1964, cap. 3, p. 45-48.
- FRY, S.L. Cross-linking of matrix polymers in the growing cell walls of angiosperms. **Annual Revision Plant Physiology**, Palo Alto. 37:165-85, 1986.
- GARNIER H. Historia natural. Paris, ed. melhoramento, 530 p.
- GOLDBERG, R.; LÉ, I. & LATESSON, A. M. Localization and properties of cell wall enzyme activities related to the final stages of lignin biosynthesis. **Journal of Experimental Botany**. London. 36(164):503-10. Mar/1985.
- & FRY, S.L. Changes in the properties of the cell wall pectin methylesterase along the (*Vigna radiata*) hypocotyles. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, 61:58-63, 1984.
- GOMES, W.R. & PACHECO, E. Composto orgânico, Lavras, ESAL, 1988. 11 p. (Boletim técnico n. 11).
- GOMIDE, J.A. & ZAGO, C.P. Crescimento e recuperação do capim colônio, após o corte. **Revista da Sociedade Brasileira de zootecnia**, Viçosa, 9(2):293-05. 1980.
- GOODWIN, P.B. & KIM, J.C. Pragation of potato by shoot tip culture. II. Rooting of proliferated shoots. **Potato Research**. wageningen, 23:19-24, 1980.
- GOODWIN, P.B. & WALKER, H.G. Planta propagation by tissue culture. Handbook and directory of commercial laboratories. Eversley, Exegetics, 1984., 709 p.
- GOULD, J.M. Characterization of lignin in situ by photoacoustic spectroscopy. **Plant Physiology**, Washington, 72:1521-25. 1982.
- GROUT, B. W.W.; ASTON, J. M. & MILLAN, S. Photosynthetic development of micropropagated strawberry plantlets following transplanting. **Annual Botany**, Chigago, 55:129-31, 1985.
- GROUT, B.W.W. & ASTON, M.J. Transplanting cauliflower plants regenerated from meristem culture. I. Water loss and water transfer related to changes in leaf wax and to xilem

regeneration, *Horticultural Research*, S. 1., 17:1-7, 1977.

- GROUT, B. W.W. Wax development on leaf surfaces of (*Brassica oleracea*) var. Cunawong regenerated from meristem culture. *Plant Science Letters*, Amsterdam. 5:401-05, 1975.
- HAINING, W. A. T. The contribuicion of plant introduction to posture development crithe tropical Queensland. *Tropical Grassslands*, S.1. 6:191-99. 1974.
- HANFORD, P.T. Patterns of variation in a number of genetic systems in (*Maniola justina*) the boundacy region. *Proceeding Royal society Botany*, London, 183:265-84, 1973.
- HAYASHI, T. Xyloglucans in the primary cell wall. *Annual Reviw Plant Physiology Plant Molecular Biology*, 40:139-68, 1989.
- HSIÃO, T.C. Plant responses to water stress. *Annual Reviw Plant Physiology*, Palo Alto, 22:519-70, 1973.
- ----- & AZEVEDO, A. M. O efeito da água no crescimento e produção de vária s gramineas forrageiras. *Revista Ceres*. 18(12);108-13. 1973.
- HITCHIE, J. T. Water dynamics in the Soil-plant-atmosfere . *Plant and Soil*. The Hague, 58:81-96. 1981.
- KIMO, J.W. Aspectos químicos da madeira de *E. grandis* W. ex. Maiden. Visando a produção de polpe-celulósica. Viçosa, UFV. Impr. Universitária, 1980 - 45p. (tese MS).
- KOZLOWSKI, T.T.; SATO, J. & GUNN, C.R. Water supply ade Tree growth. Parth I water deficits. *Forestry Abstracts*. Oxford, (43):57-95, 1980.
- KRAMER, P. J. Water relations of plants. Academic Press. New York. 1983. 489 p.
- KVERT, J. & MARSHALL, J.K. Anerment of leaf area and other assimilating plant surface. In: SESTAK, Z.; CATSKY, J.S. & JARVIS, P.G. Plant photossistatic production. The Hagree, 1971. p. 517-55.
- ----- ; ONDOCK, J. P.; NECAS, J. & JARVIS, P.G. Methods of growth analysis. In: SESTAK, Z.; CATSKY, J.Q. & JARKINS, P. G.(eds.) Plant photosynthetic production. Manual of Methods. Haia, Dr. W. Junk, New Iork Publishers, 1971. p. 343-91.
- LAMPOR, D.T.A. Cell wall metabolism. *Annual Reviw of Plant Physiology*, Palo Alto, 21:235-70. 1970.

- LEGRAND, B. Action de la lumière sur les peroxidases et sur la teneur en composés phénoliques de tissus de feuilles de *Cichorium intybus* L. cultivés 'in vitro'. *Biochemistry the Plant*, New York, 19(1):27-33, 1977.
- LEVITT, J. *Responses of plants to environmental stress*. New York, Academic Press, 1980, v.2, 607 p.
- MASUDA, T. & YAMAMOTO, Y. Effect of the structure of hemicelluloses of avena coleoptiles. *Plant and Cellular Physiology*, Tokio, 21:373-81, 1980.
- MATSUMOTO, T. J. & ASADA, M.Y. Formation of lignin in the root tissue of Japanese radish affected by *Alternaria japonica*. *Phytopathology*, St. Paul, 57:1339-43, 1967.
- MOHAPATRA, S.S.; POOLE, R.J. & DHINDSA, R.S. Cold acclimation, freezing resistance and protein synthesis in Alfalfa (*Medicago sativa*, L.) cv. Saranac. *Journal of Experimental Botany*, London, 38(195):1697-03. Out/1987.
- MURASHIGE, T. & SKOOG, F.A. A revised medium for growth and bioassays in tobacco tissue cultures. *Physiology Plantarum*, Copenhagen, 15(3):173-97, 1962.
- NETTING, A.G.; MILBORROW, B.V. & DUFFIELD, AM. Determination of abscisic acid in *Eucalyptus haemastoma* leaves using gas chromatography/mass spectrometry and deuterated internal standards. *Phytopathology* Elmsford. 21:385-89. 1982.
- NODARI, R. O. Characteristics the plant cell walls elicits phytoalexins. *Plant Physiology*, Baltimore, 71:916-26, 1983.
- OZZANE, P.G. Phosphate nutrition of plants - a general treatise. In: KHASASWNEH, F.E.; SAMPLE, E.C. & KRMPRATH, E.J. The role of phosphorus in agriculture. American Society Agronomy. 1980. p. 559-89.
- PIERICK, R. L. M. In vitro culture of higher plants. Dordrecht, Martinus New Publishers, Dordrecht, 1987, p. 283-292.
- PLAYNE, M.J. Increased digestibility of bagasse by pretreatment with alkalis and steam-explosion. *Biotechnology and Bioengineering*, S.l. 26:426-33, 1984.
- POND, A.L. Fontes e usos da matéria orgânica, *IPAGRO Informa*, Porto Alegre, (26):111-47, 1983.
- RAC, D. P. Disponibilité en eau des substrats horticoles. *Revue Science de Verticulture Arboriculture Horticultural*, Paris, 17(3):177-78, Mai/Juin. 1985.

- RASCHKE, K. & ZEEVART, J.A.D. Abscisic acid content, transpiration and stomatal condutance as related to leaf age in plants of (Xanthium strumarium L.). Plant Physiology, Baltimose, 58:169-74, 1976.
- REVILLA, T. & ZARRA, M. Changes in the molecular weight distribution of the hemicellulosic polysaccharides from rice coleoptiles growing under different conditions. Journal Experimental of Botany, London, 38(196):1818-25, 1982
- ROLAND, J.C. The relationship between the plasmalemma and plant cell wall. Internationa Revew Cytology, New York. 36:45-92, 1973.
- RODRIGUES, E. T. Efeito da adubação orgânica & mineral sobre o acúmulo de nutrientes e sobre a crescimento da alface. Viçosa, UFV, 1990. 60 p. (tese MS).
- KIM, et alii. A sycamore cell wall polysaccharide ride and a chemically related tomato leaf polysaccharide posses similar proteinase inhibitor-inducing activities. Plant Physiology. California, 28:616-18, 1981.
- SARHAN, F. & CHEVRIEK, N. Regulation of RNA synthesis by DNA-dependent RNA polymerases and RNAases during cold acclimation of alfalfa. Plant Physiology, Washington, 78:250-5 1975.
- SHEN, Z. Y. & LI, P.H. Induction of front hardiners in tomato leaves by short-term cold acclimation, HortScience, Alexandria. 18(5):730-32, 1983.
- SHIBUYA M. C. & WHEAT, N.T. Structural features of rice bean hemicelluloses, Phytochemistry, Etmsford, 19:285-89, 1985.
- SILVA, A.T. da.; PASQUAL, M.; PINTO, J.E.B.P. & AQUINO, W.H.de. Influência da desfolha, pré-aclimatação e do ambiente na aclimatação de plantas produzidas in vitro. In: CONGRESSO DA PÓS-GRADUAÇÃO DA ESAL, 2., LAVRAS, 1989. Resumos... ESAL. 1989. p.60.
- SILVA, V.F. Modificações bioquímicas e aparentes do processo de senescência em alface (Lactuca sativa, L.) durante o armazenamento. Viçosa, UFV, 1980. 39 p. (Tese MS).
- SIHACHAKR, P. & OSSE, A. Analyse du polymorphisme radical observe chez divers explants de Potate douce (Ipomoea batatas L.) mis en culture 'in vitro'. Phytomorphology. Delhi, 31(1/2):112-21, mai\June. 1981.

- SMITH, M.A.L.; PALTA, J.P. & McCOVAN, B. H. Comparative anatomy and physiology of microcultured, reedling and greenhouse grow. Asia White birch. American Society Horticultural Science, Madison, 111:437-42, 1986.
- SNEDECOR, G.H. & COCHRAN, W.G. Statistical methods, American the Iowa State Univ. Press, 1978, 593 p.
- SOUZA, L. H. Armazenamento de hastes porta-borbulhas de Seringueira (Hevea brasiliensis, Muell & Arg.), Lavras, ESAL, 1990. 60 p. (Tese MS).
- SOUZA, M.M. de. Efeitos de substratos com diferentes proporções, no cultivo em vasos de Chrysanthemum morifolium. Ramat, 'White Polaris'. Viçosa, UFV, 1991. 79 p. (Tese MS).
- SUTTER, E. G. & LANGHANS, R. W. Formation of epicuticular wax and its effect on water loss in cabbage plants regenerated from shoot-tip culture. Canada Journal of Botany. Toronto, 60:2896-2902. 1987.
- STEBBINS, G.L. Processos de evolução orgânica, São Paulo, ed. Polígono, 1970, 255 p.
- TOURINO, M.C.C. Injúria mecânica em tecidos das partes de duas cultivares de pessegueiro (Pinus persica) L. Batsch. Mecanismos de cura do ferimento. Lavras, ESAL. 1990 90 p.
- TUNNER, N.C. & BEGG, J. E. Crop water deficits. Advances in Agronomy The Hague. New York, 28:161-217. 1984.
- UCHIYAMA, M.; SATO & OGASAWARRA. Lignification and qualitative changes of phenolic compounds in rice callus tissues inoculated with plant pathogenic fungi. Agricultural Biology Chemistry, Japan, 47(1):1-10, 1983.
- WALLACE, B. Adaptacion, México, DF, UTEHA, 1975, 151 p.
- WALLACE, D.H. & MUNGER, H. M. Studies of the physiological basis of yield differences. IN: Growth analysis of six dry bean varieties. Crop Science, Madison, 5:343-48, 1967.
- WALLNER, S.J.; WU, M.T. & SARAH, J.A. K. Changes in extracellular polysaccharides during acclimation of cultured pear cells. Journal American Society for Horticultural Science, Mount, 11(5):769-73, 1986.
- WARDROP, A.B. The cell wall, IN: ESAU, K. Plant Anatomy, New York John Wiley & Sons, Toronto, 1964. p. 33-65.

- WHITEHEAD, D.C.; GOULDER, K.M. & HARTLEY, R.D. The distribution of nutrient elements in cell wall and other fractions of the herbage of some grasses and legumes. **Journal of the Science of Food Agriculture**, London, 36:311-18, 1985.
 - WARDLE, K.; DOBAS, E.B. & SHORT, K.C. In vitro acclimatization of aseptically cultured plantlets to humidity. **Journal American of the Society for Horticultural Science**. Alexandria, 108:386-89. 1983.
 - WHISTLER, A. & RICHARDS, E.L. In: PIGNAM, W. & HORTON, D., eds. The carbohydrates chemistry and biochemistry. New York, Academic Press, 1970. p. 447-69.
 - WILKE, K.C.B. The hemicelluloses of grass and cereals. In: TIP-SIN, R.S. & ROSTON, D., eds. **Advances in carbohydrate chemistry and biochemistry**, v. 36, Academic Press. London, 1979. p. 215-254.
 - VANCE, C.P. Lignification as a mechanism of disease resistance. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, 18:259-88, 1980.
 - VIANA, A. S. Aclimação e poda das folhas de mudas de caféiro visando sua adaptabilidade às condições de campo. ESAL, Lavras, 1981, 65 p. (Tese de MS).
 - ZIV, M.; MEIR, G. & HALEVY, A.H. Factors influencing the production of hardened glaucous carnation plantlets in vitro. IN: WITHERS, L. & ANDERSON, P.G. Plant tissue culture and its Agricultural application, 2, 1983. p. 55-65.
 - ZIV, M. & SHORT, K.C. In vitro acclimatization of aseptically cultured plantlets to humidity. **Journal American of the Society for Horticultural Science**, Mount, 108:386-89. 1986.
-

9. APÊNDICE

Quadro 01 Ap - Efeito do desdobramento da interação dos fatores de tempo, para o NF da espécie 'amora-preta' aclimatada. ESAL, Lavras, 1991

ANAVA	GL	QM	ANAVA	GL	QM
IDADE: E(1)	(2)	2.45 **	ÉPOCA: ID.(1)	(3)	4.799 **
RL	(1)	2.947 **	R.L.	(1)	14.364 **
R.Q.	(1)	2.647 **	D	(2)	< 1.0 NS
D	(1)	< 1.0 NS			
IDADE: E(2)	(2)	3.183 **	ÉPOCA: ID.(2)	(3)	6.712 **
R.L.	(1)	6.104 **	R.L.	(1)	18.615 **
D	(1)	< 1.0 NS	D	(1)	1.521 NS
			ÉPOCA: ID.(3)	(3)	3.997 **
IDADE: E(3)	(2)	1.89 *	R.L.	(1)	11.130 **
R.L.	(1)	3.274 **	D	(2)	< 1.0 NS
D	(1)	< 1.0 NS			
IDADE: E(4)	(2)	0.982 *			
R.L.	(1)	1.874 **			
D	(1)	< 1.0 NS			
RESÍDUO	283	0.1223			

* F significativo a 5 % e ** significativo a 1%.

Quadro 02 Ap - Efeito do desdobramento da interação dos fatores de tempo dentro do substrato, para AF da espécie 'amora' aclimatada.

ANAVA	GL	QM	ANAVA	GL	QM
ÉPOCA: SBT(1)	(3)	659.61 **	IDADE: SBT(1)	(2)	385.72 **
R.L.	(1)	1761.75 **	R.L.	(1)	739.87 **
D	(2)	217.11 NS	D	(1)	31.57 NS
ÉPOCA: SBT(2)	(3)	2037.22 **	IDADE: SBT(2)	(2)	436.74 **
R.L.	(1)	6037.98 **	R.L.	(1)	683.19 **
D	(2)	73.67 NS	D	(1)	190.38 NS
ÉPOCA: SBT(3)	(3)	2044.61 **	IDADE: SBT(3)	(2)	285.68 **
R.L.	(1)	6087.31 **	R.L.	(1)	523.23 **
D	(2)	46.53 NS	D	(2)	48.136NS
ÉPOCA: SBT(4)	(3)	568.73 **	IDADE: SBT(4)	(2)	273.72 *
R.L.	(1)	1672.56 **	R.L.	(1)	458.94 *
D	(2)	33.65 NS	D	(1)	88.49 NS
RESÍDUO	283	34.281	RESÍDUO	282	70.396

* F significativo a 5% e ** F significativo a 1% de probabilidade.

Quadro 03 Ap - Efeito do desdobramento da interação dos fatores de tempo dentro do substrato, para o PFFA da espécie amora-preta aclimatada em casa-de-vegetação. ESAL/1991.

ANOVA	G.L	QM	ANOVA	GL	QM
IDADE:SBT(1)	(2)	23682,19 **	ÉPOCA:S(1)	(3)	22205,39 **
R.L.	(1)	43750,42 **	R.L.	(1)	64231,84 **
D	(1)	3613,91 NS	D	(2)	2384,33 NS
IDADE:SBT(2)	(2)	17917,03 **	ÉPOCA:S(2)	(3)	50283,62 **
R.L.	(1)	35481,640**	R.L.	(1)	148614,50 **
D	(1)	352,45 NS	D	(2)	2236,33 NS
IDADE:SBT(3)	(2)	15042,02 **	ÉPOCA:S(3)	(3)	41237,25 **
R.L.	(1)	16179,83 **	R.L.	(1)	121971,40 **
D	(2)	13904,16 NS	D	(2)	1740,35 NS
IDADE:SBT(4)	(2)	6115,92 *	ÉPOCA:S(4)	(3)	11543,02 **
R.L.	(1)	12231,13 **	R.L.	(1)	33687,00 **
D	(1)	1 NS	D	(2)	942,04 NS
RESÍDUO	283	1611,112	RESÍDUO	282	998,128

* F significativo a 5% e ** F significativo a 1% de probabilidade.

Quadro 04 Ap - Desdobramento dos fatores: tamanho e forma de recipientes, substratos e época de coletas, para o PFR da espécie amora-preta-aclimatada em casa-de-vegetação. ESAL, Lavras, 1991.

ANOVA	GL	QM	ANOVA	GL	QM
RECIP.	(3)	2184,34 *	ÉPOCA	(3)	130074,69 **
RL	(1)	2012,20 **	RL	(1)	388844,5 **
D	(2)	172,16 NS	D	(2)	1379,59 NS
ERRO	48	782,62	ERRO	282	2649,21

* F sig. a 5% e ** F significativo a 1% .

Quadro 05 Ap - Efeito do desdobramento das interações dos fatores de tempo dentro de substrato, para a relação de peso PFFA\PFR), de AMORA-PRETA em casa-de-vegetação. 1991.

ANAVA	GL	QM		ANAVA	GL	QM
IDADE:E(1)	(2)	5,135 **		ÉPOCA:I(1)	(3)	4,249 **
RL	(1)	7,25 *		RL	(1)	9,516 **
D	(1)	3,02 NS		D	(2)	3,225 NS
IDADE:E(2)	(2)	1,83 NS		ÉPOCA:I(2)	(3)	2,25 *
IDADE:E(3)	(2)	0,686 NS		RL	(1)	4,514 *
IDADE:E(4)	(2)	1,99 NS		D	(2)	1,30 NS
				ÉPOCA:I(3)	(3)	2,63 *
				RL	(1)	7,139 **
				D	(2)	0,748 NS
RESÍDUO	283	0,861				

* F SIGNIFICATIVO A 5 % E ** F SIGNIFICATIVO A 1 % DE PROBABILIDADE

Quadro 06. Ap - Efeito do desd. dos fatores época dentro de substratos e da idade de enraizamento, para o MST acumulada na espécie amora-preta em casa-de-vegetação. ESAL, Lavras, 1991

ANAVA	GL	QM		ANAVA	GL	QM
ÉPOCA:S(1)	(3)	10,05 **		IDADE	(2)	5.516,44 **
RL	(1)	7.290,47 **		RL	(1)	10.583,55 **
D	(2)	449,30 NS		D	(2)	67,06 NS
ÉPOCA:S(2)	(3)	4.487,55 **				
RL	(1)	13457,67 **				
D	(2)	4,98 NS				
ÉPOCA:S(3)	(3)	3.701,96 **				
RL	(1)	10911,46 **				
D	(2)	194,42 NS				
ÉPOCA:S(4)	(3)	1.547,33 **				
RL	(1)	4.534,11 **				
D	(2)	108,22 NS				
ERRO	283	82,37		ERRO	96	116,85

* F significativo a 1% de probabilidade.