

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ**

**ELIS BORCIONI**

**SUBSÍDIOS À IMPLEMENTAÇÃO DE SISTEMAS DE  
CULTIVO DE *Acrocomia aculeata* (JACQ.) LODD. EX MART  
(Arecaceae)**

**CURITIBA**

**2012**

**ELIS BORCIONI**

**SUBSIDIOS À IMPLEMENTAÇÃO DE SISTEMAS DE CULTIVO DE**  
***Acrocomia aculeata* (JACQ.) LODD. EX MART (Arecaceae)**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia, área de Concentração em Produção Vegetal, Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo, Setor de Ciências Agrárias, da Universidade Federal do Paraná, como parte das exigências para obtenção do título de Doutor em Ciências.

Orientadora: Dra. Raquel R. B. Negrelle

CURITIBA  
2012



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ  
SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM  
AGRONOMIA - PRODUÇÃO VEGETAL



## PARECER

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Agronomia - Produção Vegetal, reuniram-se para realizar a arguição da Tese de DOUTORADO, apresentada pela candidata **ELIS BORCIONI**, sob o título "**SUBSIDIOS À IMPLEMENTAÇÃO DE SISTEMAS DE CULTIVO DE *Acrocomia aculeata* (JACQ.) LODD. EX MART. (Arecaceae)**", para obtenção do grau de Doutor em Ciências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia - Produção Vegetal do Setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná.

Após haver analisado o referido trabalho e argüido a candidata são de parecer pela "**APROVAÇÃO**" da Tese.

Curitiba, 24 de Fevereiro de 2012.

Professora Dra. Louise Larissa May De Mio  
Coordenadora do Programa

Professora Dra. Maria Auxiliadora Milaneze Gutierrez  
Primeira Examinadora

Professora Dra. Conceição Aparecida Cossa  
Segunda Examinadora

Dra. Juliana Degenhardt-Goldbach  
Terceira Examinadora

Professora Dra. Maria Regina Torres Boeger  
Quarta Examinadora

Professora Dra. Raquel Rejane Bonato Negrelle  
Presidente da Banca e Orientadora

*Dedico*

*A minha família*

## AGRADECIMENTOS

À Deus, fonte inspiradora e alento para os momentos mais difíceis enfrentados nessa fase.

À Universidade Federal do Paraná, pela oportunidade de realizar o curso.

Ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia e ao CNPQ, pela concessão da bolsa de estudos.

À Prof.<sup>a</sup> Raquel R. B. Negrelle, pela compreensão, paciência e ajuda, sempre que necessário e principalmente pela confiança depositada em mim.

Aos demais professores, pelo auxílio nas diversas etapas desse trabalho.

Aos pesquisadores do Instituto Nacional de Ciências Agrícolas (INCA), Rodolfo Plana Lerrena, Miriam de la C. Núñez Vázquez, Marta Alvarez Gil, Ramón Rivera Espinosa, Alejandro Zardon pela amizade, ensinamentos e disponibilidade dos produtos testados.

A todos os funcionários do Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo da UFPR, pela amizade e pelos serviços prestados. Aos funcionários do Jardim Botânico pela colaboração nos experimentos realizados. Aos agricultores de Cerro Azul, que dispuseram as suas áreas para a realização do experimento a campo.

À toda minha família que deste o princípio sempre me apoiou. Aos meus pais pelo carinho, palavras de conforto e amizade. Às minhas irmãs pelo companheirismo, e por sempre acreditarem que este dia chegaria. Aos meus queridos sobrinhos fonte de inspiração e alegria.

A todos os estimados colegas do Programa de Pós Graduação em especial (Luciana Pelegrini, Mariane Schuck, Valéria Lopes, Yohana de Oliveira, Marcos, Vera, Melicia Galvazza, Eliseu Fabrin, Carlise Pereira, Michelle Althaus Ottmann, Érica, Adilson) e também aos meus queridos amigos de perto e de longe pela amizade, convívio, palavras de incentivo, motivação e alegria, pela valiosa ajuda na execução dos experimentos e pelos momentos de descontração que suavizaram essa longa caminhada.

A todos, que de uma ou outra forma, colaboraram para o término de mais esta importante etapa na minha vida. Meu sincero agradecimento.

OBRIGADA A TODOS

## **BIOGRAFIA**

Elis Borcioni, filha de Edecir João Borcioni e Inedina Serafini Borcioni, nasceu em Constantina, Estado do Rio Grande do Sul, em 14 de janeiro de 1982.

Em 1999, recebeu grau de Técnica em Agropecuária, conferido pelo Colégio Agrícola de Santa Maria (RS) atualmente denominado de Colégio Politécnico de Santa Maria.

Em 2001, iniciou o curso de Graduação em Agronomia pela Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), pela qual em 2006 recebeu o grau de Engenheira Agrônoma. Neste mesmo ano, iniciou o curso de mestrado em Agronomia, área de concentração Produção Vegetal. Em 21 de fevereiro de 2008, recebeu o grau de Mestre em Agronomia, pela Universidade Federal de Santa Maria.

Em 2008, iniciou o Curso de Doutorado em Agronomia, área de concentração em Produção Vegetal, no Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo da Universidade Federal do Paraná (UFPR). Em fevereiro de 2012 concluiu sua tese na UFPR.

## RESUMO

*Acrocomia aculeata*, popularmente conhecida como macauba ou bocaiuva, é uma palmeira nativa com alta potencialidade de fornecimento de óleo para a produção de biodiesel além da possibilidade de ser utilizada como alimento e na indústria de cosméticos. Entretanto, a exploração dos recursos provenientes desta espécie tem sido exclusivamente extrativista. Para possibilitar o seu uso com fins comerciais e em grande escala, há necessidade de que sejam implantados núcleos de produção de mudas e cultivo de forma a garantir a oferta do recurso em longo prazo. Nesta perspectiva, pesquisas têm sido realizadas visando contribuir para a domesticação e utilização da espécie que apresenta produtividade e qualidade de óleo semelhante ao dendezeiro com a vantagem de adaptação em regiões secas. Além de sementes dormentes, a espécie apresenta crescimento bastante lento, o que dificulta seu cultivo. Visando subsidiar a implantação de estratégias que beneficiem o crescimento, desenvolvimento e cultivo desta palmeira, apresentam-se resultados de pesquisa que testou a resposta da aplicação de análogo de brassinosteroides sobre a germinação e crescimento de mudas de bocaiuva cultivadas *in vitro*. Associado ou de forma isolada também foi utilizado análogo de brassinosteroides, rizobacterias e inoculante micorrízico com a finalidade de acelerar o crescimento das plantas em fase de aclimatização e no campo. Os resultados obtidos revelaram que a utilização de um análogo de brassinosteróide em meio de cultivo não promoveu aumento na porcentagem de germinação dos embriões zigóticos de bocaiuva embora tenha estimulado a formação de plântulas normais, porém esse efeito não foi observado nas demais fases de crescimento. No que concerne à aplicação de fungo micorrízico arbuscular (FMA), rizobacterias e análogo de brassinosteróide para promover maior estímulo de crescimento da parte aérea de plantas de bocaiuva, não foi obtida resposta favorável. Por outro lado, o crescimento radicular foi estimulado. Já em experimento no campo, não foi evidenciado efeito dos tratamentos testados sobre o crescimento das plantas, ao final de dois anos de monitoramento.

Palavras chave: bocaiuva; análogo de brassinosteróide, micorriza, rizobacteria.

## ABSTRACT

*Acrocomia aculeata*, popularly known as macauba or bocaiuva, is a native palm with high potential for biodiesel production as well as to be used as food or in cosmetics industry. However, its actual exploitation has been exclusively from wild populations harvesting. To enable its use for commercial purposes and on a large scale, it is mandatory the establishment of production fields order to ensure the availability of long-term use. In this perspective, several researches has been done aiming to contribute to the domestication and use of species whose productivity and quality oil is similar to the dende palm with the advantage of being adapted to dry regions. Besides dormant seeds, the species has a very slow growth rate, making it difficult to cultivate. Aiming to support the implementation of strategies that benefit the growth and development of the palm, the results from testing the response of the application of a brassinosteroid analogue on its germination and seedling growth cultivated in vitro are presented. Associate or in an isolated way, it was also used a brassinosteroid analogue, rhizobacteria and mycorrhizal inoculant in order to test its performance on accelerate the growth of plants during acclimatization and in the field. The use of the brassinosteroids analogue stimulated a higher production of normal seedlings but did not promote an increase in the germination rate. During the acclimatization phase, the application of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF), integrated to rhizobacteria and brassinosteroid analogue was not effective on the plant aerial growth but favored a higher root system development. No growth effect was detected during the two years monitoring the field plantation considering the tested treatments

Key words: bocaiuva; analogue brassinosteroide, mycorrhiza, rhizobacteria.



## LISTA DE FIGURAS

|   |    |
|---|----|
| Figura 1: Aspectos gerais de frutos maduros íntegros (a), sem o epicarpo (b), partido para mostrar o endocarpo (c) e as sementes (d) de <i>Acrocomia aculeata</i> . Curitiba, Paraná, 2010. ..  | 16 |
| Figura 2: Estrutura química da brasinólida (BR) natural com a numeração dos carbonos. Fonte: (FUJIOKA; YOKOTA, 2003).....   | 27 |
| Figura 3: Via de biossíntese dos brassinosteroides. Fonte: (KERBAUY, 2004). .....   | 27 |
| Figura 4: Localização do município de Cerro Azul, Paraná, Brasil. Fonte: (IPARDES, 2010). .....   | 31 |
| Figura 5: Altura média das plantas (cm) de <i>Acrocomia aculeata</i> durante 390 dias de avaliação em casa-de-vegetação. Curitiba – Paraná, 2010. ....  | 66 |
| Figura 6: Crescimento em número médio de folhas (a), altura das plantas (b), comprimento médio das folhas (c) e diâmetro de caule (d) de plântulas de <i>Acrocomia aculeata</i> em casa-de-vegetação durante o período novembro 2009 a maio 2010. ....  | 83 |
| Figura 7: Crescimento em altura de plantas (a), comprimento médio das folhas (b), número médio de folhas (c) e diâmetro de caule (d) de mudas de <i>Acrocomia aculeata</i> registrado em viveiro localizado no município de Cerro Azul (PR) durante os meses de maio a setembro de 2010. .... | 85 |

## LISTA DE TABELAS

|  |    |
|--|----|
| Tabela 1: Porcentagem de germinação (G%) de embriões e de formação de plântulas normais de bocaiuva cultivado em meio básico WPM, quando tratadas com diferentes concentrações de Biobras 16 <sup>®</sup> .....  | 52 |
| Tabela 2: Comprimento médio das folhas (CF), número médio de folhas (NF), altura de plântulas (H), número de raízes (NR) e comprimento de raízes (CR) de plântulas obtidas da germinação <i>in vitro</i> de embriões zigóticos de bocaiuva (aos 90 dias após a inoculação) na fase de pré - aclimatização em caixas plásticas quando cultivadas em meio WPM e tratadas com diferentes concentrações de Biobras 16 <sup>®</sup> .....   | 54 |
| Tabela 3: Comprimento médio das folhas (CF), número médio de folhas (NF), altura de plântulas (H), número de raízes (NR), comprimento médio de raízes (CR) de plântulas obtidas da germinação <i>in vitro</i> de embriões zigóticos de bocaiuva (150 dias após a inoculação) na fase de aclimatização em casa-de-vegetação quando cultivadas em meio WPM e tratadas com diferentes concentrações de Biobras 16 <sup>®</sup> .....  | 55 |
| Tabela 4: Altura da planta (H), número de folhas (NF), comprimento médio das folhas (CF), diâmetro do caule (DC), massa fresca de folhas (MFF) e massa seca de folha (MSF) de plantas de <i>A. aculeata</i> conduzidas em casa-de-vegetação submetidas à aplicação de fungos micorrízicos, rizobactéria promotora do crescimento vegetal e análogo de brassinosteroide de forma isolada e combinada. Avaliação de crescimento realizada aos 390 dias após a aplicação dos tratamentos. Curitiba – PR, 2010. (Média e desvio padrão)..... | 68 |
| Tabela 5: Média do número de raízes (NR), massa fresca de raiz (MFR), massa seca de raiz (MSR), comprimento radicular (CR) e volume de raízes (VR) de plantas de <i>A. aculeata</i> conduzidas em casa-de-vegetação. Avaliação de crescimento realizada aos 390 dias após a aplicação dos tratamentos. Curitiba – PR, 2010.....  | 69 |
| Tabela 6: Análise das mudas de <i>Acrocomia aculeata</i> mantidas em casa-de-vegetação após aplicação dos tratamentos com e sem inoculante micorrízico.....  | 82 |
| Tabela 7: Análise das mudas de <i>Acrocomia aculeata</i> mantidas em viveiro com e sem a aplicação de inoculante micorrízico. ....   | 84 |
| Tabela 8: Análise destrutiva das mudas de <i>A. aculeata</i> em experimento no campo, sob ação do inoculante micorrízico e análogo de brassinosteroide durante o primeiro ano no campo.....  | 86 |
| Tabela 9: Taxas de crescimento absoluto (TCA) e taxa de crescimento relativo (TCR) altura (H) e massa seca total (MST) em experimento no campo.....  | 87 |
| Tabela 10: Análise de crescimento das mudas de <i>A. aculeata</i> em experimento no campo, durante dois anos de avaliação. ....  | 87 |
| Tabela 11: Média dos dados climáticos dos anos 2009, 2010 e 2011 do município de Cerro Azul durante período experimental de cultivo de <i>Acrocomia aculeata</i> . ....  | 88 |

## LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

| <i>Sigla</i>      | <i>Significado</i>  |
|-------------------|---|
| ®                 | Marca comercial   |
| AF                | Área foliar   |
| BAP               | 6 – Benzilaminopurina   |
| BRs               | Brassinosteroides   |
| CF                | Comprimento de folhas   |
| Cfa               | Clima subtropical úmido   |
| CR                | Comprimento radicular   |
| DM                | Dependência micorrízica   |
| FMA               | Fungo micorrízico arbuscular  |
| G                 | Germinação  |
| H                 | Altura da planta  |
| IBGE              | Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística   |
| MFF               | Massa fresca de folhas  |
| MFTa              | Massa fresca total aérea  |
| MFTR              | Massa fresca total radicular  |
| MS                | Murashige e Skoog (1962)  |
| MSF               | Massa seca de folhas  |
| MSR               | Massa seca de raiz  |
| MST               | Massa seca total  |
| NF                | Número de folhas  |
| NR                | Número de raízes  |
| PV                | Plântulas viáveis   |
| PGPR - RPCP - YIB | Plant Growth-Promoting Rhizobacteria<br>Rizobactéria Promotora do Crescimento de Plantas<br>YIB (Yield Increasing Bacteria) |
| SAFs              | Sistemas agroflorestais   |
| TCA               | Taxa de crescimento absoluto  |
| TCR               | Taxa de crescimento relativo  |
| UFSM              | Universidade Federal de Santa Maria   |
| UFPR              | Universidade Federal do Paraná  |
| VR                | Volume radicular  |
| VRT               | Volume total radicular  |
| WPM               | Woody plant medium  |

## SUMÁRIO

|   |           |
|---|-----------|
| <b>1. INTRODUÇÃO GERAL .....</b>  | <b>12</b> |
| <b>2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....</b>   | <b>15</b> |
| 2.1 Descrição da espécie.....   | 15        |
| 2.2 Método de propagação em palmeiras .....   | 18        |
| 2.3 Impacto da utilização de microorganismos do solo sobre o crescimento vegetal .....  | 21        |
| 2.4 Promoção do crescimento por brassinosteroides.....  | 27        |
| 2.5 Caracterização da área de estudo .....  | 29        |
| REFERÊNCIAS .....   | 34        |
| <b>3 CAPÍTULO I - Aplicação de análogo de brassinosteroide (Biobras 16®) sobre a germinação e crescimento <i>in vitro</i> de embriões zigóticos e aclimatização de plântulas de bocaiuva.....</b>                       | <b>45</b> |
| RESUMO .....  | 45        |
| ABSTRACT .....  | 45        |
| 3.1 INTRODUÇÃO.....   | 46        |
| 3.2 MATERIAL E MÉTODOS.....   | 49        |
| 3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....  | 51        |
| 3.4 CONCLUSÕES .....  | 56        |
| REFERÊNCIAS .....   | 57        |
| <b>4 CAPÍTULO 2 - EFEITO DA APLICAÇÃO DE INOCULANTE MICORRÍZICO, RIZOBACTERIA E ANÁLOGO DE BRASSINOSTEROIDE SOBRE O CRESCIMENTO DE <i>Acrocomia aculeata</i> (Jacq) Lodd. Ex. Mart. GERMINADA <i>IN VITRO</i> .....</b> | <b>61</b> |
| RESUMO .....  | 61        |
| ABSTRACT .....  | 61        |
| 4.1 INTRODUÇÃO.....   | 62        |
| 4.2 MATERIAL E MÉTODOS.....   | 64        |
| 4.3 RESULTADOS .....  | 66        |

|  |            |
|--|------------|
| 4.4 DISCUSSÃO .....  | 70         |
| REFERÊNCIAS .....  | 72         |
| <b>5 CAPÍTULO 3 - EFEITO DE INOCULANTE MICORRÍZICO E ANÁLOGO DE<br/>BRASSINOSTEROIDE NO CRESCIMENTO DA PALMEIRA BOCAIUVA .....</b> | <b>76</b>  |
| RESUMO .....   | 76         |
| ABSTRACT .....   | 76         |
| 5.1 INTRODUÇÃO.....  | 77         |
| 5.2 MATERIAL E MÉTODOS.....  | 78         |
| 5.2.1 Estabelecimento dos ensaios .....  | 78         |
| 5.2.2 Monitoramento e coleta de dados .....  | 80         |
| 5.3 RESULTADOS .....   | 81         |
| 5.3.1 Crescimento mudas .....  | 81         |
| 5.3.2 Aclimação .....  | 83         |
| 5.3.3 Crescimento das plantas a campo.....   | 85         |
| 5.3.4 Caracterização das condições climáticas da área de estudo durante o experimento .....  | 87         |
| 5.4 DISCUSSÃO .....  | 88         |
| 5.5 CONCLUSÕES .....   | 89         |
| REFERÊNCIAS .....  | 90         |
| <b>CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>   | <b>93</b>  |
| <b>APÊNDICE .....</b>  | <b>95</b>  |
| <b>ANEXOS .....</b>  | <b>107</b> |

## 1. INTRODUÇÃO GERAL

O mercado mundial de biocombustível está em expansão, pois a matriz energética mundial está apoiada nos derivados de petróleo e este, segundo alguns estudos, não será mais capaz de suprir a crescente demanda nos próximos anos. A fim de solucionar este problema, o governo, entidades públicas e privadas estão procurando novas fontes de energia, sendo que há uma grande expectativa a cerca do plantio de espécies oleaginosas promissoras na produção de óleo vegetal (LIMA et al., 2008).

Neste contexto, surge como alternativa, o biodiesel, produto derivado de óleos vegetais ou animais, considerado atualmente como um substituto dos derivados de petróleo. Trata-se de uma fonte de energia renovável e biodegradável, com acentuada redução na emissão de gases poluentes causadores do efeito estufa (RIVALDI et al., 2008; ROCHA et al., 2008). Além dos benefícios ambientais a produção de biodiesel apresenta benefícios sociais como a geração de empregos e aumento de renda (AGUIAR, 2005). A mistura de biodiesel no Brasil é legalmente estabelecida desde 2008, podendo substituir em parte ou totalmente o diesel mineral de veículos. Primeiramente, a mistura obrigatória era de 2% de biodiesel e, pouco a pouco, em 2010, a mistura foi elevada para 5%, o que corresponde a uma produção de 2,4 bilhões de litros por ano (KOHLHEPP, 2010).

O Brasil apresenta grandes potencialidades para a produção de espécies oleaginosas, comparativamente com outros países, pois possui condições edafoclimáticas adequadas, recursos hídricos e disponibilidade de área para o plantio em grande escala. Estudos afirmam que o Brasil apresenta condições para liderar a produção mundial de biodiesel, promovendo a substituição de até 60% do óleo diesel consumido no mundo (LIMA, 2005).

Em relação ao uso de oleaginosas para a produção nacional de biodiesel, UDAETA et al. (2008) citam que o rendimento de óleo de palmeiras como o babaçu, bociuíva e dendê podem atingir 1600, 4000 e 5900 kg de óleo por hectare, respectivamente, sendo muito superior à soja, por exemplo, que obtêm 400 Kg de óleo por hectare e o girassol e o amendoim que podem atingir valores em torno de 800 Kg de óleo por hectare.

Entre as palmeiras oleaginosas promissoras para produção de biodiesel, a bociuíva [*Acrocomia aculeata* (Jacq) Lodd ex Martius] tem despertado interesse. A espécie tem ampla distribuição geográfica, ocorrendo desde o sul do México e Antilhas até a região sul, incluindo Brasil, Argentina e Paraguai (Henderson et al., 1995). É considerada a palmeira de maior dispersão no Brasil, com ocorrência de povoamentos naturais em quase todo território.

É uma alternativa de matéria prima, adaptada a regiões semi - áridas. Destaca-se pela sua alta produtividade (quantidade de óleo/ha) e pode manter-se produtiva por mais de 100 anos (TEIXEIRA, 2005), além da possibilidade de utilização em sistemas agroflorestais (COLLARES, 2010). O cultivo desta espécie pode promover o desenvolvimento sócio-econômico em regiões críticas do país, como é o caso do Vale do Ribeira. Além disso, a farinha e a polpa dos frutos possuem um mercado potencial, principalmente, para produção de sucos, sorvetes, bolos e pães e podem ser alternativas de renda para a população local (JORGE et al., 2004).

Desta forma, observa-se a crescente expansão no interesse dos recursos provenientes desta espécie, tanto para fins comerciais como governamentais, para a produção de biodiesel. Porém, a utilização do óleo de bocaiuva como fonte de biodiesel depende da domesticação da espécie para obtenção de maior produtividade e homogeneidade, pois, atualmente sua exploração é feita exclusivamente através do extrativismo (MOURA, 2007). Soma-se a isso, o fato desta espécie apresentar problemas de germinação podendo o embrião demorar até 4 anos para germinar, além de apresentar taxa de germinação baixa ( $\leq 3\%$ ) provocando sério e desvantajoso atraso na produção de mudas (TABAI, 1992; TEIXEIRA, 2005; MOTOIKE et al., 2007). Além disso, o crescimento das mudas em fase de aclimatização é relativamente lento, sendo necessária a busca por novas metodologias que viabilizem rápido crescimento.

Em vista disso, a cultura de embriões zigóticos é uma alternativa promissora. Essa técnica envolve a excisão dos embriões das sementes e sua germinação em meio de cultivo sendo mantidos em condições controladas de luz e temperatura (GRATTAPAGLIA; MACHADO, 1998). Outra etapa muito importante para o estabelecimento das mudas cultivadas *in vitro* é a fase de aclimatização processo de transição das plantas cultivadas *in vitro* para ambientes em condições naturais, sendo uma das maiores dificuldades para manter a sobrevivência e o crescimento das mudas de várias espécies.

Neste sentido, a utilização de microorganismos com a finalidade de promover o crescimento vegetal e reduzir a necessidade de fertilizantes é algo que deve ser pesquisado. Portanto, o uso de microorganismos, como as rizobacterias promotoras do crescimento de plantas (RPCP) e de fungos micorrízicos arbusculares (FMA) tem se mostrado promissores para diversas culturas (ORTÍZ-CASTRO et al., 2009).

As RPCP promovem o crescimento das plantas através da produção de fitohormônios, disponibilização de nutrientes, produção de sideróforos e antibióticos, indução a resistência a enfermidades, além da possibilidade de atuarem como agentes de biocontrole (CUNHA, 2005). Em contrapartida, os FMA favorecem a absorção, translocação e utilização de água e

nutrientes de baixa mobilidade, promovem melhorias no crescimento das plantas mesmo em áreas de baixa fertilidade ou degradadas, agem na proteção das plantas frente a patógenos e aumentam a resistência aos estresses salino e ou hídrico (MIRANDA, 2005).

Outra substância que pode ser utilizada na agricultura com a finalidade de promover o crescimento das plantas são os brassinosteroides, cuja aplicação na agricultura tem sido estudada nos últimos anos (JORDAN, 2005). São substâncias que atuam em baixas concentrações e apresentam uma variada ação fisiológica, agindo no alongamento de epicótilo, hipocótilo e pedúnculos, estimulando a divisão celular, alongamento, crescimento do tubo polínico, produção de metabólitos secundários, agindo sobre a dormência de sementes e aumentando a tolerância das plantas frente aos fenômenos de estresse bióticos e abióticos (ZULLO; ADAM, 2002). Devido ao amplo espectro de ação dos brassinosteroides e os resultados positivos alcançados em várias culturas, testou-se um análogo na promoção do crescimento de bocaiuva.

O Vale do Ribeira, no estado do Paraná, é uma zona de estagnação econômica e de baixo desenvolvimento social (IPARDES, 2003). A agricultura é desenvolvida com a utilização de baixa tecnologia, o solo possui relevo ondulado a fortemente ondulado, dificultando a condução de lavouras anuais. A força de trabalho é, em sua maioria, braçal e com mão de obra familiar. Sendo assim, o cultivo e a exploração da bocaiuva poderiam ser incentivados nesta região, com o objetivo de tentar solucionar os problemas enfrentados pelos agricultores, principalmente do município de Cerro Azul. A bocaiuva proporcionaria a diversificação da agricultura familiar e poderia ser uma fonte de renda adicional, através do consórcio com outras espécies, em sistemas agroflorestais. Porém, apesar das potencialidades da espécie, ainda são incipientes os estudos com relação a seu cultivo.

Frente a esta perspectiva e na busca de novas alternativas para promover o desenvolvimento do Vale do Ribeira realizou-se a pesquisa, cujo objetivo principal foi subsidiar a implementação de cultivo de *Acrocomia aculeata* no município de Cerro Azul, pertencente ao Vale do Ribeira utilizando microorganismos e análogo de brassinosteróide, com a finalidade de promover incrementos no crescimento e desenvolvimento vegetativo da *Acrocomia aculeata*. Além disso, como objetivos específicos buscaram-se avaliar: 1. a influência de diferentes concentrações de análogo de brassinosteróide na germinação *in vitro* de embriões zigóticos de *A. aculeata* e no crescimento das plantas na fase de aclimatização; 2. o crescimento de plantas geradas *in vitro* durante a fase de aclimatização após a aplicação de inoculante micorrízico, rizobactérias e um análogo de brassinosteróide de forma isolada ou combinada; 3. o crescimento e desenvolvimento das plantas de bocaiuva geradas por



sementes, submetidas a aplicação de inoculante micorrízico e um análogo de brassinosteróide quando cultivadas em campo em consórcio com citrus.

Os resultados deste trabalho são apresentados em três capítulos, que compõem esse documento. Adicionalmente, apresenta-se revisão bibliográfica sobre a espécie, método de propagação, utilização de microorganismos do solo e brassinosteróides como promotores de crescimento vegetal e caracterização do local de estudo.

O primeiro capítulo “Aplicação de análogo de brasinosteróide (Biobras 16<sup>®</sup>) sobre a germinação e crescimento *in vitro* de embriões zigóticos e sobre aclimatização de plântulas de bocaiuva”, refere-se ao experimento realizado em laboratório de Micropropagação Vegetal cujo objetivo foi avaliar a influência do análogo de brassinosteróide sobre a germinação e crescimento das plantas de bocaiuva.

O segundo capítulo “Efeito da aplicação de inoculante, rizobactéria e análogo de brassinosteróide sobre o crescimento de *Acrocomia aculeata* (Jacq) Lodd. ex. Mart. germinada *in vitro*”, trata do experimento em casa-de-vegetação com mudas de bocaiuva provenientes de cultivo *in vitro* em fase de aclimatização.

E o terceiro capítulo “Efeito do inoculante micorrízico e análogo de brassinosteróide no crescimento da palmeira bocaiuva refere-se ao experimento realizado em campo, no município de Cerro Azul, pertencente ao Vale do Ribeira”. São apresentados os dados referentes ao crescimento das plantas nos diferentes tratamentos testados (brassinosteróides, micorriza e controle) no decorrer de dois anos de avaliação.

Concluindo, neste documento, são apresentadas algumas recomendações e considerações com a finalidade de contribuir para o manejo da espécie.

## **2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

### **2.1 Descrição da espécie**

O gênero *Acrocomia* é composto por duas espécies – *Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd. ex Mart. e *Acrocomia hassleri* (B. Rodr.) W. J. Hahn. *A. aculeata* apresenta indivíduos maiores em altura e diâmetro caulinar e encontra-se amplamente distribuída nas regiões secas da América Tropical, enquanto que, *A. hassleri* apresenta indivíduos de menor altura e encontra-se restrita à região de cerrado no Brasil e Paraguai (HENDERSON et al., 1995).

*A. aculeata* é popularmente conhecida por macauba, bocaiuva ou coquinho - de - catarro, ou outros nomes, dependendo da região de distribuição (ALMEIDA et al., 1998). É uma palmeira nativa das florestas tropicais, facilmente reconhecida pela presença de espinhos escuros, pontiagudos, com cerca de 10 cm de comprimento encontrado na região dos nós no caule. Os indivíduos podem atingir 10 a 15 m de altura, cujas folhas são ordenadas em diferentes planos dando um aspecto plumoso à copa, o que torna esta planta atrativa para fins ornamentais. A espata atinge até 2 m comprimento, enquanto que as inflorescências são amarelas e os cachos de frutos possuem tom marrom-amarelado (LORENZI, 1996). As flores são pequenas e unissexuais estando as flores femininas na base e as masculinas no topo da inflorescência. A floração ocorre nos meses de agosto a novembro (SILVA et al., 2001; NUCCI, 2007).

Os frutos são do tipo drupa globosa ou ligeiramente achatados com diâmetro variando de 2,5 a 5,0 cm (Figura 1). O epicarpo rompe-se facilmente quando maduro. O mesocarpo (polpa) é fibroso, mucilaginoso, de sabor adocicado, rico em glicerídeos, comestível. O endocarpo está fortemente aderido à polpa com parede pétrea enegrecida enquanto que a amêndoa é oleaginosa, comestível e revestida de uma fina camada de tegumento. Cada fruto contém, geralmente, uma semente envolvida por endocarpo duro e escuro, com aproximadamente 3 mm de espessura. A frutificação ocorre principalmente nos meses de setembro a janeiro (LORENZI, 1996; SILVA et al., 2001; LORENZI; NEGRELLE, 2006).

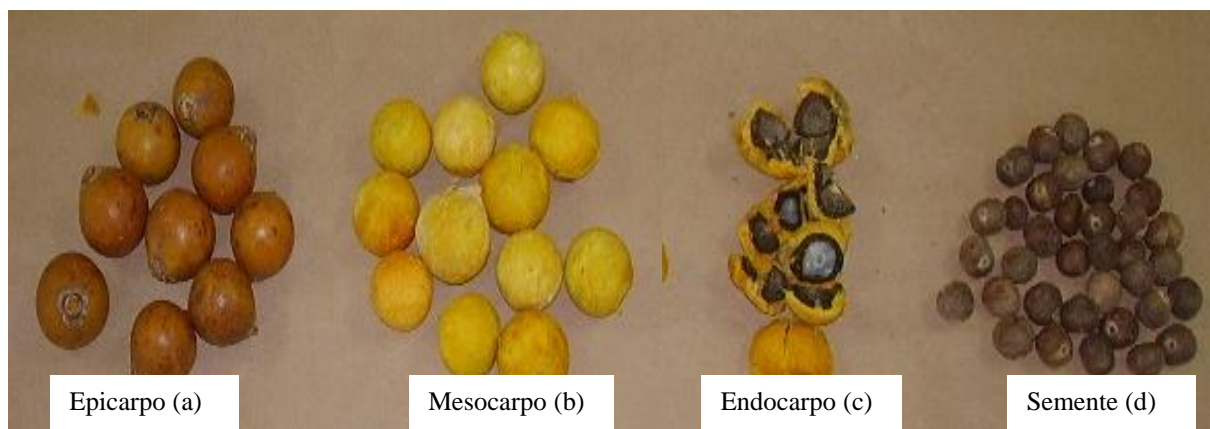


Figura 1: Aspectos gerais de frutos maduros íntegros (a), sem o epicarpo (b), partido para mostrar o endocarpo (c) e as sementes (d) de *Acrocomia aculeata*. Curitiba, Paraná, 2010.

Esta espécie apresenta ampla distribuição geográfica, ocorrendo em todo o Trópico Americano, do México a Argentina, Bolívia, Paraguai, Antilhas, exceto Equador e Peru. No

Brasil, é considerada como a palmeira de maior dispersão, com ocorrência de povoamentos naturais em quase todo o território. Entretanto, as maiores concentrações estão localizadas em Minas Gerais, Goiás, Mato Grosso e Mato Grosso do Sul, sendo amplamente espalhada pelas áreas de Cerrado (SILVA, 1994; HENDERSON et al., 1995; COLLARES, 2010).

Costa (2009), avaliando populações naturais de bocaiuva no estado de São Paulo verificou que as plantas apresentam uma distribuição bastante distinta em relação ao clima, geologia, relevo, uso da terra e formações vegetais associadas. No que se referem às características do solo, essas também apresentaram heterogeneidade, ocorrendo em diversas classes texturais (arenosa, média e argilosa) e níveis de fertilidade (muito baixo a alto) o que sugere uma adaptação da espécie nos mais diversos ambientes.

A bocaiuva apresenta ampla utilidade, sendo o seu fruto o produto de maior importância econômica, podendo fornecer 20 a 30% de óleo, 5% de farinha comestível, 35% de tortas forrageiras e 35% de combustível de alto poder calórico (SILVA, 1994; CLEMENT ET AL., 2005; AMBIENTE BRASIL, 2008), além do seu potencial como cosmético (LORENZI, 2006). Em uma única planta podem ser encontrados de 2 a 6 cachos, variando de 250 a 500 frutos cada, o que garante uma produção de 4 mil litros por hectare ano<sup>-1</sup>, despertando interesse econômico pela espécie (NUCCI, 2007; RAMOS et al., 2008).

Quando as amêndoas de bocaiuva são comparadas às amêndoas de caju e coco da baía, observam-se altos valores de lipídios (51,7%), proteínas (17,6%) e fibras (15,8%), além, de cálcio, fósforo e manganês (HIANE et al., 2006). Em relação à composição de ácidos graxos, HIANE et al. (2005) relatam que na polpa *in natura* e na farinha dela obtida foram encontradas altas concentrações de ácido oléico (65,9 a 62,2%), sendo que o óleo da amêndoa é composto por ácido oléico, ácido láurico e ácido palmítico. Desta forma, a farinha e a polpa possuem um mercado potencial, principalmente, para produção de sucos, sorvetes, bolos e pães, podendo ser uma alternativa de renda para a população local (JORGE et al., 2004). Além disso, o óleo de bocaiuva é considerado refinadíssimo, tendo valores nutricionais semelhantes ao azeite de oliva (CIPRIANO, 2008).

Porém, até o momento, a exploração da bocaiuva esteve restrita ao extrativismo, motivo pelo qual há poucas informações técnicas sobre seu cultivo. Atualmente para o plantio adensado recomenda-se a utilização de espaçamentos desde 3 X 3m, 6 x 6 m, 6 x 8 m e 6 x 10 m para cultivos consorciados. O crescimento da planta é considerado rápido, chegando a crescer 1 metro por ano, até atingir o tamanho adulto. A frutificação pode ocorrer mesmo antes da palmeira atingir seu desenvolvimento completo, em média aos 6 anos. Dependendo das condições de solo e clima é possível a frutificação plena aos 4 anos após o plantio

(MACAÚBA, 2008).

A produção anual da bocaiuva pode variar entre 10 t a 30 t de frutos por hectare ou de 1,47 t a 4,97 t de óleo por hectare, índices somente atingidos por poucas espécies, como o dendê, o pinhão-manso e o coco-da-baía. Além disso, a palmeira exibe produção decrescente a cada ciclo de três anos, isto é, boa produção no primeiro ano, regular no segundo ano, produção inferior no terceiro ano, e retornando a bom rendimento no ano subsequente. (MACAÚBA, 2008). Isso possibilita que o produtor faça um planejamento em relação à utilização da área plantada.

Diante dos benefícios econômicos, sociais e ambientais que a bocaiuva oferece, é evidente sua importância, necessitando a elaboração de um plano de manejo adequado nas populações nativas e nos futuros plantios comerciais, empregando técnicas de cultivo disponíveis, a fim de atingir a máxima produção de frutos.

## 2.2 Método de propagação em palmeiras

As palmeiras, de maneira geral, são propagadas via sementes, em alguns casos por divisão de touceiras (LORENZI et al., 2004), estando a bocaiuva no primeiro grupo pois não gera touceiras. Entretanto, a germinação é limitada em razão da presença de dormência física, causada pela impermeabilidade dos tecidos do fruto e ou da semente (TEIXEIRA, 2005; BANDEIRA, 2008), culminando em baixo índice de germinação, dificultando, assim, a obtenção de mudas (LORENZI; NEGRELLE, 2006).

Para espécies com tais dificuldades a técnica de propagação *in vitro*, via embriões zigóticos é uma alternativa viável. Essa técnica envolve a excisão dos embriões e sua germinação em meio de cultura, sendo mantidos em condições controladas de luz e temperatura (GRATTAPAGLIA; MACHADO, 1998). Tal técnica pode ser empregada para superar a dormência de sementes, em estudos sobre os aspectos nutricionais e fisiológicos do desenvolvimento do embrião, em testes de viabilidade de sementes entre outros (HU; FERREIRA, 1998).

O primeiro trabalho utilizando essa técnica foi realizado por Hannig em 1904, com embriões maduros de *Raphanus sativus*, *R. landra*, *R. caudatus* e *Cochlearia danica* cujas exigências nutricionais consistiam de sais minerais, açúcares e aminoácidos. Os resultados obtidos foram favoráveis à adição de sacarose para a germinação, além da influência das fontes de nitrogênio sobre a morfologia do embrião (RAGHAVAN, 1976).

Diversas palmeiras de importância econômica têm sido multiplicadas com maior ou menor sucesso, como *Euterpe edulis* (GUERRA; HANDRO, 1998); *Euterpe oleraceae* (LEDO et al., 2001), *Syagrus oleracea* (MELO et al., 2001), *Mauritia flexuosa* (SPERA et al., 2001), *Hyophorbe lagenicaulis* (SARASAN et al., 2002), *Bactris gasipaes* (STEINMACHER et al., 2005), *Cocus nucifera* L. (LEDO et al., 2007), *Phoenix dactylifera* L. (COSTA; ALOUFA, 2007).

A cultura de embriões é uma realidade na propagação de várias espécies. Entre elas a bocaiuva, que por apresentar dificuldades de germinação encontra nas técnicas de propagação *in vitro* uma forma de viabilizar o processo de produção de mudas. A adição de carvão ativado foi imprescindível para o crescimento das plântulas assim como a utilização de embriões maduros resultados reportados por BANDEIRA, (2008).

O sucesso na tecnologia e aplicação dos métodos de cultura *in vitro* depende do controle de alguns fatores, tais como, o material vegetal utilizado como explante, meio de cultura, fatores ambientais e aclimatização das mudas (CID, 2001).

Em estudos sobre cultivo *in vitro* de palmeiras, os embriões zigóticos têm sido o tipo de explante mais utilizado por sua maior competência regenerativa. Tecidos foliares, ápices caulinares, gemas laterais, ápices radiculares e inflorescências também podem ser utilizados (CARDOSO, 2010).

Explante é qualquer parte separada da planta destinada ao cultivo *in vitro* (CID; TEIXEIRA, 2010). Esse deve ser cuidadosamente selecionado, uma vez que o tipo de explante utilizado pode determinar o grau de sucesso do processo. Na maioria das vezes, a utilização de explantes juvenis provenientes de sementes e partes juvenis de plantas adultas são os preferidos. Esses devem ser retirados de plantas em crescimento ativo e que não esteja passando por qualquer tipo de estresse, tal como temperaturas extremas, seca, deficiência mineral e ataque de pragas ou doenças (TEIXEIRA, 2001).

Os meios nutritivos são compostos por elementos essenciais para o crescimento dos tecidos e controle do desenvolvimento vegetal *in vitro*. Os componentes do meio de cultura são: água, sais inorgânicos (macro e micronutrientes), carboidratos, vitaminas, reguladores de crescimento vegetal e outros componentes, como o carvão ativado (CALDAS et al., 1998).

Várias formulações de meios de cultura vêm sendo utilizadas para diferentes espécies. Quando a espécie estudada necessita de altas concentrações de sais, principalmente os íons nitrato e amônio, o meio de cultura MS, proposto por MURASHIGE; SKOOG, (1962) é geralmente utilizado. Porém, o meio de cultura WPM “*woody plant medium*” (LLOYD; McCOWN, 1980) vem sendo utilizado especialmente para as espécies lenhosas, como

alternativa ao meio MS, por apresentarem 25% a menos das concentrações de íons nitrato e amônio que o MS, além de mais potássio e sulfato (MELO et al., 1999).

Como fonte de energia exógena geralmente é utilizada a sacarose, devido a rapidez de absorção, estando presente nos meios de cultura na concentração de 20 a 40g/L. Também fazem parte da composição dos meios de cultura as vitaminas hidrossolúveis ou do grupo B (tiamina, piridoxina, adenina, riboflavina), ácido nicotínico, ácido fólico, ácido ascórbico, biotina e cobalamina (CID; TEIXEIRA, 2010).

Outro fator de grande importância no controle do desenvolvimento de plântulas cultivadas *in vitro* são os reguladores vegetais, sendo que a composição e concentração destes no meio de cultura são fatores determinantes do crescimento e do padrão de desenvolvimento das plântulas (CALDAS et al., 1998). Entre os reguladores vegetais adicionados ao meio de cultivo, os análogos de brassinosteroides (BRs) têm sido estudados em várias culturas (MAZORRA; NÚÑEZ, 2008).

O carvão ativado é utilizado como componente do meio de cultura devido a sua capacidade de adsorver substâncias tóxicas liberadas pelos explantes ou impurezas de outros componentes do meio, além de simular uma situação de escuro, no qual as raízes apresentam maior crescimento e desenvolvimento (GRATTAPAGLIA; MACHADO, 1998). Autores relatam que esse componente contribui para o controle da oxidação dos tecidos de muitas palmeiras (MELO et al., 2001; SARASAN et al., 2002). A suplementação do meio de cultura com carvão ativado foi imprescindível para o pleno desenvolvimento das plântulas principalmente no desenvolvimento do sistema radicular, sendo que em sua ausência, ocorreu um desequilíbrio o que ocasionou a formação de plântulas desuniformes e com crescimento lento em *Cocos nucifera* (SILVA, 2002) e *Acrocomia aculeata* (BANDEIRA, 2008).

Independente da técnica utilizada de propagação *in vitro*, as plântulas obtidas necessitam um período de aclimatização e crescimento até atingirem o tamanho adequado para o plantio definitivo no campo (MOREIRA, 2006). Esse período é variável, dependendo do substrato e nutrição, podendo durar de 5 a 10 meses (TEIXEIRA et al., 2001; BARROSO et al., 2003). Recomenda-se que o processo de aclimatização ocorra gradualmente, de forma que as plântulas não sofram estresses, ocasionando danos ou até mesmo sua morte (SILVA et al., 1995).

A fase de aclimatização é importante para o estabelecimento das mudas, ou seja, é um processo de transição das plântulas cultivadas *in vitro* para ambientes naturais. Nessa etapa, estão as principais dificuldades, encontradas em várias culturas, para manter a sobrevivência e crescimento de plântulas após a remoção do meio de cultivo. A transferência de ambiente

protegido, estéril, com açúcares e com umidade saturada, para ambiente não-estéril, sem açúcares e com reduzida umidade, tem levado à perda de plântulas, baixa taxa de crescimento e período prolongado até a obtenção de plântulas completamente aclimatizadas (SOUZA JUNIOR et al., 2001).

Neste período, o estresse hídrico das plântulas é geralmente o maior problema, e a manutenção da umidade relativa alta, desde a retirada das plântulas do meio de cultura até a retomada do crescimento, é um fator chave para a sua sobrevivência inicial (GRATTAPAGLIA; MACHADO, 1998; LEDO et al., 2007).

Outros fatores também podem influenciar na sobrevivência das plantas como substrato, umidade, tipo e qualidade do sistema radicular (PEREIRA; FORTES, 2001). As características do substrato têm relação direta com a disponibilidade de água, gases e nutrientes, além de servir de meio de sustentação para a muda. A utilização de micorrizas, ou seja, associação natural e benéfica entre fungos micorrízicos arbusculares do solo e raízes das plantas, no substrato, é uma prática cada vez mais utilizada (MIRANDA, 2001).

A qualidade do sistema radicular das plântulas produzidas *in vitro* é outro fator importante, pois a utilização de mudas que possuem raízes curtas, em geral, é mais desejável, pois, além de facilitarem o manuseio no momento do plantio, normalmente estão numa fase de crescimento ativo, o que facilita o pegamento da muda (GRATTAPAGLIA; MACHADO, 1998).

### **2.3 Impacto da utilização de microorganismos do solo sobre o crescimento vegetal**

O solo é considerado a base da agricultura, sendo o habitat de inúmeras e variadas populações de microorganismos de vida livre ou em associações. A fração biológica do solo é composta por um grande número de microrganismos que participam dos ciclos do carbono, nitrogênio, fósforo e enxofre o que está intimamente ligada à fertilidade do solo e produtividade das culturas (PEREIRA, 2001).

A rizosfera é a camada de solo presa à raiz pela mucilagem mais os pelos radiculares, contendo uma grande variedade de microorganismos e células descamadas da coifa (RAVEN et al., 2001). É um habitat altamente favorável à atividade dos microrganismos, tanto bactérias quanto fungos, e é a região onde ocorre a maior parte das interações entre os microorganismos e as plantas (PEREIRA, 2000).

Segundo Moreira e Siqueira (2002) os microorganismos podem ser classificados em

oportunistas e estrategistas. Os oportunistas são pequenos, apresentam rápido crescimento, alta capacidade competitiva e estão localizados, geralmente, nas raízes mais novas, enquanto que os estrategistas são maiores, com crescimento lento, alta longevidade e predominam em raízes velhas. Podem ainda ser divididos em saprófitas, simbiontes e patógenos.

Por outro lado, Melo (2001) propõe que os microorganismos do solo sejam divididos em relação ao efeito que causam às plantas, sendo chamados de benéficos, prejudiciais ou neutros. A composição microbiana na rizosfera pode influenciar o crescimento vegetal de maneira benéfica através do aumento na disponibilidade de nutrientes minerais, da produção de hormônios como auxinas, giberelinas e no controle de microrganismos deletérios presentes no local e na agregação do solo, de maneira neutra ou variável através do fluxo de nutrientes, liberação de enzimas e competição, ou de maneira prejudicial através de doenças e fitotoxicidade (CARDOSO; LAMBAIS, 1992).

A rizosfera apresenta um grande número de bactérias que representam 25 a 30% do volume total do solo. As bactérias que crescem próximas ou associadas às raízes são estimuladas pelos exsudatos radiculares. Tendo a capacidade de promover o crescimento das plantas, sendo uma fonte produtora de metabólitos secundários, como auxinas, antibióticos, ácidos e enzimas extracelulares. Os gêneros predominantes são *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Achoromobacter* e *Agrobacterium* (CARDOSO; FREITAS, 1992).

Outro grupo de microorganismos amplamente dispersos no solo são os fungos micorrízicos arbusculares (FMAs). Os FMAs são de interesse para regiões tropicais e subtropicais como o Brasil, porque devido à baixa fertilidade dos solos e elevado requerimento de nutrientes pela maioria dos cultivos, condições ambientais estressantes, suprimento limitado de fertilizantes em certas áreas, alto custo dos financiamentos agrícolas, exaustão dos depósitos de fosfato, alto número de minifúndios com pouco poder aquisitivo e preocupação crescente com a qualidade ambiental esses microorganismos poderiam agir como promotores de crescimento das plantas (ARAÚJO; HUNGRIA, 1994).

A utilização de microorganismos na agricultura é um fator importante a ser considerado, pois reduz a necessidade de fertilizantes e promove o crescimento vegetal. As rizobactérias promotoras do crescimento de plantas (RPCP) são, internacionalmente, designadas PGPR (Plant Growth-Promoting Rhizobacteria) no ocidente e pelo seu homônimo YIB (Yield Increasing Bacteria) na China e em alguns outros países (AMORIM; MELO 2002). Constituem um grupo amplo de microorganismos, incluindo qualquer bactéria que viva na rizosfera e afete de maneira positiva o crescimento de uma ou mais plantas (FREITAS, 2007).



As RPCP promovem o crescimento das plantas através da produção de fitohormônios como auxinas, giberelinas e etileno (MELO et al., 2000). As auxinas agem na divisão, diferenciação e no alongamento celular sendo que 80% das bactérias isoladas são capazes de produzir este hormônio (TAIZ; ZEIGER, 2004). As giberelinas podem ser produzidas por microorganismos, induzindo ou promovendo o crescimento de plantas hospedeiras. A produção desses hormônios pode ser influenciada pela presença dos exsudatos radiculares, devido à existência de precursores dos hormônios, como o triptofano (LUZ, 1996).

A ação da RPCP como agentes de biocontrole podem beneficiar ou suprimir o desenvolvimento da planta hospedeira (LUZ, 1996; CRUZ et al., 2005). Os mecanismos envolvidos são competição, antibiose, parasitismo, produção de metabólitos tóxicos e indução da resistência (CUNHA, 2005).

O crescimento vegetal pode ser estimulado também pelo aumento na disponibilidade de nutrientes para as plantas, através da fixação de nitrogênio, solubilização de fosfato inorgânico e mineralização de fosfato orgânico. A simbiose entre as raízes de plantas e os microrganismos tem importante função na ciclagem e disponibilidade de nutrientes minerais às plantas, assim como no uso eficiente da água. Algumas bactérias associadas com plantas têm capacidade de fixar  $N_2$  no solo e contribuir para a disponibilização do mesmo às plantas (CANBOLAT et al., 2006).

Na produção de mudas a inoculação com isolados de rizobactérias *Pseudomonas* e *Bacillus* promoveram aumento no crescimento e melhoria na qualidade de clones de Eucaliptos (MAFIA et al., 2005). Resultados similares foram obtidos em mudas de *Pinus taeda* e *Pinus ellioti* que apresentaram ganhos significativos de biomassa da parte aérea e do sistema radicular (BRUNETTA et al., 2007).

Diferentes gêneros bacterianos, como *Pseudomonas*, *Bacillus* e *Agrobacterium*, possuem habilidade para solubilizar fosfatos de compostos inorgânicos. Isso pode significar redução na utilização de fertilizantes químicos, conseqüentemente, incremento de produtividade e qualidade nutricional do solo (VESSEY, 2003).

Cabe ressaltar a importância do fósforo, elemento essencial para as plantas, sendo constituinte de ácidos nucléicos, proteínas, coenzimas, fosfolipídios e vitaminas, indispensável ao transporte, armazenamento e transformação de energia (ATP). Atua ainda na fotossíntese, respiração, divisão e alongamento celular, estimula o crescimento radicular, interfere na formação de órgãos e reprodução, formação da semente e melhora a qualidade dos frutos (DECHEN; NACHITIGALL, 2007).

Porém, o fósforo, nos solos, pode estar tanto na forma orgânica como inorgânica,

estando a maior parte indisponível para as plantas. Desta forma, as rizobactérias, agentes solubilizadores de fósforo, são importantes promovendo aumento de P disponível na rizosfera, o que beneficia sua absorção pelas plantas (BASHAN et al., 2005). Esse efeito ocorre devido a produção de enzimas e ácidos orgânicos sintetizados pelos microorganismos e também em decorrência do incremento no desenvolvido do sistema radicular (CUNHA, 2005).

Luz (2001), avaliando o efeito do tratamento de sementes com RPCP (*Pseudomonas putida*, *Pseudomonas chlororaphis*, *Pantoea agglomerans* e *Bacillus subtilis*) obteve menor contaminação por fungos patogênicos presentes na semente de trigo, maior emergência das plântulas e aumento do rendimento de grãos de trigo.

Além disso, as RPCP podem agir no sequestro de ferro de baixo peso molecular e sua disponibilização para as plantas em forma do complexo sideróforo –  $Fe^{3+}$ . O ferro é um nutriente essencial para as plantas, mas relativamente insolúvel na solução do solo ( $Fe^{3+}$ ). Os sideróforos são produzidos em baixas concentrações de ferro atuando como promotores de crescimento vegetal além de imobilizar o ferro que estaria disponível para a proliferação dos fitopatógenos (VESSEY, 2003).

Os sideróforos podem formar complexos relativamente estáveis com cobre, alumínio, molibdênio e alguns outros elementos. Esses compostos atuam do lado externo da membrana celular capturando moléculas de ferro em solução e ligando-se, especificamente, aos receptores do complexo localizados na membrana, por onde são absorvidos, tornando dessa forma o ferro absorvido disponível para o crescimento dos vegetais (BENITE; MACHADO, 2002).

O uso de RPCP como indutoras de resistência sistêmica contra diferentes patógenos de plantas vem demonstrando bons resultados em determinadas condições de campo. Entende-se por indução de resistência sistêmica o aumento da capacidade de defesa da planta contra diversos patógenos após estimulação apropriada, tornando-a mais resistente. É caracterizada pelo acúmulo de ácido salicílico e proteínas relacionadas à patogênese (RAMAMOORTHY, et al., 2001). A indução de resistência sistêmica está diretamente ligada a alterações bioquímicas e estruturais na planta (LUZ, 1996).

A resistência induzida por RPCP atua contra doenças causadas por fungos, vírus, bactérias, insetos e nematóides. A utilização de isolados nativos como indutores da defesa das plantas pode ser a resposta para o aumento de suas aplicações e oferece um caminho prático para transmitir imunização (RAMAMOORTHY et al., 2001). As principais RPCP envolvidas são: *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas spp* e *Serratia marcescens* (LUZ, 1996).

Além das RPCP, os fungos micorrízicos arbusculares são importantes na promoção do crescimento vegetal. A simbiose entre plantas e fungos surgiu há cerca de 450 – 500 milhões de anos, sendo que os FMAs são simbioses obrigatórios, ou seja, dependem da simbiose com plantas compatíveis para sua multiplicação. Os benefícios da simbiose micorrízica dependem da interação entre macro e micro simbioses e das características ambientais, como disponibilidade de fósforo e oferta de carbono ao simbiote (BERBARA, 2006).

Existem duas classes principais de fungos, as ectomicorrizas e as endomicorrizas (SIQUEIRA, 1994). Os FMAs pertencem à classe dos endomicorrízicos sendo que as hifas crescem inter e intracelularmente no córtex da raiz (TAIZ; ZEIGER, 2004). Esses formam simbiose mutualística denominada de micorriza arbuscular, ocorrendo em aproximadamente 80% das espécies vegetais superiores (RAVEN et al., 2001).

Alguns autores, entre os quais Smith e Red (1997), classificaram as plantas de acordo com sua dependência micorrízica (DM) em facultativas, obrigatórias e não micorrízicas. A dependência micorrízica é definida como o grau de dependência da planta na condição micorrízica para atingir seu crescimento ou produção máxima num determinado nível de fertilidade do solo (MIRANDA, 2001). Plantas que apresentam raízes grossas e poucas pelos radiculares, como a mandioca e o pinus, são consideradas mais dependentes dos FMAs. A DM é variável dependendo da espécie, por exemplo, soja 62 a 87%, milho 49 a 68% e milho 25 a 56% DM. Assim, ao manejar os sistemas de produção, recomenda-se utilizar espécies dependentes da micorrização no processo de rotação de culturas, para que a colonização seja favorecida (CARDOSO; LAMBAIS, 1992).

Além disso, fatores como o método de preparo do solo, fonte de corretivos, dosagem e modo de aplicação dos fertilizantes podem afetar a micorrização, e em alguns casos até podem inibir. As plantas que não tem micorrizas crescem pobremente ou não crescem. Estes organismos são capazes de adsorver e transportar fósforo do solo, além de cobre, manganês e zinco, elementos essenciais para as plantas. Isso ocorre, pois a rede de hifas do fungo se estende alguns centímetros além da zona colonizada pelas raízes das plantas, tornando - as aptas a obter nutrientes e explorar um maior volume de solo. O fungo se beneficia da associação obtendo carboidrato da planta hospedeira (MIRANDA, 2001).

A associação micorrízica resulta em vários benefícios para os organismos envolvidos como, por exemplo, favorece a absorção, translocação e utilização de água e nutrientes, principalmente os elementos minerais de baixa mobilidade no solo. Esta associação também pode promover modificações na taxa de crescimento da raiz, melhorias no crescimento das plantas são esperadas até mesmo em áreas de baixa fertilidade ou degradadas impróprias ao

seu crescimento, além da proteção das plantas frente a patógenos e maior resistência a estresses salino e hídrico (MIRANDA, 2005).

Os mecanismos que regulam a formação das micorrizas arbusculares são pouco conhecidos, porém sabe-se que a concentração de íons fósforo (P) na planta é determinante para que ocorra simbiose (SMITH; RED, 1997). Em concentrações baixas de P a simbiose ocorre normalmente, no entanto, em concentrações elevadas seu desenvolvimento é comprometido. A disponibilidade de P afeta o balanço de açúcares nas raízes e de fitohormônios, além da expressão dos genes de defesa vegetal (KIRIACHEK et al., 2009).

A utilização de fungos micorrízicos também está sendo associada à recuperação de áreas degradadas ou poluídas. A presença de FMA em ambiente contaminado por metais pesados pode atenuar os sintomas de toxicidade ou diminuir a absorção dos metais pesados pelas plantas (NOGUEIRA, 2007).

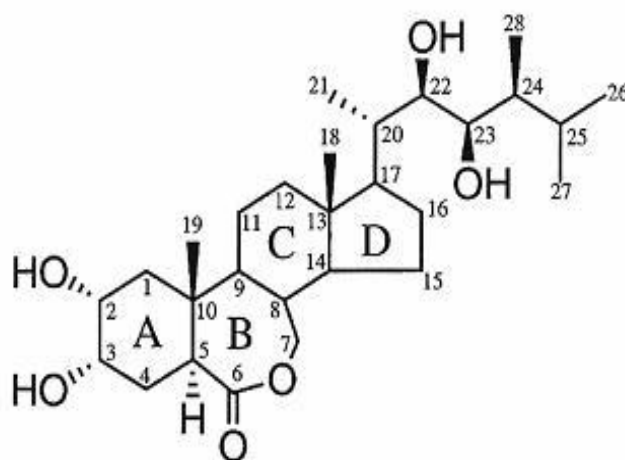
Algumas espécies respondem de forma positiva à inoculação com fungos, como pode ser observada por Stancato e Silveira (2006) testando diferentes FMAs em cultivo de *Anthurium andraeanum* para estimular a autotrofia de plântulas micropropagadas, obtiveram resultados satisfatórios em termos de produção de matéria seca e colonização micorrízica. Isso provavelmente ocorreu devido à maior absorção de nutrientes pelas plantas uma vez que os FMAs conseguem explorar maior volume de solo.

A dependência micorrízica foi testada em mudas de *Cedrela fissilis* (cedro) cultivada em casa-de-vegetação, sendo observado elevado grau de dependência quando utilizado o fungo *Glomus clarum* na fase de viveiro, o que garantiu o sucesso no estabelecimento e crescimento das mudas no campo (ROCHA et al., 2006). Resultados semelhantes foram obtidos por Miranda (2001), avaliando o crescimento de mudas de pequi, acerola e manga, com e sem inoculação, sendo que as plantas micorrizadas apresentaram maior rendimento, comprovando, desta forma, que os FMAs aceleram o crescimento e melhoram a qualidade das mudas de tais espécies.

As mudas inoculadas com fungos desenvolvem-se mais rápido, o que reduz o tempo no viveiro e conseqüentemente, podem ser disponibilizadas ao produtor para plantio a campo. Além disso, as plantas apresentam maior tolerância ao estresse do transplante e maior sobrevivência no campo (MIRANDA, 2001).

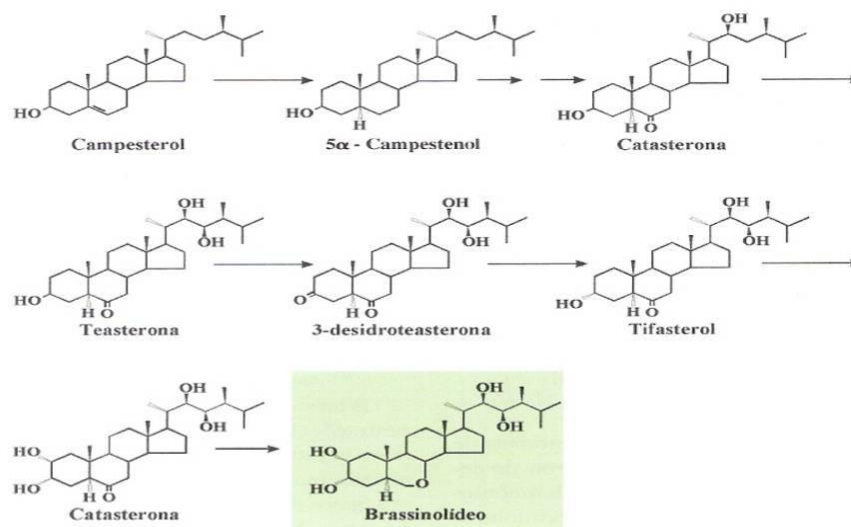
## 2.4 Promoção do crescimento por brassinosteroides

Os brasinosteroides (BRs) são polihidroxiesteroides com 27-29 átomos de carbono e encontram-se amplamente distribuídos no reino vegetal em baixíssimas concentrações. São obtidos por síntese química e, por seu modo de ação, são considerados atualmente, a sexta classe de hormônios vegetais (ZULLO; ADAM, 2002; TAIZ; ZEIGER, 2004). O BR mais comum é a brasinólida (SOLLI, 2004), conforme a Figura 2.



**Figura 2:** Estrutura química da brasinólida (BR) natural com a numeração dos carbonos. Fonte: (FUJIOKA; YOKOTA, 2003).

Os BRs mais importantes, abundantes e comuns são: catasterona, brassinólida, typhasterol e teasterona (Figura 3). Os dois primeiros têm maior atividade biológica e maior amplitude de efeitos (SOLLI, 2004).



**Figura 3:** Via de biossíntese dos brassinosteroides. Fonte: (KERBAUY, 2004).

Os brassinosteroides são encontrados em todos os órgãos vegetais, apresentando altos teores em tecidos jovens, em crescimento, quando comparados com tecidos mais maduros. As concentrações mais altas são encontradas nos grãos de pólen e sementes imaturas (BAJGUZ; TRETYN, 2003) sendo que a síntese dos BRs deve ocorrer a partir de outros de seus fitosteróides, como sitosterol e campesterol (ZULLO; ADAM, 2002). A percepção dos BRs ocorre na membrana plasmática e seus efeitos são mediados pela transdução de sinais em cadeia.

Essas substâncias têm sido foco de grande atenção em pesquisas devido a sua importante atividade como promotor do crescimento vegetal, sendo objeto de estudo nas revisões (NÚÑEZ; MAZORRA, 1999; NÚÑEZ, 2001; ZULLO; ADAM 2002; RAO, 2002; BAJGUZ; TRETYN 2003; MAZORRA; NÚÑEZ, 2008).

Esse regulador vegetal promove a divisão e alongamento celular (GROVE et al., 1979; CLOUSE; SASSE, 1998), podendo interagir com outros hormônios ou agir de forma similar a estes, estimular e ou inibir o crescimento radicular (MÜSSIG et al., 2003; BAO et al., 2004; MAZORRA; NÚÑEZ, 2008). Além disso, proporcionam o aumento no rendimento e produção de biomassa, aceleram o processo de maturação das plantas (MAZORRA; NÚÑEZ, 2008), aumentam o percentual de germinação de sementes, florescimento e retardamento da abscisão de folhas (RAO et al., 2002). Os BRs foram associados à indução da síntese de etileno, aumentam a resistência ao ataque de pragas e doenças e a tolerância das plantas aos estresses abióticos como salinidade, calor, seco e frio, sugerindo que essas substâncias possuem uma função na resposta contra diferentes tipos de estresses (KRISHNA, 2003; GARCÍA et al., 2005; NÚÑEZ et al., 2006). Os mecanismos pelos quais os BRs modulam as respostas a estes estresses não estão compreendidos.

Desde a identificação dos brassinosteroides no reino vegetal, estudos têm verificado a possibilidade de uso em cultivos agrícolas (MANDAVA et al., 1988) e compostos sintéticos têm sido criados para uso comercial (CORTES et al., 2003).

O análogo de brassinosteróide chamado de Biobras - 16<sup>®</sup> foi criado no Laboratório de Productos Naturais da Universidade de La Havana em Cuba. É uma substância semi - sintética, considerada natural, estimuladora do crescimento vegetal, substituta de citocininas e auxinas (MAZORRA; NÚÑEZ, 2008). É utilizado em meio de cultivo como um estimulador do crescimento vegetal.

Em Cuba, diferentes análogos de brasinoesteroides tem sido testados em cultivo *in vitro* para a formação de calos embriogênicos de batata (MORÉ, et al., 2001), batata - doce

(GONZÁLES et al., 2003) e alface (NÚÑEZ et al., 2004). Além disso, foram encontrados resultados satisfatórios no enraizamento de goiaba (RAMÍREZ et al., 2003) e no rendimento de soja (NÚÑEZ; ROBAINA, 2000; CORBERA; NÚÑEZ, 2004).

Costales et al. (2008) avaliando os efeitos da aplicação de Biobras-16<sup>®</sup> sobre a nodulação *in vitro* de plântulas de soja, observaram melhora na interação simbiótica com *Bradyrhizobium* quando as sementes foram embebidas em Biobras-16<sup>®</sup> em todas as concentrações testadas (0,01; 0,05 e 0,10 mg. L<sup>-1</sup>). Já para a cultura de tomate a utilização de brassinosteroides em concentrações de 10<sup>-4</sup> mg. L<sup>-1</sup> associado à 6 - Benzilaminopurina (BAP) no meio de cultivo proporcionou a formação de calos e lento processo de regeneração indireta (PLANA et al., 2002).

O efeito da aplicação de brassinosteroides sobre a germinação e crescimento inicial de plântulas de tomate, submetidas a estresse salino, revelou que a concentração 10<sup>-6</sup> mol L<sup>-1</sup> inibiu a germinação e o crescimento da variedade Amalia (REYES et al., 2010). Segundo García et al. (2003) os brassinosteroides agiram de forma positiva sobre o índice de velocidade de germinação assim como em parâmetros morfológicos, das plântulas de pepino, embora não tenha sido observada diferença significativa na porcentagem de germinação

Catunda et al. (2008) testando diferentes concentrações de Biobras-16<sup>®</sup> e dois substratos sobre o crescimento de mudas micropropagadas de abacaxizeiro, revelaram que a concentração de 0,1 mg. L<sup>-1</sup> proporcionou maior acúmulo de matéria seca, embora tenham sido obtidas diferentes respostas em relação ao substrato.

Em adição é reportado na literatura, o efeito da aplicação de brassinosteroide sobre a incidência de pragas na cultura do fumo, há uma diminuição considerável no número de pragas na cultura estudada (CORRÍA; OCHOA, 2008).

O amplo espectro de ação dos brassinosteroides e os resultados positivos alcançados em várias culturas lhe asseguram um papel importante para as ciências biológicas e agrícolas sendo uma possibilidade concreta a aplicação em cultivos agrícolas comerciais (MANDAVA et al., 1988; CORTES et al., 2003).

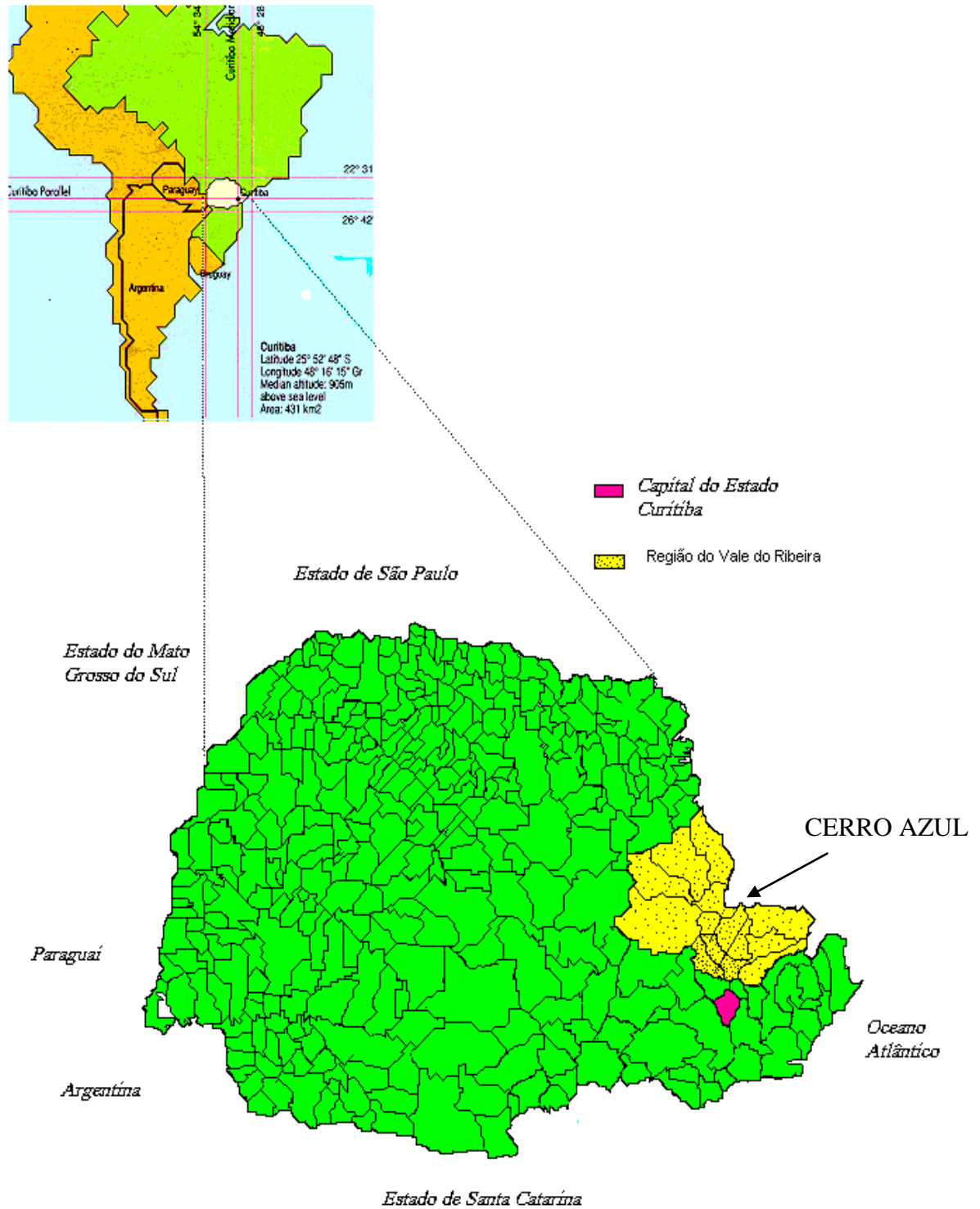
## 2.5 Caracterização da área de estudo

Vale do Ribeira é a denominação genérica da Bacia Hidrográfica do Rio Ribeira de Iguape e o Complexo Estuarino Lagunar de Iguape-Cananéia-Paranaguá, localizado nos estados de São Paulo e do Paraná (Figura 4). No Estado do Paraná é composta pelos

municípios de Adrianópolis, Bocaiuva do Sul, Cerro Azul, Doutor Ulysses, Itaperuçu, Rio Branco do Sul e Tunas do Paraná, sendo a maior concentração dos habitantes na área rural, com exceção de Itaperuçu e Rio Branco do Sul, que se aglomeram na área urbana (VALE DO RIBEIRA, 2008).

É uma zona de estagnação econômica e de baixo desenvolvimento social, sendo uma das regiões mais carentes do estado, inclusive fazendo parte de programas federais como “Território da Cidadania” que visam promover o desenvolvimento local de forma sustentável (BIANCHINI, 2010). As principais atividades agrícolas dos municípios do Vale do Ribeira concentram-se no cultivo de espécies de subsistência como o milho, feijão e mandioca (PERACI, 2002). Entre as atividades agropecuárias da região não se verifica nenhum destaque de representatividade no âmbito estadual, com exceção de algumas frutas cítricas, nos municípios de Cerro Azul e Doutor Ulysses, que representam 6,3% e 2,3% da produção estadual, respectivamente. Na atividade extrativista de madeira tais municípios apresentam 1,8% e 2,3% do total do estado (IPARDES, 2003).





**Figura 4:** Localização do município de Cerro Azul, Paraná, Brasil. Fonte: (IPARDES, 2010).

Nesta região, a agricultura é desenvolvida com a utilização de baixa tecnologia, e o relevo ondulado dificulta a condução de lavouras anuais. A força de trabalho é em sua maioria braçal e a mão de obra familiar. A renda familiar é relativamente baixa e a falta de perspectivas e de oportunidades favorece o aparecimento de bolsões de pobreza (IPARDES,

2010).

Este cenário não ocorre somente no Vale do Ribeira, mas também em grande parte do Brasil, onde a agricultura detém cerca de cinco milhões e meio de agricultores, destes cerca de 80%, ou seja, aproximadamente quatro milhões e meio são agricultores familiares, que na maioria das vezes desempenham seu trabalho com o mínimo de capital, tecnologia e, geralmente, com pouco conhecimento formal (ROZANSKI et al., 2008). Entretanto, o pequeno produtor rural é responsável pela produção de cerca de 70% do alimento consumido no país, conforme censo do IBGE em 2006.

O município de Cerro Azul local deste estudo teve sua população estimada pelo IBGE em 2010 de 16.948 habitantes, sendo 71,6% residentes na zona rural e 28,4% na zona urbana, distante 85 quilômetros da capital do estado. A atividade agrícola é desenvolvida com a utilização de baixa tecnologia, sendo uma agricultura de subsistência, a qual associada à pequena extensão de terra da maioria dos produtores torna o município bastante carente. O cultivo de laranjas e tangerinas é o mais importante sendo o município conhecido como a “terra da laranja”. Esse cultivo ocupa cerca de 11.000 hectares e envolve aproximadamente 4.300 produtores rurais (FONTE, 2002).

A produção de citrus possui variação de rentabilidade econômica, pois os frutos apresentam baixa qualidade, o que interfere na remuneração aos agricultores. Além disso, a condução de lavouras anuais é dificultada devido aos grandes desníveis altimétricos, relevo ondulado a fortemente ondulado e a utilização de maquinário agrícola é problemática, primeiro pelas condições econômicas para a aquisição das mesmas e segundo pelas condições naturais do ambiente (CERRO AZUL, 2008).

No município de Cerro Azul, assim como em outros municípios do Vale do Ribeira, centrado na produção agrícola de subsistência, e mão de obra familiar, a implementação de cultivos de oleaginosas, inclusive de bocaiuva para a produção de biodiesel (BATISTA, 2009) em pequenas propriedades pode alterar esse cenário, porém necessita de um plano de uso da terra de forma a agregar valor a produção na pequena propriedade, sem impactar a atual produção de alimentos.

Desta forma, o cultivo e a exploração da bocaiuva poderiam ser incentivados nesta região, com o objetivo de proporcionar a diversificação da agricultura familiar e ser uma fonte de renda adicional, através do consórcio com outras espécies, em sistemas agrofloretais (COLLARES, 2010; DIAS et al., 2010).

As combinações de culturas agrícolas e/ou pecuária com espécies florestais nativas e/ou introduzidas é uma prática comum em algumas regiões do Brasil, principalmente onde os

produtores possuem pouca extensão de terra (GRAÇA, 2000). Assim, além de fornecerem produtos para a subsistência do agricultor, proporcionam um melhor aproveitamento da área (LIMA, 1988).

Os sistemas agroflorestais ou silvipastoris (SAF) apresentam benefícios econômicos, pois o cultivo simultâneo de espécies arbóreas e agrícolas, na mesma área, proporciona maior incremento na produtividade, aumento na qualidade das forragens, diversificação na produção e aumento de renda. Como vantagens ecológicas e ambientais podem ser citadas a conservação e recuperação de solos degradados, proteção de recursos hídricos e geração de microclima adequado às pessoas, plantas e animais. Sob o aspecto social, ocorre melhoria na qualidade de vida do produtor e aumento de emprego. Como aspectos negativos podem ser ressaltados o alto custo de implantação e manutenção dos cultivos e retorno financeiro a médio e longo prazo (BAGGIO, 1998; RODIGHERI, 2000).

## REFERÊNCIAS

- AGUIAR, F.; BULHÕES, A. C.; PEREIRA, A. L. **Biodiesel: aspectos gerais.** (2005). Disponível em: <<http://www.mbdobrasil.com.br>>. Acesso em: 03/02/2008.
- ALMEIDA, S. P.; PROENÇA, C. E. B.; SANO, S. M.; RIBEIRO, J. F. **Cerrado: espécies vegetais úteis.** Planaltina: Embrapa - CPAC; 1998. 464 p.
- AMBIENTE BRASIL. **Frutas nativas do cerrado: qualidade nutricional e sabor peculiar.** Disponível em: <<http://www..com.br/composer.php3?base=/ambientebrasil/biotecnologia/index.html&conteudo=../biotecnologia/artigos.html>>. Acesso: 20/10/2008.
- AMORIM, E. P. da R.; MELO, I. S. de. Ação antagonica de rizobactérias contra *Phytophthora parasitica* e *P. citrophthora* e seu efeito no desenvolvimento de plântulas de citros. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 24, n. 2, p. 565-568, 2002.
- ARAÚJO, R. S; HUNGRIA, M. **Microorganismos de importância agrícola.** Brasília: Embrapa – CNPAF/CNPSo, 1994. 236p. (EMBRAPA/CNPAF. Documentos, 44).
- BAGGIO, A. J. **Seleção de espécies para formação de bosquetes de proteção em pastagens para a região do arenito Caiuá, no Paraná.** Colombo: Embrapa Floresta – CNPF, 1998. 5p. ( EMBRAPA/CNPF. Pesquisa em Andamento, n. 61).
- BAJGUZ, A.; TRETYN, A. The chemical characteristic and distribution of brassinosteroides in plants. **Phytochemistry**, New York, v. 62, n. 7, p. 1027-1046, april. 2003.
- BANDEIRA, F. S. **Cultivo in vitro e embriogênese somática de embriões zigóticos de macaúba (*Acrocomia aculeata* (Jacq) Loddiges.** 92f. Tese (Doutorado em Ciência Florestal), Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais, 2008.
- BAO, F.; SHEN J.; BRADY S. R.; MUDAY G. K.; ASAMI T.; YANG Z. Brassinosteroids interact with auxin to promote lateral root development in *Arabidopsis*. **Plant Physiology**, Washington, v. 134, p. 1624–1631, 2004.
- BARROSO, P. A. V.; MOURA, G. E. D. D.; BRITO, L. J. F.; MARTINS, C. P.; MACEDO, C. E. C; LOPES, D. B.; ALLOUFA, M. A. I. Efeito do cultivo *in vitro* na presença de NaCl em plantas de abacaxizeiro na fase de aclimação. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 7, n. 3, p. 473-477, 2003.
- BASHAN, Y.; BASHAN, L. E. Bacteria - Plant growth-promoting. In: HILLEL, D. **Encyclopedia of soils in the environment.** Oxford: Elsevier, v. 1, p. 103-115, 2005.
- BATISTA, A. C. F. **Biodiesel no tanque.** Disponível em:<[http://ambientes.ambientebrasil.com.br/energia/artigos\\_energia/biodiesel\\_no\\_tanque.htm](http://ambientes.ambientebrasil.com.br/energia/artigos_energia/biodiesel_no_tanque.htm)>. Acesso em: 12/10/2009.
- BENITE, A. M. C.; MACHADO, S. de P. Sideróforos: uma resposta dos microorganismos. **Química Nova**, São Paulo, v. 25. n. 6B, p. 1155-1164, 2002.

BERBARA, R. L. L.; SOUZA, F. A.; FONSECA, H. M. A. C. Fungos micorrízicos arbusculares: muito além da nutrição. In: FERNANDES, M. S. (Org.). **Nutrição mineral de plantas**. Viçosa, MG. Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2006. p. 53-88.

BIANCHINI, V. **O Programa Nacional de Fortalecimento da Agricultura Familiar – PRONAF – e a Sustentabilidade da Agricultura no Vale do Ribeira – Paraná**. 413f. Tese (Doutorado em Desenvolvimento e Meio Ambiente). Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2010.

BRUNETTA, J. M. F. C.; ALFENAS, A. C.; MAFIA, R. G.; GOMES, J. M.; BINOTI, D. B.; FONSECA, E. de P. Avaliação da especificidade de rizobactérias isoladas de diferentes espécies de *Pinus sp.* **Revista Árvore**, Viçosa, v. 31, n. 6, p. 1027 -1033, 2007.

CANBOLAT, M.; BILEN, S.; ÇAKMAKÇI, R.; SAHIN, F.; AYDI, A. Effect of plant growth-promoting bacteria and soil compaction on barley seedling growth, nutrient uptake, soil properties and rhizosphere microflora. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 42, n. 4, p. 350-357, 2006.

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

CARDOSO, J. N. O. **Conversão *in vitro* de embrião em planta de híbridos de dendezeiro**. 52f. Dissertação (Mestrado em Agronomia, Área de concentração em Produção Vegetal). Universidade Federal Rural da Amazônia, 2010.

CARDOSO, E. J. B. N.; FREITAS, S. S. A rizosfera. In: CARDOSO, E. J. B. N.; TSAI, S. M.; NEVES, M.C.P., (Eds.). **Microbiologia do solo**. Campinas: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 1992. p. 41-57.

CARDOSO, E. J. B. N.; LAMBAIS, M. R. Aplicações práticas de micorrizas vesículo-arbusculares (MVA) In: CARDOSO, E. J. B. C.; TSAI, S. M. & NEVES, M. C. P. (Eds.) **Microbiologia do solo**. Campinas: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 1992. p. 283-296.

CATUNDA, P. E. A.; MARINHO, C. S.; GOMES, M. M. A.; CARVALHO, A. J. C. Brassinosteroide e substratos na aclimatização do abacaxizeiro ‘Imperial’. **Acta Scientiarum. Agronomy**, Maringá, v. 30, n. 3, p. 345-352, 2008.

**CERRO AZUL**. Disponível em:<[http://pt.wikipedia.org/wiki/cerro azul](http://pt.wikipedia.org/wiki/cerro_azul). Acesso em 19 maio 2008.

CID, L. P. B.; TEIXEIRA, J. B. Explante, meio nutritivo, luz e temperatura. In: CID, L. P. B. **Cultivo in vitro de plantas**. Brasília, DF, 2010. p. 15-49.

CID, L. P. B. A propagação *in vitro* de plantas. O que é isso? **Biociência**, Brasília, ano III, n. 19, p. 16-21, 2001.

CIPRIANO R. **Descobrimo o poder da macaúba.** Disponível em: <<http://www.embrapa.br/imprensa/noticias/2006/foldernoticia.2006-04-03.3722359657/noticia.2006-04-26.0919750710>>. Acesso em 10/11/2008.

CLEMENT, C. R.; LLERAS, E.; VAN LEEUWEN, J. O potencial das palmeiras tropicais no Brasil: Acertos e fracassos das últimas décadas. **Agrociencias**, Montevideo. v. IX, n. 1 e 2, p. 67-71, 2005.

CLOUSE, S. D.; SASSE, J. Brassinosteroids: essential regulators of plant growth and development. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v. 49, p. 427-451, 1998.

COLLARES, D. **Espécie nativa da Amazônia pode virar biodiesel.** Disponível em: <<http://www.eventobionergia.com.br/congresso/br/noticia53.php>>. Acesso em 25/05/10.

CORBERA, J.; NÚÑEZ, M. Evaluación agronómica del análogo de brasinoesteróide BB-6 en soya, inoculada com *B. japonicum* y HMA, cultivada en invierno sobre un suelo Ferralsol. **Cultivos Tropicales**, Cuba, v. 25, n. 3, p. 9-13, 2004.

CORRÍA, F. C. C.; OCHOA, N. L. G., Influencia de las aplicaciones del Bion y algunos bioestimulantes em la incidência de organismos plagas em el tabaco (*Nicotiana tabacum*, L.). **Revista Eletronica Granma Ciencia**, Cuba, v. 12, n. 2, 2008.

CORTES, P. A.; TERRAZAS; T.; LEÓN, C.; SAAVEDRA, A. L. Brassinosteroid effects on the precocity and yield of cladodes of cactus pear (*Opuntia ficus-indica* (L.) Mill.). **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 97, p. 65-73, 2003. Disponível em: <[www.elsevier.com/locate/scihorti](http://www.elsevier.com/locate/scihorti)>. Acesso em: 14/04/2011. doi: 10.1016/S0304-4238(02)00080-8.

COSTA, N. M. de S.; ALOUFA, M. A. I. Desenvolvimento *in vitro* de embriões zigóticos de tamareira. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 38, n. 3, p. 276-279, 2007.

COSTA, C. F. da. **Solos e outros fatores ambientais associados à diversidade fenotípica de macaubais no Estado de São Paulo.** 54f. Dissertação (Mestrado em Gestão dos Recursos Agroambientais). Curso de Pós Graduação em Agricultura Tropical e Subtropical. Instituto Agronômico de Campinas, Campinas, 2009.

COSTALES, D.; NÁPOLES, M. C.; FALCÓN, A.; NÚÑEZ, M. Influencia de un análogo de brasinoesteróide sobre la nodulación de plántulas de soya (*Glycine max* (L) Merrill). **Cultivos Tropicales**, Cuba, v. 29, n. 2, p. 65-69, 2008.

CRUZ, J. C. S.; ROCHA, M. de M.; CAMPOS JUNIOR, O. Saúde ambiental: microrganismos de solo e o controle de fitopatógenos. **O mundo da saúde**. São Paulo, v. 29, n. 2, p. 252-257, 2005.

CUNHA, J. F. **Rizobacterização no crescimento de mudas de sibipiruna (*Caesalpinia peltophoroides* Benth).** 64f. Dissertação (Mestrado em Ciência Florestal) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais. 2005.

DECHEN, A. R.; NACHITIGALL, G. R. Elementos requeridos a nutrição de plantas. In: NOVAIS, R. F. et al. **Fertilidade do solo**. Viçosa – MG: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2007. p. 91-132.

DIAS, H. C. T.; MORAES, T. de C.; SATO, A. Y.; BENTO, P. S.; MOTOIKE, S. Y. Efeito da presença de animais no sistema silvipastoril com Macaúba (*Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd. Ex Martius). In: **Congresso Brasileiro de Reflorestamento Ambiental**, 2011, Guarapari – ES. Anais... Guarapari: SESC Centro de Turismo de Guarapari, 2011.

FREITAS, S. dos S. Rizobactérias promotoras do crescimento de plantas In: SILVEIRA, A. P. D. da.; FREITAS, S. dos S. **Microbiota do solo e qualidade ambiental**. Campinas: Instituto Agrônomo de Campinas, 2007. Cap.1, p. 1-20.

FONTE, J. R. **Pluriatividade no contexto da Região Metropolitana de Curitiba – PR**. 107f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) - Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2002.

FUJIOKA, S.; YOKOTA, T. Biosynthesis and metabolism of brassinosteroids. **Annual Review of Plant Biology**, Palo Alto, v. 54, n. 1, p. 137-164, 2003.

GARCÍA, A.; RODRÍGUEZ, T.; HÉCTOR, E.; NÚÑEZ, M. Efecto del análogo de brasinoesteroides MH-5 en el crecimiento *in vitro* del arroz (*Oryza sativa* L.) en condiciones de déficit hídrico. **Cultivos Tropicales**, Cuba, v. 26, n. 1, p. 89-93, 2005.

GARCÍA, J. L. C.; DÍAZ, N. F.; LÓPEZ, M. E. Efecto del Biobras-16 sobre la germinación de las semillas y la morfología de las plántulas en el cultivo de pepino (*Cucumis sativus*, var. SS-5). **Centro Agrícola**, Villa Clara, Cuba, n. 4, p. 50 – 53, 2003.

GRAÇA, L. R.; RODIGHIERI, H. R.; CONTO, A. J. de. **Custos florestais de produção: conceituação e aplicação**. Colombo: Embrapa Florestas, 2000. 32p. (Embrapa Florestas. Documentos, 50).

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

GROVE, M. D.; SPENCER, G. F.; ROHWEDDER, W. K.; MANDAVA, N.; WORLEY, J. F.; WARTHEN JR, J. D.; STEFFENS, G. L.; FLIPPEN-ANDERSON J. L.; COOK JR, C. J. Brassinolide, a plant growth-promoting steroid isolated from *Brassica napus* pollen. **Nature**, London, v. 281, p. 216-217, 1979.

GUERRA, M.P.; HANDRO, W. Somatic embryogenesis and plant regeneration in different organs of *Euterpe edulis* Mart. (Palmae): control and structural features. **Journal of Plant Research**, Tokyo, v. 111, n. 1101, p. 65-71, 1998.

HENDERSON, A.; GALEANO, G.; BERNAL, R. **Field Guide to the Palms of the Americas**. New Jersey: Princeton University, 1995. p.166 – 167.

HIANE, P. A.; BALDASSO, P. A.; MARANGONI, S.; MACEDO, M. L. R. Chemical and nutritional evaluation of kernels of bocaiuva, *Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd. **Ciência Tecnologia de Alimentos**. Campinas, v. 26, n. 3, p. 683-689, 2006.

HIANE, P. A. RAMOS FILHO, M. M.; RAMOS, M. I. L.; MACEDO, M. L. R. Óleo da polpa e amêndoa de bocaiuva, *Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd. Caracterização e composição em ácidos graxos. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 8, n. 3, p. 256-259, 2005.

HU, C. Y.; FERREIRA, A. G. Cultura de embriões. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. (Eds.). **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: EMBRAPA-SPI; EMBRAPA -CNPQ, 1998. v. 1, p. 371-393.

**IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística**. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/cidadesat/topwindow.htm?>>. Acesso em: 15/05/2009.

**IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística**. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/cidadesat/link.php?uf=pr.>> Acesso em: 20/11/2010.

**IPARDES. Instituto Paranaense de Desenvolvimento Econômico e Social**. Caderno Estatístico do Município de Cerro Azul. Curitiba, 2010. 29p.

**IPARDES. Instituto Paranaense de Desenvolvimento Econômico e Social**. Vale do Ribeira: referências da Dinâmica Regional. Curitiba, 2003.

JORDAN, M. Brassinosteroides em plantas superiores: Síntese e Propriedades Fisiológicas. In: CID, L. P. B. **Hormônios vegetais em plantas superiores**. Brasília: Embrapa Recursos Energéticos e Biotecnologia, 2005. v. 1, Cap. VI, p. 147-166.

JORGE, M. H. A.; LARA, J. A. F.; CLEMENTE, P. R.; SALIS, S. M. Composição química da farinha de bocaiúva (*Acrocomia aculeata* (Jacq) Lodd ex Mart.) produzida em Corumbá, MS. In: **IV Simpósio sobre recursos naturais e sócio econômicos do pantanal**. Corumbá MS, 2004.

KERBAUY, G. B. **Fisiologia vegetal**. 1ª. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. 452p.

KIRIACHEK, S. G.; AZEVEDO, L. C. B.; PERES, L. E.; LAMBAIS, M. R. Regulação do desenvolvimento de micorrizas arbusculares. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 33, n. 1, p. 1-16, 2009.

KRISHNA, P. Brassinosteroid-mediated stress responses. **Journal of Plant Growth Regulation**, Heidelberg, v. 22, n. 4, p. 289-297, 2003.

KOHLHEPP G.; Análise da situação da produção de etanol e biodiesel no Brasil. **Estudos avançados**, São Paulo, v. 24, n. 68, p. 223-253, 2010.

LEDO, A. da S.; GOMES, K. K. P.; BARBOZA, S. B. S. C.; VIEIRA, G. S. S.; TUPINAMBÁ, E. A.; ARAGÃO, W. M. de. Cultivo *in vitro* de embriões zigóticos e aclimatação de plântulas de coqueiro-anão. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. Brasília, v. 42, n. 2, p. 147-154. 2007.



LEDO, A. S.; LAMEIRA, O. A.; BENBADIS, A. K.; MENEZES, I. C. DE; LEDO, C. A. da S.; OLIVEIRA, M. do S. P. de. Cultura *in vitro* de embriões zigóticos de açaizeiro. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 23, n. 3, p. 468-472, 2001.

LIMA, P. C. F. **Sistemas agrossilviculturais desenvolvidos no semi-árido brasileiro**. Boletim de Pesquisa Florestal, Colombo, n. 16, p. 7-17, dez. 1988.

LIMA, P. C. R. **Biodiesel um novo combustível para o Brasil**. Consultoria Legislativa. Recursos Minerais, Hídricos e Energéticos. Brasília. Fev. 2005. 31p.

LIMA; D. O.; SOGABE, V. P.; CALARGE, T. C. C. Uma Análise sobre o Mercado Mundial do Biodiesel. **XLVI Congresso da Sociedade Brasileira de Economia, Administração e Sociologia Rural**. Rio Branco – Acre, 20 a 23 de julho de 2008. Disponível em: <[www.sober.org.br/palestra/9/718.pdf](http://www.sober.org.br/palestra/9/718.pdf)>. Acesso em: 25/11/2010.

LLOYD, G.; McCOWN, B. Commercially-feasible micropropagation of Mountain laurel, *Kalmia latifolia*, by use of shoot tip culture. **Proceedings International Plant Propagator's Society**, Ashville, v. 30, p. 421-427, 1986.

LORENZI, G. M. A. C. **Acrocomia aculeata (Lodd.) ex Mart. – Arecaceae: bases para o extrativismo sustentável**. 172f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2006.

LORENZI, G. M. A. C.; NEGRELLE, R. R. B. *Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd. ex Mart: Aspectos ecológicos, usos e potencialidades. **Visão Acadêmica**, Curitiba, v. 7, n. 1, 2006.

LORENZI, H.; SOUZA, H. M.; MEDEIROS-COSTA, J. T.; CERQUEIRA, L. S. C.; BEHR, N. **Palmeiras no Brasil: exóticas e nativas**. Nova Odessa: Plantarum, 2004.

LORENZI, H.; SOUZA, H. M.; MEDEIROS-COSTA, J. T.; CERQUEIRA, L. S. C.; BEHR, N. **Palmeiras do Brasil: exóticas e nativas**. Nova Odessa: Editora Plantarum, 1996. p. 1-20.

LUZ, W. C. da. Rizobactérias promotoras de crescimento de plantas e de bioproteção. In: LUZ, W.C. da.; FERNANDES, J.M.C.; PRESTES, A.M.; PICININI, E.C. (Eds.). **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Passo Fundo, 1996. p. 1-49.

LUZ, W. C. Evaluation of plant growth-promoting and bioprotecting rhizobacteria on wheat crop. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 26, n. 3, p. 597-600, 2001.

MACAÚBA. Disponível em: <<http://www.ruralbioenergia.com.br/default.asp?tipo=1&secao=macauba.asp>>. Acesso em: 04/11/08.

MAFIA, R. G.; ALFENAS, A. C.; FERREIRA, E. M.; ZARPELON, T. G.; SIQUEIRA, L. Crescimento de mudas e produtividade de minijardins clonais de eucalipto tratadas com rizobacterias selecionadas. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 29, n. 6, p. 843-851, 2005.

MANDAVA, N. B. Plant growth-promoting brassinosteroids. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v. 39, p. 23-52, 1988.

MAZORRA, L. M.; NÚÑEZ, M. Estado actual sobre el conocimiento de la biosíntesis y los mecanismos moleculares de acción de los brassinosteroides em las plantas. **Cultivos Tropicales**, Cuba, v. 29.n. 1, p. 91-105, 2008.

MELO, B.; PINTO J. E. B. P; LUZ, J. M. Q.; PEIXOTO, J. R.; JULIATTI, F. C. Diferentes antioxidantes no controle da oxidação, germinação e desenvolvimento das plântulas na cultura *in vitro* de embriões da guarirrobeira (*Syagrus oleracea* (Mart.) Becc). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 25, p. 1301-1306, 2001.

MELO, I. S. **Rizobactérias promotoras do crescimento de plantas**. Jaguariúna, 2000. Disponível em: <<http://www.cnpma.embrapa.br>>. Acesso em: 04/05/10.

MELO, N. F. de; OKASAKI, W. Y.; LEITE, C. B.; FÁRI, M. Estabelecimento do cultivo *in vitro* da aceroleira (*Malpighia emarginata* DC.). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 23, n. 1, p. 102-107, 1999.

MIRANDA, J. C. C. **Importância da micorriza para a reprodução agrícola, frutífera e florestal**. 2005. Ciência e Pesquisa-Artigos Técnicos. <<http://www.aviculturabrasil.com.br/Cietec/artigosTexto.asp>>. Acesso em: 30/05/2010.

MIRANDA, J. C. C; MIRANDA, L. N. Produção de Mudas Inoculadas com fungos micorrízicos arbusculares em viveiros. Planaltina, DF: EMBRAPA- CPAC, 2001. 2p. (EMBRAPA- CPAC. **Comunicado Técnico**, 24.

MORÉ, O.; HERNÁNDEZ, M. M.; ESTÉVEZ, A.; GONZÁLEZ, M. E. Empleo de dos análogos de brasinoesteroides en la formación de callos embriogénicos en papa (*Solanum tuberosum* L.). **Cultivos Tropicales**, Cuba, v. 22, n. 4, p. 29-35. 2001.

MOREIRA, F. M. de S.; SIQUEIRA, J. O. Microbiologia e bioquímica do solo. **In: \_\_\_\_; \_\_\_\_.** **Rizosfera**. Lavras: UFLA, 2002, Cap.8, p. 361-397.

MOREIRA, M. A.; CARVALHO, J. G. de; PASQUAL, M.; FRÁGUAS, C. B.; SILVA, A. B. da. Efeito de substratos na aclimatização de mudas micropropagadas de abacaxizeiro cv. Pérola. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 30, n. 5, p. 875-879, 2006.

MOTOIKE, S. Y.; LOPES, F. A.; SÁ JÚNIOR, A. Q. de; CARVALHO, M.; OLIVEIRA, M. A. R. de. **Processo de Germinação e Produção de Sementes Pré-Germinadas de Palmeiras do Gênero *Acrocomia***. PI0703180-7 A2, 20 jul. 2007, 10 mar. 2009.

MOURA, E. F. **Embriogênese somática em macaúba: indução, regeneração e caracterização anatômica**. 66f. Tese (Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais, 2007.

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

MÜSSIG, C.; SHIN, G-H.; ALTMANN, T. Brassinosteroids promote root growth in Arabidopsis. **Plant Physiology**, Washington, v. 133, n. 3, p. 1261-1271, 2003.

NOGUEIRA, M. A. Micorrizas Arbusculares e Metais Pesados em Plantas In: SILVEIRA, A. P. D. da.; FREITAS, S. dos S. **Microbiota do solo e qualidade ambiental**. Campinas: Instituto Agronômico, 2007. Cap.12, p. 219-238.

NUCCI, S. M. **Desenvolvimento, caracterização e análise da utilidade de marcadores microssatélites em genética de população de macaúba**. 84f. Dissertação (Mestrado em Genética, Melhoramento Vegetal e Biotecnologia) - Instituto Agronômico de Campinas, Campinas, 2007.

NÚÑEZ, M.; MAZORRA, L. M.; MARTÍNEZ, L.; GONZÁLEZ, M. C.; ROBAINA, C. Influencia de la 24-epibrasinólida y un análogo espiroestano de brasinoesteroides en el crecimiento de plántulas de dos variedades de arroz (*Oryza sativa* L.) en medio salino. **Cultivos Tropicales**, Cuba, v. 27, n. 1, p. 75-82. 2006.

NÚÑEZ, M.; SIQUEIRA, W. J.; HERNÁNDEZ, M.; ZULLO, M. A. T.; ROBAINA, C.; COLL, F. Effect of spirostane analogues of brassinosteroids on callus formation and plant regeneration in lettuce (*Lactuca sativa*). **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Dordrecht, v. 78, n. 1, p. 97-99, 2004.

NÚÑEZ, M.; MAZORRA, M. Los brasinoesteroides y la respuesta de las plantas al estrés. **Cultivos Tropicales**, Cuba, v. 22, n. 3, p. 19-26, 2001.

NÚÑEZ, M.; ROBAINA, C. Brasinoesteroides. Nuevos reguladores del crecimiento vegetal con amplias perspectivas para la Agricultura. **Documento do Instituto Agronômico de Campinas** (IAC), 2000, n. 68, p. 1-67.

NÚÑEZ, M. Aplicaciones prácticas de los brasinoesteroides y sus análogos en la agricultura. **Cultivos Tropicales**, Cuba, v. 20, n. 3, p. 63-72. 1999.

ORTÍZ-CASTRO R.; CORNEJO H. A. C.; RODRÍGUEZ, L. M.; BUCIO, J. L. The role of microbial signals in plant growth and development. **Plant Signaling & Behavior**, v.4, n. 8, p. 701-712. Disponível em: [www.landesbioscience.com](http://www.landesbioscience.com). Acesso em: 19/06/10.

PERACI, A. S. **CONSTRUINDO NOVOS CAMINHOS –Sistematização da Experiência de Nutrição Humana e Micro Financiamento Rural dos Agricultores e Agricultoras Familiares do Vale do Ribeira – Brasil**. 38f. Departamento de Estudos Sócio-econômicos Rurais. Curitiba, 2002. Disponível em: <http://www.deser.org.br>. Acesso em: 09/12/2008.

PEREIRA, J. C. **Os microrganismos e os metais pesados do solo**. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 2001.15p. (Documento N° 132).

PEREIRA, J. C. **Interações na rizosfera**. Seropédica-RJ, 2000. Disponível em: <http://www.cnpab.embrapa.br/serviços>. Acesso em: 03/05/10.

PEREIRA, J. E. S.; FORTES, G. R. L. Multiplicação e aclimatização da macieira influenciada pelo tipo de explante e pelo tempo de permanência em meio de cultura de enraizamento. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 23, n. 2, p. 417-420, 2001.

PLANA, D.; ÁLVAREZ, M.; FLORIDO, M.; LARA, R. M.; NÚÑEZ, M. Efecto del biobrás 6 em la morfogenesis *in vitro* del tomate (*Lycopersicon esculentum*, Mill) var. Amalia. **Cultivos Tropicales**, Cuba, v. 23, n. 2, p. 21-25. 2002.

RAGHAVAN, V. **Experimental embryogenesis in vascular plants**. Academic Press, New York, 1976, 603 p.

RAMAMOORTHY, V; VISWANATHAN, R.; RAGUCHANDER, T.; PRAKASAM, V.; SAMIYAPPAN, R. Induction of systemic resistance by plant growth promoting rhizobacteria in crop plants against pests and diseases. **Crop Protection**, v. 20, n. 1, p. 1-20, 2001.

RAMOS, A; BOVI, M. L. A.; FLEGATTI, M. V.; DIOTTO, A. V. Estimativas da área foliar e da biomassa aérea da pupunheira por meio de relações alométricas. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 26, n. 2, 2008.

RAMÍREZ, A.; CRUZ, N.; FRANCHIALFARO, O. Uso de bioestimuladores en la reproducción de guayaba (*Psidium guajava* L.) mediante el enraizamiento de esquejes. **Cultivos Tropicales**; Cuba, v. 23, n. 3, p. 59-63. 2003.

RAO, S. S. R; VARDHINI, B. V.; SUJATHA, E.; ANURADHA, S. Brassinosteroids – A new class of phytohormones. **Current Science**, Bangalore, Índia, v. 82, n.10, p. 1239-1245, 2002.

RAVEN, H. P.; EVERT, F. R.; EICHHORN, E. S. **Biologia vegetal**. 6.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000. 906p.

REYES, Y.; MAZORRA, L. M.; MARTÍNEZ, L.; NÚÑEZ, M. Efecto del análogo de brasinoesteroides (Biobras-16) en la germinación y el crecimiento inicial de las plantas de dos variedades de tomate en condiciones de estrés salino. **Cultivos Tropicales**, Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas La Habana, Cuba, v. 31, n. 3, p. 82-88, 2010.

RIVALDI, J. D.; SARROUH, B. F., FIORILO, R.; SILVA, S. S. da. Glicerol de biodiesel: Estratégias biotecnológicas para o aproveitamento do glicerol gerado da produção de biodiesel. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, Brasília, n. 37, p. 44-51, 2008.

ROCHA, F. S.; SAGGIN JUNIOR, O. J.; SILVA, E. M. R. da.; LIMA, W. L. Dependência e resposta de mudas de cedro a fungos micorrízicos arbusculares. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 41, n. 1, p. 77-84, 2006.

ROCHA, D. de Q.; BARROS, D. K.; COSTA, E. J. C.; SOUZA, K. S. de.; PASSOS, R. R.; VEIGA JUNIOR, V. F. da.; CHAAR, J. da S. Determinação da matéria-prima utilizada na produção do biodiesel adicionado ao diesel mineral através de monitoramento seletivo de íons. **Química Nova**, São Paulo, v. 31, n. 5, p. 1062-1066. 2008.

RODIGHERI, H. R. **Florestas como alternativas de aumento de emprego e renda na propriedade rural**. Colombo: Embrapa Florestas, 2000. 13p. (Embrapa Florestas. Circular Técnica, 42).

ROZANSKI, S.; PIVATTO, D. R. D.; BASILIO, G.; CARVALHO, V. M.; BERTAGNON, H. G. Extensão e Planejamento na Agricultura Familiar da Região de Prudentópolis-PR. Guarapuava, 2008. In: **Anais do I salão de extensão: estabelecendo diálogos, construindo perspectivas**. Disponível em:

<[www.unicentro.br/proec/publicacoes/salao2008/artigos/Gabriela%20Basílio.pdf](http://www.unicentro.br/proec/publicacoes/salao2008/artigos/Gabriela%20Basílio.pdf)> Acesso em: 04/04/09.

SARASAN, V.; RAMSAY, M.; ROBERTS, A. *In vitro* germination and induction of direct somatic embryogenesis in “Bottle Palm” (*Hyophorbe lagenicaulis* L. Bailey H. E. Moore), a critically endangered mauritian palm. **Plant Cell Reports**, v. 20, p. 1107-1111, 2002.

SILVA, A. T. da.; PASQUAL, M.; ISHIDA, J. S.; ANTUNES, L. E. C. Aclimação de plantas provenientes da cultura *in vitro*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 30, n. 1, p. 49-53, 1995.

SILVA, J. A.; SILVA, D. B.; JUNQUEIRA, N. T. V.; ANDRADE, L. R. N. **Frutas nativas dos cerrados**. Brasília: EMBRAPA-CPAC. 2001. p. 166.

SILVA, J. C. **Bocaiuva: fonte de matéria-prima para os setores alimentício, energético e industrial**, 41f. (Trabalho de conclusão da disciplina - Cultivo de essências exóticas e nativas). Departamento de Engenharia Florestal - Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, 1994.

SILVA, V. dos S. **Regeneração in vitro de embriões de *Cocos nucifera* L.** 78p. Dissertação (Mestrado em Ciências - Fisiologia e bioquímica de plantas) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2002.

SIQUEIRA, J. O.; COLOZZI-FILHO, A.; SAGGIN JÚNIOR, O. J. Efeitos da infecção de plântulas de cafeeiro com quantidades crescentes de esporos do fungo endomicorrízico *Gigaspora margarita*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 29, p. 875-883, 1994.

SMITH, S. E.; READ D. J. **Mycorrhizal Symbiosis**, 2ed, Academic Press, London, 1997. 605 p.

SOLLI, S. Outros Reguladores: Brassinosteroides, poliaminas, ácidos jasmônicos e salicílico. In: KERBAUY, G. B. **Fisiologia vegetal**. 1ª. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. p. 333- 340.

SOUZA JÚNIOR, E. E. de; BARBOZA, S. B. S. C.; SOUZA, L. A. C. Efeito de substratos e recipientes na aclimação de plântulas de abacaxizeiro *Ananas comosus* (L.) Merrill cv. pérola. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 31, n. 2, p. 147-151, 2001.

SPERA, M. R. N.; CUNHA, R.; TEIXEIRA, J. B. Quebra de dormência, viabilidade e conservação de sementes de buriti (*Mauritia flexuosa*). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 36, n. 12 p. 1567-1572, 2001.

STANCATO, G. C.; SILVEIRA, A. P. D. da. Associação de fungos micorrízicos arbusculares e cultivares micropropagadas de antúrio. **Bragantia**, Campinas, v. 65, n. 3, p. 511-516. 2006.

STEINMACHER, D. A. Germinação *in vitro* criopreservação e embriogênese somática em pupunha. 125f. Dissertação (Mestrado em Recursos Genéticos vegetais) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2005.

TABAI, S. et al. Control of somatic embryos formation the palm macaúba (*Acrocomia aculeata*). In: International Congress Plant Tissue and Cell Culture, 7., 1990, Amsterdam. **Resumos...** Amsterdam: IAPTC, 1990. p. 248.

TAIZ L.; ZEIGER E. **Fisiologia Vegetal**. 3 ed- Porto alegre: Artmed, 2004. 720p.

TEIXEIRA, J. B.; CRUZ, A. R. R.; FERREIRA, F. R.; CABRAL, J. R. S. Biotecnologia aplicada à produção de mudas: produção de mudas micropropagadas de abacaxi. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**. Brasília, p. 43-47. 2001. Disponível em: <<http://www.cenargen.embrapa.br/cenargenda/divulgacao2007/biotecnologianr19.pdf>>. Acesso em: 10/01/2007.

TEIXEIRA, L. C. Potencialidades de oleaginosas para produção de biodiesel. **Informe Agropecuário**, v. 26, p. 18-27, 2005.

UDAETA, M. E. M; BAITELO, R. L; BURANI, G. F.; GRIMONI, J. A. B. **Comparação da produção de energia com diesel e biodiesel analisando todos os custos envolvidos**. Grupo de Energia do Departamento de Engenharia de Energia e Automação Elétrica da Escola Politécnica da Universidade de São Paulo GEPEA-USP. Disponível em: <<http://paginas.agr.unicamp.br/energia/agre2004/Fscommand/PDF/Agrener/Trabalho%2084.pdf>>. Acesso em: 10/11/08.

**VALE DO RIBEIRA**. Disponível em:<<http://www.valedoribeira.ufpr.br/vale.htm>>. Acesso em 19/05/08.

VESSEY, J. K. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 255, n. 2, p. 571-586, 2003.

ZULLO, M. A. T.; ADAM, G. Brassinosteroid phytohormones: structure, bioactivity and applications. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, Londrina, v. 14, n. 3, p. 83-121, 2002.

### **3 CAPÍTULO I - Aplicação de análogo de brassinosteróide (Biobras 16<sup>®</sup>) sobre a germinação e crescimento *in vitro* de embriões zigóticos e aclimatização de plântulas de bocaiuva**

#### **RESUMO**

Apresentam-se resultados de pesquisa experimental que avaliou a germinação *in vitro* de embriões zigóticos e o crescimento e aclimatização de plântulas de bocaiuva (*Acrocomia aculeata*) cultivada em diferentes concentrações (0,0; 0,001; 0,005; 0,01; 0,05; 0,1; 0,5 e 1 mg. L<sup>-1</sup>) de análogo de brassinosteróide (Biobras 16<sup>®</sup>). O trabalho buscou verificar se a aplicação de Biobras 16<sup>®</sup> influencia positivamente a taxa de germinação dos embriões zigóticos de *Acrocomia aculeata* e se promove o crescimento e desenvolvimento das plântulas e conseqüentemente, afeta o número de plântulas normais. A aplicação de Biobras 16<sup>®</sup> não promoveu acréscimo no percentual de germinação, porém, estimulou a formação de plântulas normais. O efeito positivo de Biobras 16<sup>®</sup> foi observado apenas na primeira fase, não sendo observado nas demais fases de crescimento avaliadas.

**Palavras- chave:** *Acrocomia aculeata*, Arecaceae, cultivo de embriões zigóticos, germinação, regulador vegetal.

**Application of analogue brassinosteróide (Biobras 16<sup>®</sup>) germination and growth *in vitro* culture of zygotic embryos and acclimatization of bocaiuva**

#### **ABSTRACT**

The results of an experimental research evaluating the *in vitro* growth of zygotic embryos and acclimatization of bocaiuva (*Acrocomia aculeata*) grown under different concentrations (0.00, 0.001, 0.005, 0.01, 0.05, 0.1, 0.5 and 1 mg.L<sup>-1</sup>) of a brassinosteroid

analogue (Biobras 16<sup>®</sup>) are presented. The objective was to determine whether the application of 16 Biobras<sup>®</sup> positively affects the germination of zygotic embryos of *Acrocomia aculeata* and promotes the growth and development of seedlings and thereby affects the number of normal seedlings. The application of Biobras 16<sup>®</sup> did not promote an increase in the percentage of germination but stimulated the formation of normal seedlings. The positive effect of Biobras 16<sup>®</sup> was observed only in the first phase, not observed in other growth stages evaluated.

**Keywords:** *Acrocomia aculeata*, Arecaceae, zygotic embryos cultivation, germination, growth regulator

### 3.1 INTRODUÇÃO

A palmeira bociuva [*Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd. ex. Martius] tem despertado interesse devido às suas potencialidades como oleaginosa, podendo ultrapassar quatro mil litros de óleo por hectare (NUCCI, 2007), além de ser uma espécie resistente à seca (HIANE et al., 2005; TEIXEIRA, 2005). Porém, a propagação via sementes é limitada devido à ocorrência de dormência física, causada pela impermeabilidade dos tecidos da semente ou do fruto (TEIXEIRA, 2005; BANDEIRA, 2008) que, pelo elevado teor de óleo (HIANE et al., 2005), são também susceptíveis à deterioração (MARCOS FILHO, 2005), retardando desta forma a germinação e produção de mudas.

Em vista disso, uma das potenciais soluções seria o cultivo de embriões zigóticos *in vitro*, essa técnica consiste no isolamento e cultivo asséptico de embriões em meio de cultura visando superar a dormência das sementes e ou viabilizar que os embriões sejam utilizados como fonte de explantes (HU & FERREIRA, 1998). Resultados satisfatórios utilizando essa



técnica têm sido reportados em trabalhos com outras espécies de palmeiras (PEREIRA et al., 2006; STEINMACHER et al., 2007; LEDO et al., 2007; BANDEIRA, 2008; SOARES et al., 2011).

Com relação à bocaiuva, diversas pesquisas já demonstraram a viabilidade do cultivo *in vitro*. SITTOLIN & CUNHA (1987) utilizaram esta técnica para produção de mudas de bocaiuva visando à implantação de um banco de germoplasma com o propósito de possibilitar o acompanhamento e avaliação do potencial da cultura para produção do óleo. TABAI et al. (1990) utilizaram a cultura de embriões zigóticos para reduzir o tempo de germinação das sementes desta mesma espécie. BANDEIRA (2008) observou que os embriões de bocaiuva germinaram com facilidade quando isolados da semente e cultivados *in vitro*, existindo a possibilidade da dormência estar associada à presença de substâncias inibidoras na semente ou a outros fatores. Porém, RIBEIRO et al. (2010), observaram que estas substâncias inibidoras das estruturas adjacentes ao embrião, não influenciaram a germinação *in vitro* de bocaiuva. Em relação à composição do meio de cultura, SOARES et al. (2011) obtiveram a maior porcentagem de germinação de embriões, aos 60 dias, em meio MS (MURASHIGE & SKOOG, 1962), na composição e concentração original, sem utilização de regulador vegetal.

Adicionalmente, a produção de mudas por esta via pode ser otimizada a partir da utilização de reguladores vegetais LEDO et al. (2007), entretanto, pouco se sabe quanto ao uso destas substâncias no desenvolvimento de plântulas de bocaiuva cultivadas *in vitro*. Neste contexto, salienta-se o uso de brassinosteroides que produzem efeitos morfológicos e fisiológicos no desenvolvimento vegetal sendo conhecidos como uma nova classe de hormônios vegetais TAIZ & ZEIGER (2008). São ativos em pequenas concentrações, apresentam baixa toxicidade, quando utilizados nas concentrações recomendadas, estimulam e ou inibem o crescimento radicular MÜSSIG et al. (2003); BAO et al. (2004) e MAZORRA & NÚÑEZ, (2008), promovem a divisão e alongamento celular GROVE et al. (1979) e

CLOUSE & SASSE (1998), podendo interagir com outros hormônios ou agir de forma similar a estes. Além disso, proporcionam o aumento no rendimento e produção de biomassa, aceleram o processo de maturação das plantas MAZORRA & NÚÑEZ, (2008), aumentam o percentual de germinação de sementes, florescimento, retardamento da abscisão de folhas (RAO et al., 2002), aumentam a resistência ao ataque de pragas e doenças, bem como aumentam a tolerância das plantas aos estresses abióticos (KRISHNA, 2003; NÚÑEZ et al., 2006). Desta forma, a presença de brassinosteroides é ampla no reino vegetal e desde sua identificação estudos têm revelado a possibilidade de uso em cultivos agrícolas (MANDAVA et al., 1988) e compostos análogos têm sido sintetizados para uso comercial (CORTES et al., 2003).

Dentre os vários análogos de brassinosteroides que vem sendo avaliados quanto à sua eficácia na promoção do crescimento vegetal, inclui-se o Biobras 16<sup>®</sup>, uma formulação comercial cuja substância ativa é um análogo de brassinosteroide espirostano polihidroxilado, de fórmula  $C_{27}H_{42}O_5$ . Esse produto pode ser aplicado via aspersão ou adicionado ao meio de cultura (COLL et al., 1995).

Os resultados com a aplicação de brassinosteroides e seus respectivos análogos, especificamente Biobras 16<sup>®</sup>, não são homogêneos para todas as espécies testadas, sendo utilizado de maneira diferenciada tanto em estudos de germinação, enraizamento de estacas e embriogênese somática. Tendo em vista o potencial econômico da bocaiuva, visou-se avaliar diferentes concentrações de Biobras 16<sup>®</sup> na germinação de seus embriões zigóticos e na promoção do crescimento e desenvolvimento de plântulas normais.

### 3.2 MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi conduzida no Laboratório de Micropropagação de Plantas do Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo, Setor de Ciências Agrárias, da Universidade Federal do Paraná (UFPR), Curitiba, Paraná, Brasil.

Embriões zigóticos obtidos de frutos maduros de bocaiuva foram utilizados como fonte de explantes. Os frutos foram coletados em uma população natural existente na Fazenda Campanário, no município de Bodoquena - Mato Grosso do Sul, Brasil, com as seguintes coordenadas: 20°22'30" S, 56°32'31" W e 180m de altitude.

Os frutos foram processados, removendo-se manualmente o epicarpo. Mecanicamente, por meio de martelo, procedeu-se a quebra do endocarpo para obtenção da amêndoa e posterior, retirada do embrião. As amêndoas foram desinfestadas em solução de hipoclorito de sódio laboratorial (10 a 12%) na concentração de 1% por 15 minutos, dentro da câmara de fluxo laminar, em constante agitação. Após foram realizadas três lavagens com água deionizada e autoclavada, e em seguida, com o auxílio de pinças e bisturis, foram retirados os embriões zigóticos (Anexo 1).

Antes de serem transferidos para o meio de cultivo, os embriões permaneceram embebidos em água deionizada e autoclavada até que os embriões fossem extraídos de todas as amêndoas. Posteriormente, os mesmos foram imersos em hipoclorito de sódio laboratorial na concentração de 0,5% acrescido de 0,1 ml do surfactante Tween 20<sup>®</sup> durante 10 minutos e, a seguir, foram lavados três vezes em água deionizada e autoclavada.

Em câmara de fluxo laminar, os embriões zigóticos foram inoculados individualmente em tubos de ensaio (25 X 150 mm) contendo 20ml de meio de cultura. Estes foram acondicionados em sala de crescimento, na ausência de luz e em temperatura de  $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ , nos primeiros 30 dias. Posteriormente, as plântulas foram cultivadas com fotoperíodo de 16 horas

a  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ , permanecendo nestas condições até o término do experimento (Anexo 2).

A partir de estudos preliminares, identificou-se que o meio de cultivo WPM – Wood Plant Medium (LLOYD E MCCOWN, 1980), foi o mais adequado para o cultivo de embriões zigóticos de *Acrocomia aculeata*. Este meio foi suplementado com  $30\text{g L}^{-1}$  de sacarose,  $1\text{g L}^{-1}$  de carvão ativado,  $6\text{g L}^{-1}$  de ágar Vetec<sup>®</sup> e diferentes concentrações de Biobras 16<sup>®</sup>, produto gentilmente fornecido pelo Instituto Nacional de Ciências Agrícolas (INCA), localizado em San Jose de la Lajas, La Habana, Cuba. O pH do meio foi ajustado para 5,8 sendo posteriormente autoclavado ( $120^\circ\text{C}$  a 1,2 atm de pressão, por 20 minutos).

Os tratamentos consistiram da adição de Biobras 16<sup>®</sup> em diferentes concentrações (0; 0,001; 0,005; 0,01; 0,05; 0,1; 0,5 e  $1\text{mg L}^{-1}$ ) adicionados ao meio de cultura. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado com 4 repetições de 20 tubos cada tratamento.

Após 90 dias de cultivo as plantas que apresentaram crescimento de parte aérea e raiz passaram para a fase de pré-aclimatização. As plantas foram retiradas do tubo de ensaio, lavadas em água e transplantadas para embalagens plásticas (5cm x 10cm) contendo substrato na proporção 1:1 (solo + areia) acondicionadas em bandejas transparentes sendo cobertas com outra idêntica selada com fita, para evitar a desidratação excessiva das plantas. A irrigação foi realizada uma vez por semana adicionando-se 10ml de água em cada planta. Estas permaneceram em sala de crescimento, nestas condições, durante seis semanas, quando então foram transferidas para casa-de-vegetação (Anexo 3).

Na fase de aclimatização em casa-de-vegetação a abertura das bandejas foi realizada gradativamente, e a cobertura foi totalmente retirada após duas semanas. Após mais duas semanas as plântulas foram transferidas para embalagens plásticas (18cm x 30cm), contendo uma mistura de solo, areia, húmus na proporção de 2:1:1 sendo a irrigação realizada uma vez por semana.

As observações foram feitas semanalmente e as variáveis analisadas durante o período experimental foram: porcentagem de germinação, sendo considerados germinados os embriões que emitiram parte aérea e ou raiz e porcentagem de plântulas normais, ou seja, aquelas que apresentaram expansão foliar e, esporadicamente, desenvolvimento de raízes secundárias durante o período em que as plântulas estavam *in vitro*. Avaliaram-se também o comprimento médio das folhas e raízes, altura da planta, número de folhas e de raízes na fase de pré-aclimatização em caixas plásticas (90 dias após a inoculação) e de aclimatização em casa-de-vegetação (150 dias após a inoculação). A análise estatística foi feita por meio do programa ASSISTAT, versão 7.6 beta (SILVA, 2011). Os resultados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% probabilidade quando significativas.

### **3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Nos primeiros sete dias, após a inoculação, observou-se o entumescimento dos embriões, indicando o início do processo germinativo. Aos 21 dias após o início do cultivo, aproximadamente 70% dos embriões, em todos os tratamentos, estavam germinados, sendo que aos 35 dias, final do processo germinativo de embriões zigóticos de bocaiuva, obteve-se uma taxa de germinação de 80%. Foram observados altos índices de germinação dos embriões zigóticos (70 - 87%) conforme (Tabela 1).

**Tabela 1:** Porcentagem de germinação (G%) de embriões e de formação de plântulas normais de bocaiuva cultivado em meio básico WPM, quando tratadas com diferentes concentrações de Biobras 16<sup>®</sup>.

| Concentração (mg. L <sup>-1</sup> ) | G (%) <sup>ns</sup> | Plântulas normais (%) <sup>*</sup> |
|-------------------------------------|---------------------|------------------------------------|
| 0,0                                 | 75,60               | 31,20b                             |
| 0,001                               | 87,5                | 26,00c                             |
| 0,005                               | 70,00               | 18,00c                             |
| 0,01                                | 81,87               | 25,8c                              |
| 0,05                                | 83,10               | 37,5b                              |
| 0,1                                 | 70,60               | 36,6b                              |
| 0,5                                 | 80,00               | 53,10a                             |
| 1,0                                 | 81,25               | 36,9b                              |
| CV(%)                               | 13,70               | 17,20                              |

\*As médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estaticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. ns: não significativo.

Entretanto, no que se refere à melhora na eficácia da germinação, para a espécie estudada, não foi possível detectar efeito significativo da aplicação de diferentes concentrações de Biobras 16<sup>®</sup>. Estes resultados podem ser um indicativo de resposta padrão para a família Arecaceae, dado que outras pesquisas também relatam a ineficiência do uso de reguladores vegetais sobre o processo germinativo de outras espécies (COSTA e ALOUFA, 2007; BANDEIRA, 2008). Esta resposta na qual a não aplicação do brassinosteroide, apresenta resultado mais satisfatório, poderia ser devido à utilização de embriões zigóticos em estágio maduro ou próximo a este, que neste caso, podem germinar e crescer num meio orgânico, sendo dispensável a aplicação de reguladores vegetais (HU e FERREIRA, 1998).

Neste sentido, é interessante destacar que o estágio fisiológico dos frutos (imaturos ou maduros) pode influenciar na germinação de palmeiras, como relatado por Pereira et al., (2006) em trabalho com *Astrocaryum spp.* Além disso, embriões de muitas espécies utilizam as reservas do próprio embrião para promover a germinação *in vitro* (GARCÍA et al., 2002).

Para a variável porcentagem de plântulas normais, observou-se influência das distintas concentrações do análogo de brassinosteróide, sendo que os valores de todos os tratamentos oscilaram entre 18 e 53%. O tratamento onde aplicou-se  $0,5\text{mg.L}^{-1}$  de Biobras 16<sup>®</sup> apresentou o melhor resultado (Tabela 1).

No que concerne à fase de pré-aclimatização, observou-se diferenças significativas para algumas das variáveis analisadas de forma isolada. Dentre estas, em relação ao comprimento médio das folhas, pode-se inferir que a adição de brassinosteróide nas concentrações de  $0,001$  e  $0,005\text{ mg.L}^{-1}$  inibiu o crescimento das folhas, pois os valores nessas concentrações são estatisticamente inferiores ao controle (Tabela 2). O tratamento sem adição do brassinosteróide (controle) obteve - se resultado estatisticamente igual ao obtido nas concentrações  $1,0$  e  $0,05\text{ mg.L}^{-1}$ . Ressalta-se neste caso, o fato dos embriões zigóticos serem provenientes de uma população natural de bocaiuva que normalmente apresentam alta diversidade genética entre os indivíduos.

**Tabela 2:** Comprimento médio das folhas (CF), número médio de folhas (NF), altura de plântulas (H), número de raízes (NR) e comprimento de raízes (CR) de plântulas obtidas da germinação *in vitro* de embriões zigóticos de bociuva (aos 90 dias após a inoculação) na fase de pré - aclimatização em caixas plásticas quando cultivadas em meio WPM e tratadas com diferentes concentrações de Biobras 16<sup>®</sup>.

| Concentração<br>(mg. L <sup>-1</sup> ) | CF (cm)* | NF <sup>ns</sup> | H (cm)** | NR <sup>ns</sup> | CR (cm)* |
|--|----------|------------------|----------|------------------|----------|
| 0,0                                    | 3,95a    | 1,56             | 5,52ab   | 1,08             | 5,67bc   |
| 0,001                                  | 2,43b    | 1,32             | 2,90c    | 1,0              | 4,49c    |
| 0,005                                  | 2,35b    | 1,62             | 3,56bc   | 1,03             | 3,98c    |
| 0,01                                   | 3,27ab   | 1,42             | 4,40abc  | 1,13             | 6,59abc  |
| 0,05                                   | 4,07 a   | 1,90             | 6,38 a   | 1,00             | 7,22abc  |
| 0,1                                    | 3,70ab   | 1,72             | 5,83 a   | 1,09             | 6,38abc  |
| 0,5                                    | 3,55ab   | 1,87             | 5,66 a   | 1,00             | 9,87ab   |
| 1,0                                    | 4,55a    | 1,47             | 5,82 a   | 1,05             | 10,61a   |
| CV(%)                                  | 17,6     | 16,2             | 17,5     | 7,93             | 30,1     |

\*As médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estaticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. ns: não significativo.

A variável número de folhas e raízes e altura das plântulas, não apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos aplicados (Tabela 2). No que se refere ao comprimento radicial, verifica-se que nas concentrações 0,001 e 0,005 mg.L<sup>-1</sup> foram obtidos os valores mais baixos, podendo inferir-se que o Biobras 16<sup>®</sup> não estimulou o crescimento radicular das plântulas de bociuva. Os brassinosteroides de maneira geral podem estimular e ou inibir o crescimento radicular, fato reportado por (MÜSSIG, et al., 2003; BAO, et al.,



2004; MAZORRA e NÚÑEZ, 2008). De modo geral, a concentração de 1,0 mg L<sup>-1</sup> de Biobras 16<sup>®</sup> apresentou efeito positivo sobre o maior número de variáveis associadas a fase de pré-aclimatização.

Na fase de aclimatização em casa-de-vegetação, a análise das plântulas revelou diferença significativa apenas para o comprimento médio das folhas, sendo que a concentração de 0,1mg L<sup>-1</sup> foi superior aos demais tratamentos avaliados, porém não diferiu do controle (Tabela 3).

**Tabela 3:** Comprimento médio das folhas (CF), número médio de folhas (NF), altura de plântulas (H), número de raízes (NR), comprimento médio de raízes (CR) de plântulas obtidas da germinação in vitro de embriões zigóticos de bocaiuva (150 dias após a inoculação) na fase de aclimatização em casa-de-vegetação quando cultivadas em meio WPM e tratadas com diferentes concentrações de Biobras 16<sup>®</sup>.

| Concentração<br>(mg. L <sup>-1</sup> ) | CF (cm)* | NF <sup>ns</sup> | H (cm) <sup>ns</sup> | NR <sup>ns</sup> | CR<br>(cm) <sup>ns</sup> |
|--|----------|------------------|----------------------|------------------|--------------------------|
| 0,0                                    | 7,40ab   | 2,47             | 10,93                | 2,22             | 7,52                     |
| 0,001                                  | 6,08b    | 1,95             | 8,43                 | 2,45             | 4,95                     |
| 0,005                                  | 5,26b    | 2,10             | 8,80                 | 1,80             | 4,94                     |
| 0,01                                   | 6,83ab   | 2,13             | 9,34                 | 2,03             | 5,52                     |
| 0,05                                   | 7,16ab   | 2,52             | 11,87                | 2,08             | 7,27                     |
| 0,1                                    | 8,60 a   | 2,15             | 11,48                | 2,24             | 5,55                     |
| 0,5                                    | 5,53b    | 2,62             | 10,75                | 2,62             | 5,28                     |
| 1,0                                    | 7,00ab   | 2,52             | 12,20                | 2,41             | 7,21                     |
| CV(%)                                  | 15,84    | 17,6             | 18,6                 | 31,3             | 30,75                    |

\*As médias seguidas pela mesma letra não diferem estaticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. ns: não significativo.

Vários mecanismos de ação têm sido sugeridos para explicar a promoção do crescimento de plantas mediado por análogos de brassinosteroides. No entanto, mesmo diante de todas essas possibilidades, o estudo destas substâncias, especialmente em palmeiras, ainda são escassos. Ou seja, há um longo caminho a percorrer antes de entender o real impacto destes compostos sobre a dinâmica de crescimento e desenvolvimento destas espécies. Entretanto, os resultados obtidos reforçam a possibilidade do emprego de brassinosteroides no início do processo germinativo, tendo em vista que a influência positiva da aplicação do análogo de brassinosteróide pouco foi observada nas fases posteriores. Nesta perspectiva, sugere-se testar outras concentrações do análogo brassinosteróide e realizar outras aplicações ao longo do cultivo, para verificar a influência deste regulador no crescimento das plantas de bocaiuva, uma palmeira com expressiva importância ecológica, econômica e social.

### **3.4 CONCLUSÕES**

A aplicação de análogo de brassinosteróide em meio de cultivo WPM não promoveu aumento na porcentagem de germinação dos embriões zigóticos de bocaiuva. O Biobras 16<sup>®</sup> estimulou a formação de plântulas normais embora esse efeito não tenha sido observado nas demais fases de crescimento.

## REFERÊNCIAS

- BANDEIRA, F. S. **Cultivo *in vitro* e embriogênese somática de embriões zigóticos de macaúba *Acrocomia aculeata* (Jacq.) Loddiges**. 2008. 92f. Tese (Doutorado em Ciência Florestal) - Curso de Pós Graduação em Ciência Florestal, Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais.
- BAO, F. et al. Brassinosteroids interact with auxin to promote lateral root development in *Arabidopsis*. **Plant Physiology**, Washington, v.134, p.1624-1631, 2004.
- CLOUSE, S.D.; SASSE, J. Brassinosteroids: essential regulators of plant growth and development. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v.49, p.427-451, 1998.
- COLL, M.T. et al. **Polyhydroxyspirostanones as plant growth regulators**. PCT Int. Appl. Co 7571/100, AOIN 45/00WO 97/13780, 780p. 1995.
- COSTA, N.M.de S; ALOUFA, M.A.I. Desenvolvimento *in vitro* de embriões zigóticos de tamareira. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza-Ceará, v.38, n.3, p.276-279, 2007.
- CORTES, P.A. et al. Brassinosteroid effects on the precocity and yield of cladodes of cactus pear (*Opuntia ficus-indica* (L.) Mill.). **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v.97, v. 1, p.65-73, 2003. Disponível em: <[www.elsevier.com/locate/scihorti](http://www.elsevier.com/locate/scihorti)>. Acesso em: 14 abr. 2011. doi: 10.1016/S0304-4238(02)00080-8.
- GARCÍA, J.L. et al. Influence of carbon source and concentration on the *in vitro* development of olive zygotic embryos and explants raised from them. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Dordrecht, v.69, p.95-100, 2002.
- GROVE, M.D. et al. Brassinolide, a plant growth-promoting steroid isolated from *Brassica napus* pollen. **Nature**, London, v.281, p.216-217, 1979.
- HIANE, P.A. et al. Bocaiúva, *Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd., Pulp and Kernel Oils:

Characterization and Fatty Acid Composition. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas – SP, v.8, n.3, p.256-259, 2005.

HU, C.Y.; FERREIRA, A.G. Cultura de embriões. In: TORRES, A.C. et al. (Eds.). **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: EMBRAPA-SPI; EMBRAPA – CNPH. v.1, p.371-393, 1998.

KRISHNA, P. Brassinosteroid-mediated stress responses. **Journal Plant Growth Regulation**, Heidelberg, v.22, n.4, p.289-297, 2003.

LEDO, A. da S. et al. Cultivo *in vitro* de embriões zigóticos e aclimação de plântulas de coqueiro-anão. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.42, n.2, p.147-154, 2007.

Disponível em:<[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0100204X2007000200002&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100204X2007000200002&lng=en&nrm=iso)>. Acesso em: 15/04/2009. doi: 10.1590/S0100-204X2007000200002.

LLOYD, G.; McCOWN, B. Commercially-feasible micropropagation of mountain laurel, *Kalmia latifolia*, by use of shoot-tip culture. **Combined Proceedings International Plant Propagators Society**, Seattle, v.30, p.421- 427,1980.

MANDAVA, N.B. Plant growth-promoting brassinosteroids. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v.39, p.23-52, 1988.

MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Piracicaba: FEALQ, 2005. 495p.

MAZORRA, L.M. & NÚÑEZ, M. Estado actual sobre el conocimiento de la biosíntesis y los mecanismos moleculares de acción de los brasinoesteroides en las plantas. **Cultivos Tropicales**, Cuba, v.29, n.1, p.91-105, 2008.

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

MÜSSIG, C. et al. Brassinosteroids promote root growth in *Arabidopsis*. **Plant Physiology**,

Washington, v.133, n.3, p.1261-1271, 2003.

NUCCI, S.M. **Desenvolvimento, caracterização e análise da utilidade de marcadores microssatélites em genética de população de macaúba.** 2007. 84f. Dissertação (Mestrado em Genética, Melhoramento Vegetal e Biotecnologia) – Pós-Graduação em Agricultura Tropical e Subtropical – Instituto Agronômico de Campinas – IAC, Campinas, SP.

NÚÑEZ, M. et al. Influencia de la 24-epibrasinólida y un análogo espiroestanoico de brasinoesteroides en el crecimiento de plántulas de dos variedades de arroz (*Oryza sativa* L.) en medio salino. **Cultivos Tropicales**, Cuba, v.27, n.1, p.75-82, 2006.

PEREIRA, J.E.S. et al. Germinação de embriões zigóticos de murmuru (*Astrocaryum ulei*). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.30, n.2, p.251-256, 2006. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S141370542006000200009&lng=pt&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S141370542006000200009&lng=pt&nrm=iso)>. Acesso em: 20/08/2009. doi: 10.1590/S1413-70542006000200009.

RIBEIRO, L.M. et al. Estruturas da semente e germinação *in vitro* de embriões de macaúba *Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd. ex. Mart. In: X Fórum de Ensino, XI; Seminário de Pesquisa V Semana da Extensão, IX Seminário de Iniciação Científica, II Semana de gestão II Encontro da UAB. Universidade Estadual de Montes Claros (Unimontes). Campus Universitário Professor Darcy Ribeiro, Montes Claros – MG. **Anais....Montes Claros – MG.** 2010. 3p.

RAO, S.S. et al. Brassinosteroids – A new class of phytohormones. **Current Science**, Bangalore, Índia, v.82, n.10, p.1239-1245, 2002.

SILVA, F. de A.S. e. **ASSISTAT** versão 7.6 beta. Grande-PB: Assistência Estatística, Departamento de Engenharia Agrícola do CTRN - Universidade Federal de Campina Grande, Campus de Campina. Disponível em: <<http://www.assistat.com>>. Acesso em: 20/02/2011.

SITTOLIN, I.M.; CUNHA, L.H.S. Cultura de embriões de macaúba (*Acrocomia* sp.) *in vitro* visando a implantação de um banco ativo de germoplasma. In: Simpósio Nacional de

Cultura de Tecidos Vegetais, 2, 1987, Brasília. **Resumos...** Brasília: ABCTP, 1987. p.13.

SOARES J.D.R. et al. Germinação de embriões e crescimento inicial *in vitro* de macaúba.

**Ciência Rural**, Santa Maria, v.41, n.5, p.773-778, 2011. Disponível em:

<[http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S010384782011005000040&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S010384782011005000040&script=sci_arttext)>.

Acesso em: 28 abr. 2011. doi: 10.1590/S0103-84782011005000040.

STEINMACHER, D.A. et al. Somatic embryogenesis from immature peach palm

inflorescence explants: towards development of an efficient protocol. **Plant Cell, Tissue and**

**Organ Culture**, Hange, v.89, n.1, p.15-22, 2007. Disponível em:

<<http://www.springerlink.com/content/g8u506t361864t72>>. Acesso em: 20/09/2010. doi:

10.1007/s11240-007-9207-6.

TABAI, S. et al. Control of somatic embryos formation the palm macaúba (*Acrocomia*

*aculeata*). In: INternational Congress Plant Tissue and Cell Culture, 7., 1990, Amsterdam.

**Resumos...** Amsterdam: IAPTC, 1990. p.248.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 4ed. Porto Alegre: Artmed, 2008. 820p.

TEIXEIRA, L.C. Potencialidades de oleaginosas para produção de biodiesel. **Informe**

**Agropecuário**, v.26, p.18-27, 2005.

**4 CAPÍTULO 2 - EFEITO DA APLICAÇÃO DE INOCULANTE MICORRÍZICO,  
RIZOBACTERIA E ANÁLOGO DE BRASSINOSTEROIDE SOBRE O  
CRESCIMENTO DE *Acrocomia aculeata* (Jacq) Lodd. Ex. Mart. GERMINADA *IN*  
*VITRO***

**RESUMO**

*Acrocomia aculeata* é uma palmeira com grande potencial de uso, mas que apresenta germinação problemática. O cultivo de embriões zigóticos é uma alternativa para a produção de mudas desta espécie. Apresentam-se resultados da avaliação do crescimento de plantas germinadas *in vitro* e submetidas após aclimatização à aplicação de inoculante micorrízico, rizobactérias e um análogo de brassinosteróide de forma isolada ou combinada. O experimento foi realizado em casa-de-vegetação no Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo da Universidade Federal do Paraná. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado e os parâmetros avaliados foram altura de plantas, número e comprimento das folhas e diâmetro de caule. Para a análise de crescimento destrutiva avaliou-se também a massa seca aérea e radicial. As plantas analisadas não apresentaram diferença significativa em produção de matéria seca entre os tratamentos. Detectou-se diferença significativa somente quando foram utilizados inoculante micorrízico ou inoculante micorrízico associado à rizobactéria promotora do crescimento de planta para a variável comprimento radicial.

Palavras chave: Arecaceae, macaúba, cultivo de embriões zigóticos.

**EFFECT OF APPLICATION OF MYCORRHIZAL INOCULANT,  
RHIZOBACTERIA AND BRASSINOSTEROIDS ANALOGUE ON GROWTH OF  
*Acrocomia aculeata* (Jacq) Lodd. ex Mart. GERMINATED *IN VITRO***

**ABSTRACT**

*Acrocomia aculeata* is a palm tree with great usage potential but with seed germination problems. An alternative to the species propagation is embryos zygotic. Important results were obtained when *in vitro* cultivated plants were acclimatized and after acclimatization were submitted to mycorrhizal colonization, plant growth promoting rhizobacteria and a brassinosteroid analogue, isolated or combined form. This study was conducted in a greenhouse of the Horticulture Department of Federal University of Paraná, Curitiba, Paraná

State. The experiment was completely randomized design and the evaluations were plant height, number, length leaves and diameter. Dry mass of aerial part and from roots were also evaluated. The plants analyzed showed no significant difference in dry matter production among the treatments. The analysis showed a significant variance only on the root length when plants were colonized with mycorrhizal inoculant or mycorrhizal inoculant associated with a plant growth promoting rhizobacteria.

Keywords: Arecaceae, macaw palm, embryo culture.

#### 4.1 INTRODUÇÃO

A *Acrocomia aculeata* é uma espécie de ocorrência em quase todo o território nacional e que tem despertado promissor interesse, devido à produção de óleo, a qual pode ultrapassar quatro mil litros/ha (CLEMENT et al., 2005; AMBIENTE, 2008), além do seu potencial como recurso alimentício e cosmético (LORENZI, 2006). Porém, assim como outras palmeiras, apresenta taxa de germinação baixa, em torno de 20%, o que inviabiliza a propagação via sementes, sendo o cultivo de embriões zigóticos *in vitro* uma potencial solução para este problema.

A bocaiuva, assim como outras espécies, quando cultivada *in vitro* encontra-se em um ambiente estéril, com baixo nível de luz, alta umidade, em meio contendo açúcar e nutrientes para permitir o seu crescimento. Porém, um grande número de plantas micropropagadas não sobrevive quando são transferidas de condições *in vitro* para casa-de-vegetação ou a campo. Souza Júnior et al. (2001) identificaram as seguintes restrições: a estufa e ou ao campo apresentam ambiente não estéril, sem açúcares, com baixa umidade relativa do ar, maior nível de luz que são estressantes para as mudas. As características fisiológicas e anatômicas das mudas micropropagadas determinam que elas devam ser gradualmente aclimatadas ao ambiente da estufa ou campo, para evitar perdas.

A utilização de fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) em viveiro durante a fase de enraizamento de plantas *in vitro*, é uma alternativa para solucionar os problemas da micropropagação, aclimatização e nutrição das espécies. Esses microorganismos agem como bioprotetores e biorreguladores (MOLINA et al., 2005). A inoculação de espécies eficientes de FMA é recomendada por Miranda (2000) também na fase de produção de mudas, pois os substratos utilizados são, geralmente, desprovidos desses fungos.



A micorriza consiste na associação natural e benéfica entre fungos micorrízicos arbusculares do solo e raízes das plantas (MIRANDA, 2004). Uma parte dos filamentos dos fungos penetra nas raízes e a parte externa funciona como um sistema radicular adicional, ocupando maior volume do solo e aumentando a absorção de nutrientes pelas plantas, principalmente de fósforo.

As mudas inoculadas com fungos desenvolvem-se mais rapidamente e podem ser disponibilizadas mais cedo para o produtor. São mais tolerantes ao estresse do transplante e apresentam maior sobrevivência no campo. Além de aumentar a absorção de nutrientes pelas plantas, a micorriza arbuscular melhora a resposta das culturas aos diversos corretivos e adubos aplicados ao solo (MIRANDA, 2001).

Outros microorganismos também podem agir na promoção do crescimento das plantas, como por exemplo, as Rizobacterias Promotoras do Crescimento de Plantas (RPCP). Estas englobam uma ampla variedade de bactérias do solo, que em associação com as plantas hospedeiras, estimulam o crescimento das mesmas (PEREIRA et al., 2008). As RPCP colonizam diferentes órgãos das plantas e exercem efeitos benéficos sobre as mesmas, podendo promover aumento na taxa de germinação de sementes, desenvolvimento de órgãos, produção de flores e incremento no rendimento das culturas em casa-de-vegetação e no campo (AMORIM e MELO, 2002). Em plantas anuais, o benefício se constitui em aumento de matéria seca, o que poderá resultar em encurtamento do ciclo ou em aumento da produção, dependendo da espécie (FREITAS, 2004). Já em plantas perenes, o benefício seria a diminuição do período em que as plantas passam no viveiro. Na fase de viveiro, aconselha-se que a inoculação seja feita no substrato de modo que a colonização de rizosfera e seus benefícios ocorram o mais cedo possível (CHANYAY et al., 2000).

A utilização de reguladores vegetais também pode contribuir para promover o crescimento vegetal. Dentre estes, os brassinosteroides têm efeitos sobre as plantas cultivadas e tem sido pesquisado com a finalidade de resolver problemas de produção e melhorar qualitativamente e quantitativamente a produtividade das culturas (CASTRO e VIEIRA, 2003).

Os brassinosteroides apresentam uma variada ação fisiológica e sua possível aplicação na agricultura tem sido estudada vastamente nos últimos anos (JORDAN, 2005). Atuam em baixas concentrações e seus efeitos são acentuados sob condições de estresse (NÚÑEZ et al., 1999), além de estarem envolvidos no alongamento, divisão celular, desenvolvimento vascular e reprodutivo e promoção da germinação de sementes (ZULLO e ADAM, 2002).

A qualidade de plantas antes do plantio definitivo no campo é fator importantíssimo,

para que se obtenham de maneira fácil e rápida um plantio homogêneo (FONSECA et al., 2002). Neste sentido, a utilização de inoculantes micorrízicos, rizobacterias e reguladores vegetais na fase de viveiro, com a finalidade de produção de mudas de qualidade associado à redução do tempo de formação das mudas é um fator relevante, visto que quanto mais rápido a muda é produzida, menores os custos com insumos e mão - de - obra. Além disso, mudas vigorosas e saudáveis tem maiores chances de sobrevivência pós- transplante, o que permite uma homogeneização no plantel de mudas no campo.

Diante desta perspectiva, apresentam-se resultados de avaliação do crescimento de plântulas de *Acrocomia aculeata* germinadas *in vitro* e submetidas, após aclimatização, à aplicação combinada ou isolada de inoculante, rizobacteria e análogo de brassinosteroide, visando identificar qual das alternativas promoveria a produção de mudas desta palmeira em menor tempo no campo.

## 4.2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi instalado e conduzido na Casa-de-vegetação modelo *Van der Hoeven* no Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo, Setor de Ciências Agrárias - Universidade Federal do Paraná UFPR, Paraná, Brasil.

As mudas de *Acrocomia aculeata* eram provenientes de cultivo *in vitro* em meio nutritivo WPM (Anexo 4). Após o crescimento *in vitro* e pré aclimatização, estas plantas foram transferidas para embalagens plásticas (25 cm x 40 cm), contendo substrato composto por terra, vermiculita e húmus de minhoca na proporção 2:1:1 com a seguinte análise química: pH – 4,9; P- 213 mg/dm<sup>3</sup>; K- 1,29 cmol/dm<sup>3</sup>; Ca- 13,5 cmol/dm<sup>3</sup>, Mg-4,00 cmol/dm<sup>3</sup> e argila 450 g/kg.

Os tratamentos utilizados neste experimento foram: T<sub>1</sub> - Testemunha (sem aplicação de produtos); T<sub>2</sub> - Fungo micorrízico arbuscular (FMA); T<sub>3</sub> - Rizobactéria promotora do crescimento de plantas (RPCP); T<sub>4</sub> - FMA + RPCP; T<sub>5</sub> - FMA + Biobras 16<sup>®</sup> no plantio; T<sub>6</sub> - RPCP + Biobras 16<sup>®</sup> no plantio; T<sub>7</sub> - FMA + RPCP + Biobras 16<sup>®</sup> no plantio; T<sub>8</sub> - FMA + Biobras 16<sup>®</sup> no plantio + Biobras 16<sup>®</sup> (30 dias após o plantio); T<sub>9</sub> - RPCP + Biobras 16<sup>®</sup> no plantio + Biobras 16<sup>®</sup> (30 dias após o plantio); T<sub>10</sub> - FMA + RPCP + Biobras 16<sup>®</sup> no plantio + Biobras 16<sup>®</sup> (30 dias após o plantio).

Os fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) utilizados foram *Glomus hoi like*, sendo 15 esporos por grama de inoculante sólido. A preparação dessa pasta fluida foi feita em um recipiente de vidro no qual foram adicionados 100 g de Inoculante Micorrízico e 95 ml de

água. Agitou-se a mistura até obter uma solução homogênea, sendo que posteriormente as raízes foram submersas nesta solução e imediatamente após aplicação do tratamento as mudas foram transplantadas.

As RBCP utilizadas foram uma mistura de *Azotobacter crhoococum* + *Bacillus megaterium*, na concentração  $1.10^{10}$  ufc. mL<sup>-1</sup> (ufc – unidades formadoras de colônias). A partir desta, preparou-se uma solução contendo 3.41 mL do produto diluído em um litro de água, sendo aplicados 9 ml na base da planta.

O análogo de brassinosteróide, chamado comercialmente de Biobras 16<sup>®</sup>, contém como ingrediente ativo um análogo espirosteróide poli-hidroxiado de fórmula C<sub>27</sub>H<sub>42</sub>O<sub>5</sub> (Coll et al., 1995), sendo obtido a partir de fontes naturais, sintetizado no Laboratório de Produtos Naturais da Faculdade de Química da Universidade de Havana, em Cuba. A preparação do análogo de brassinosteróide – Biobras-16<sup>®</sup> foi realizada utilizando-se a concentração padrão de 1 mg L<sup>-1</sup>. A partir desta solução preparou-se uma solução contendo 0.05 ml de Biobras - 16<sup>®</sup> diluídos em um litro de água. Posteriormente essa solução foi aspergida sobre as plantas, utilizando um aspersor manual.

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, sendo que cada tratamento esteve composto por cinco plantas. A irrigação foi realizada manualmente e a retirada das plantas invasoras realizada uma vez ao mês. As variáveis biométricas analisadas mensalmente foram: altura de planta (H), número de folhas (NF), comprimento médio das folhas (CF) e diâmetro do caule (DC). No final do experimento (390 dias), as plantas foram fracionadas para avaliação da matéria fresca e seca.

Para tanto cada parte (aérea e radicial) foi pesada para obtenção da massa fresca e seca e posteriormente colocada em sacos de papel individualizados, identificados e levados a estufa de secagem de ventilação forçada de ar a 65°C, até peso constante. As pesagens foram realizadas em balança digital com precisão de 0,01 gramas.

Além disso, foram determinados número, comprimento e volume de raízes. Este foi determinado utilizando-se um recipiente com volume conhecido de água, na qual foram submersas as raízes lavadas. A diferença entre o volume conhecido e o volume de água deslocado foi considerado o volume de raízes.

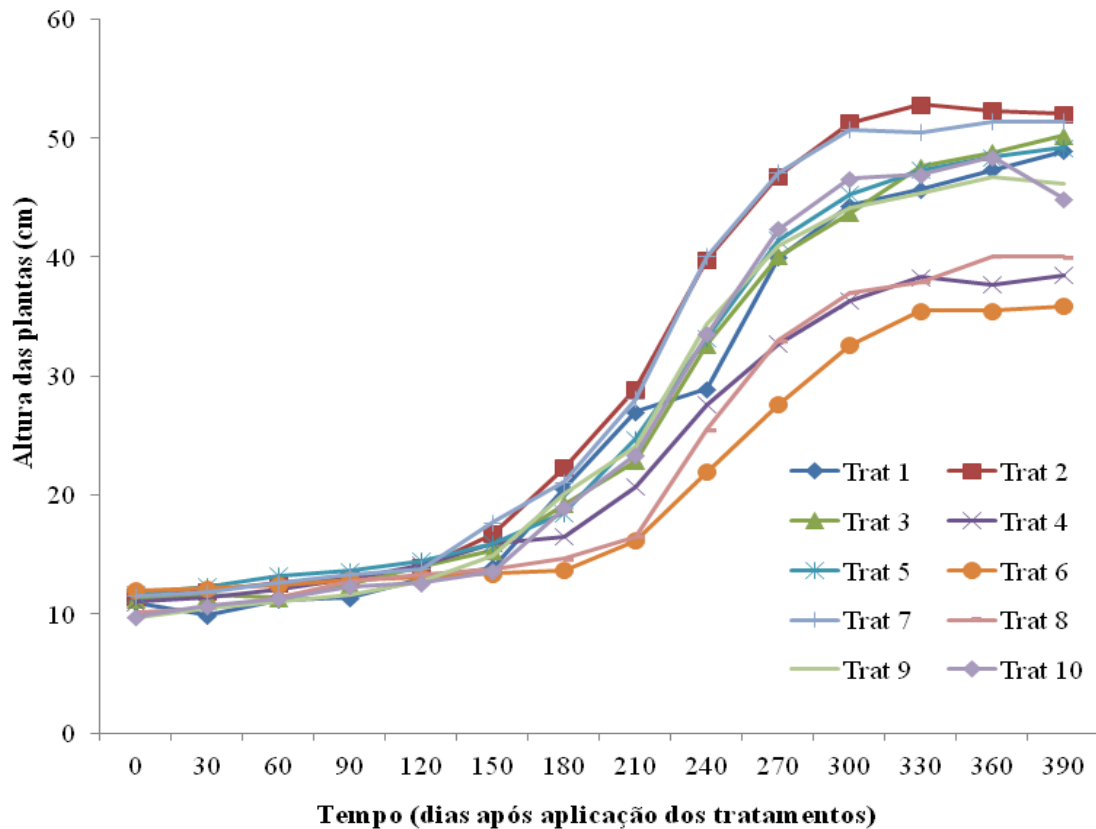
O grau de resposta da planta à inoculação foi calculado pela diferença de biomassa seca de planta inoculada e não inoculada (PLENCHETTE et al., 1983). O índice de eficiência (IE) foi determinado pela equação:  $IE = [(\text{rendimento do tratamento micorrizado} - \text{rendimento do tratamento não micorrizado}) / (\text{rendimento do tratamento não micorrizado}) * 100]$ . A dependência micorrízica e a eficiência foram determinadas apenas nos tratamentos

que possuíam FMA.

As médias das variáveis mensuradas foram submetidas à análise de variância e, quando significativas, foram comparadas pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade de erro.

### 4.3 RESULTADOS

Aos 390 dias após o plantio as plantas apresentaram altura média máxima de 45,7cm (Tabela 4). Até os 120 dias o crescimento foi lento, e a partir dos 180 dias evidenciou-se resposta mais expressiva de crescimento em altura nos tratamentos 2 e 7, fato verificado até o final do experimento (Figura 5).



**Figura 5:** Altura média das plantas (cm) de *Acrocomia aculeata* durante 390 dias de avaliação em casa-de-vegetação. Curitiba – Paraná, 2010.

**Figure 5:** Average plant height (cm) of *Acrocomia aculeata* in a greenhouse with 390 days of evaluation. Curitiba, Paraná, 2010.

No entanto, não se constatou diferença estatisticamente significativa no que concerne ao crescimento em altura relacionado aos distintos tratamentos aplicados. Igualmente, não foram detectadas diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos aplicados na resposta das outras variáveis relacionadas ao crescimento da parte aérea, a saber: altura de planta, número de folhas (NF), comprimento das folhas (CF), diâmetro do caule (DC), massa fresca de folhas (MFF) e massa seca de folhas (MSF) (Tabela 4).

O número de folhas praticamente manteve-se sem alterações ao longo do período experimental. Logo após o transplante das mudas houve perda de folhas, isto devido provavelmente ao estresse do transplante, porém, passada esta fase, as plantas praticamente mantiveram o mesmo número de folhas, ora emitindo novas ora perdendo folhas.

**Tabela 4:** Altura da planta (H), número de folhas (NF), comprimento médio das folhas (CF), diâmetro do caule (DC), massa fresca de folhas (MFF) e massa seca de folha (MSF) de plantas de *A. aculeata* conduzidas em casa-de-vegetação submetidas à aplicação de fungos micorrízicos, rizobactéria promotora do crescimento vegetal e análogo de brassinosteróide de forma isolada e combinada. Avaliação de crescimento realizada aos 390 dias após a aplicação dos tratamentos. Curitiba – PR, 2010. (Média e desvio padrão).

**Table 4:** Plant height (H), number of leaves (NL), average length of leaves (ALL), stem diameter (SD), fresh mass of leaves (FML) and dry mass of leaves (DML) of *A. aculeata* plants conducted in greenhouse submitted to the mycorrhizal colonization, plant growth promoting rhizobacteria and analogue of brassinosteroids, isolated and combined. Evaluation of growth performed at 390 days after treatment application. Curitiba, Paraná. 2010.(Average and standard deviation).

| Tratamento | H(cm)      | NF       | CF        | DC (mm)   | MFF (g)    | MSF (g)   |
|------------|------------|----------|-----------|-----------|------------|-----------|
| 1          | 48,9±11,85 | 4,2±0,44 | 30,3±9,17 | 7,60±2,56 | 12,94±7,6  | 3,65±2,4  |
| 2          | 52±6,39    | 5,2±0,44 | 27,2±2,21 | 7,69±2,52 | 13,53±2,7  | 3,98±0,58 |
| 3          | 50,2±8,8   | 5±1      | 27,3±5,95 | 7,26±1,75 | 14,23±6,44 | 3,68±1,74 |
| 4          | 38,5±11,32 | 5±1      | 21,1±6,72 | 8,25±3,72 | 12,95±9,43 | 3,93±2,29 |
| 5          | 49,2±14,65 | 4,6±0,54 | 25,6±6,24 | 7,42±2,25 | 13,59±6,6  | 3,79±2,05 |
| 6          | 35,9±13,48 | 5,2±0,84 | 17,9±6,38 | 6,11±2,84 | 8,19±4,71  | 2,23±1,34 |
| 7          | 51,4±11,06 | 4,8±0,84 | 27,9±4,84 | 7,08±1,32 | 15,18±7,15 | 4,24±2,38 |
| 8          | 40±8,6     | 5,2±0,44 | 20,7±5,27 | 6,72±1,04 | 10,49±3,65 | 2,88±1,07 |
| 9          | 46,2±11,9  | 5,2±0,84 | 21,9±5,53 | 7,50±2,18 | 12,76±6,28 | 3,65±2,03 |
| 10         | 44,9±4,4   | 5,4±1,67 | 24,7±3,9  | 8,29±2,00 | 13,35±4,13 | 3,11±1,53 |
| CV (%)     | 22,3       | 17,9     | 23,8      | 31,60     | 46,60±     | 50,6      |

Entre as variáveis de crescimento radicial avaliadas número, massa fresca e seca de raízes, comprimento e volume radicial somente a variável comprimento apresentou diferença significativa, sendo evidenciado melhor resposta nos tratamentos 2 e 4, porém diferindo apenas do tratamento 6 (Tabela 5).

No que concerne à resposta a micorrização, evidenciou-se que a bocaiuva apresentou valores que a caracterizam como de baixa dependência (< 25%), de acordo com a

classificação de (PLENCHETTE 1983).

Em relação ao índice de eficiência, o que pode ser observado é que os tratamentos que continham em sua composição RPCP + FMA (Trat 4); FMA + 2 aplicações de Biobras® - 16 (Trat 8) e FMA + RPCP+ 2 aplicações de Biobras® - 16 (Trat 10) não apresentaram bons resultados, pelo contrário tiveram desempenho negativo. Os melhores tratamentos foram os que possuíam FMA (Trat 2), FMA + Biobras® - 16 (Trat 5) e FMA associado à RPCP + Biobras® - 16 (Trat 7) tendo incremento na produção total de matéria seca de 24,6%, 23,4% e 27,8% respectivamente.

Tabela 5: Média do número de raízes (NR), massa fresca de raiz (MFR), massa seca de raiz (MSR), comprimento radicular (CR) e volume de raízes (VR) de plantas de *A. aculeata* conduzidas em casa-de-vegetação. Avaliação de crescimento realizada aos 390 dias após a aplicação dos tratamentos. Curitiba – PR, 2010.

Table 5: Average number of roots (ANR), fresh mass of root (FMR), dry mass of root (DMR), Root length (RL) and root volume (RV) of *A. aculeata* plants cultivated in greenhouse. Evaluation of growth performed at 390 days after treatment application Curitiba, Paraná. 2010.

| Tratamento | NR <sup>ns</sup> | MFR <sup>ns</sup> | MSR <sup>ns</sup> | CR (cm)*     | VR(ml) <sup>ns</sup> |
|------------|------------------|-------------------|-------------------|--------------|----------------------|
| 1          | 4,8±0,83         | 38,61±12,45       | 15,06±6,17        | 42,12±9,74ab | 43±9,74              |
| 2          | 5,2±1,3          | 43,23±12,84       | 19,37±4,25        | 48,93±9,67a  | 39±2,23              |
| 3          | 5,4±1,5          | 52,65±23,9        | 20,30±11,0        | 37,7±6,48ab  | 44±15,16             |
| 4          | 4,8±1,09         | 30,03±11,63       | 11,81±5,0         | 48,1±11,41a  | 31±12,44             |
| 5          | 5,8±2,04         | 49,58±24,56       | 20,67±15,71       | 32,6±8,35ab  | 38±22,8              |
| 6          | 4,4±1,5          | 23,94±11,44       | 7,62±4,07         | 25,4±5,35b   | 24±9,65              |
| 7          | 5,8±1,78         | 48,93±25,28       | 21,72±14,51       | 38,6±11,23ab | 41±23,55             |
| 8          | 4,8±0,84         | 37,89±15,72       | 13,46±7,05        | 34,7±6,27ab  | 36±8,95              |
| 9          | 5,8±0,44         | 50,67±50,6        | 22,53±13,1        | 36,4±6,45ab  | 37±18,57             |
| 10         | 5,4±1,5          | 42,96±14,0        | 15,61±15,1        | 37,6±13,61ab | 41±12,44             |
| CV (%)     | 27,3             | 44,35             | 59,03             | 23,6         | 39,46                |

\*Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. <sup>ns</sup>: não significativo.

#### 4.4 DISCUSSÃO

A ausência de resposta favorável, observada nas plantas de bocaiuva, após um ano de acompanhamento no que concerne ao esperado maior estímulo de crescimento da parte aérea, frente à inoculação com FMA, rizobacterias e aplicação de análogo de brassinosteróide pode ter sido resultado de uma confluência de fatores. Por um lado, o crescimento das palmeiras é usualmente lento e irregular como descrito por Mota et al. (2002). E assim como para outros grupos de plantas, nem sempre este crescimento responde favoravelmente, em curto prazo, à inoculação de fungos micorrízicos arbusculares (FMA) e a aplicação de diferentes doses de fertilizantes (VANDRESEN et al., 2007).

Também, há certo consenso que as substâncias promotoras de crescimento, tais como aplicação combinada ou isolada de inoculantes micorrízicos, rizobacterias e análogos de brassinosteróides, geralmente, são mais eficazes quando as plantas estão em condições adversas (MOLINA 2005; MOREIRA; SIQUEIRA 2002; KRISHNA, 2003), o que não era o caso da situação avaliada.

Adicionalmente, alguns estudos têm demonstrado que os FMA promovem maiores benefícios às plantas quando os teores de P no solo são baixos. Pelo contrário, se os teores deste nutriente estiverem elevados, a inoculação torna-se desnecessária (SIQUEIRA e SAGGIN JÚNIOR 2001; SAGGIN e SILVA 2002; BALOTA et al., 2010). No caso específico avaliado, o teor de fósforo do substrato era relativamente elevado ( $213\text{mg/dm}^3$ ) conforme análise química.

Outro importante detalhe é a formulação do substrato, que afeta diretamente a nutrição das plantas. Ao analisarmos os trabalhos de Vandresen et al. (2007) após seis meses de crescimento em viveiro para espécies arbóreas obtiveram-se resultados negativos referentes à produção de matéria seca quando inoculadas com FMA. Esse resultado foi relacionado com a qualidade do substrato, no entanto as plantas não adubadas obtiveram maior taxa de sobrevivência. Silva e Peixoto (2001) avaliando a influência de diferentes substratos e fertilizantes na formação de mudas do maracujazeiro-azedo observaram que, somente quando foi utilizado vermiculita, os FMA apresentaram influência. Entretanto, os FMAs quando adicionados a substratos não esterilizados, apresentam efeito nulo, devido ao alto teor de fósforo disponível na maioria dos substratos utilizados para a produção de mudas (SILVEIRA et al., 2002).

O período de avaliação, também pode não ter permitido evidenciar uma potencial



reação mais tardia de promoção de crescimento aéreo. Os benefícios da micorrização variam consideravelmente dependendo da compatibilidade genética e funcional entre a espécie vegetal e o fungo, assim como das condições edafoclimáticas (SAGGIN JUNIOR et al, 1994; SIQUEIRA 1994; BERBARA, 2006; ARMENTA - BOJÓRQUEZ et al., 2010). Assim, algumas espécies necessitam de mais tempo para o estabelecimento de simbiose efetiva e seu efeito benéfico pode aparecer em estádios mais tardios do desenvolvimento da planta, principalmente quando cultivada em substrato rico em nutrientes, como já evidenciado por (SILVA et al., 2006). A continuidade de monitoramento após o transplante das mudas utilizadas neste trabalho poderá confirmar este padrão para a bocaiuva.

Há que se considerar também: a) as micorrizas interatuam com outros organismos do solo e estas interações podem inibir competir ou estimular a associação micorrízica conforme proposto por Fitter e Garbaye (1994); b) a resposta à inoculação de bactérias é muito heterogênea mesmo entre indivíduos da mesma espécie conforme Chanway, (1995) e c) dado que os análogos de brasinosteroides alteram o balanço hormonal, nem sempre a dose utilizada no experimento é a realmente requerida e/ou adequada para promover o crescimento esperado. Desta forma, outros experimentos testando diferentes alternativas são necessários para um melhor entendimento da resposta de crescimento aéreo da bocaiuva frente à inoculação com FMA, rizobacterias e aplicação de análogo de brassinosteroide (MAZZAFERA e ZULLO, 1990; VASQUEZ e RODRIGUEZ, 2000; CATUNDA et al., 2008; MAZZORA e NÚÑEZ, 2008).

Por outro lado, os resultados favoráveis obtidos no que concerne ao crescimento radicular podem ser considerados promissores para o cultivo da bocaiuva, dado que o maior crescimento do sistema radicular promove maior área de absorção de água e nutrientes para a planta. Esse aumento pode ser atribuído à ramificação do fungo que promove uma maior área de absorção, fato preponderante principalmente em solos de baixa fertilidade (STANCATO e SILVEIRA, 2006). Resultados obtidos por Mafia et al. (2005) em mudas de eucalipto tratadas com rizobacterias demonstraram que um sistema radicular bem desenvolvido representa maior suporte fisiológico para a produção de mudas.

Vários fatores associados podem ter determinado a ausência de resposta favorável observada para a bocaiuva no que concerne ao esperado maior estímulo de crescimento da parte aérea, frente à inoculação com FMA, Rizobacterias e aplicação de análogo de brassinosteroide. Entretanto, os resultados favoráveis obtidos para o crescimento radicular podem ser considerados promissores para o cultivo da bocaiuva.

## REFERÊNCIAS

- ALTOÉ, J. A. et al. Tangerineira ‘Cleopatra’ submetida à micorrização e a um análogo de brassinosteróide. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v.30, n.1, p.13-17, 2008.
- AMBIENTE BRASIL. **Frutas nativas do cerrado: qualidade nutricional e sabor peculiar**. Disponível em: <http://www.ambientebrasil.com.br/composer.php3?base=./biotecnologia/index.html&conteudo=./biotecnologia/artigos.html> Acesso: 20/10/08.
- AMORIM, E. P. da R.; e MELO, I. S. de. Ação antagônica de rizobactérias contra *Phytophthora parasitica* e *P. citrophthora* e seu efeito no desenvolvimento de plântulas de citros. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.24, n.2, p.565-568, 2002.
- ARMENTA–BOJÓRQUEZ, et al. Biofertilizantes en el desarrollo Agrícola de México. **Ra Xinhai**, México, v.6, n.1, p.51–56, 2010.
- BALOTA, E. L. et al. Efeito dos fungos micorrízicos arbusculares em culturas oleaginosas. **Congresso Brasileiro de Mamona, 4º Simpósio Internacional de Oleaginosas Energéticas**, 1, 2010, João Pessoa. Inclusão Social e energia: Anais....Campina Grande: Embrapa Algodão, p.680-684, 2010.
- CASTRO, P. R. E. e VIEIRA, E. L. Ação de bioestimulante na cultura do feijoeiro. In: FANCELLI, A. L.; DOURADO NETO, V. **Feijão irrigado: tecnologia e produtividade**. Piracicaba: ESALQ, 2003.
- CATUNDA, P. et al. Brassinosteróide e substratos na aclimatização do abacaxizeiro ‘Imperial’. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v.30, n.3, p.345-352, 2008.
- CLEMENT, C. R. et al. O potencial das palmeiras tropicais no Brasil: Acertos e fracassos das últimas décadas. **Agrociencias**, Montevideo. v.IX, n.1 e 2, p.67–71, 2005.
- CHANWAY, C. P. et al. Endophytic colonization and field responses of hybrid spruce seedlings after inoculation with plant growth-promoting rhizobacteria. **Forest Ecology and Management**, Amsterdam. v.133, n.1-2, p.81–88, 2000.
- CHANWAY, C. P. Differential response of western hemlock from low and high elevations to inoculation with plant growth promoting *Bacillus polymyxa*. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, NY: Pergamon Press, v.27, n.6, p.767-775, 1995.
- COLL, M. T. et al. Polyhydroxyspirostanones as plant growth regulators. PCT Int. Appl. Co 7571/100, AOIN 45/00WO 97/13780, 1995.
- FITTER, A. H. e GARBAYE J. Interactions between mycorrhizal fungi and other soil organisms. **Plant and soil**, The Hague, Holanda, 159, 123–133, 1994.
- FONSECA, E. de P. et al. Padrão de qualidade de mudas de *Trema micrantha* (L.) Blume, produzidas sob diferentes períodos de sombreamento. **Revista Árvore**, Viçosa, v.26, n.4, p.515-523, 2002.

FREITAS, S. dos S. e VILDOSO, C. I. A. Rizobactérias e Promoção do Crescimento de Plantas Cítricas. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.28, n.6, p.987-994, 2004.

FREITAS, S. S.; MELLO, A. M. T. e DONZELI, V. P. Promoção do crescimento de alface por rizobactérias. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.27, n.1, p.61-70, 2003.

JORDAN, M. Brassinosteroides: sua importância como hormônios nas plantas. In: CID, L. P. B. (Ed). **Hormônios vegetais em plantas superiores**. Brasília: Embrapa Recursos Energéticos e Biotecnologia. p.147-166, 2005.

KRISHNA, P. Brassinosteroid-mediated stress responses. **Journal Plant Growth Regulation**, Heidelberg, v.22, n.4, p.289-297, 2003.

LORENZI, G. M. A. C. *Acrocomia aculeata* (Lodd.) ex Mart. – **ARECACEAE: BASES PARA O EXTRATIVISMO SUSTENTÁVEL**. 172f. Tese (Doutorado no Programa de Pós-Graduação em Agronomia), Universidade Federal do Paraná. Curitiba, 2006

MAFIA R, et al. Crescimento de mudas e produtividade de minijardins clonais de neucalipto tratados com rizobactérias selecionadas. **Revista Árvore**, Viçosa, v.29, n.6, p.843-851, 2005.

MAZZAFERA, P e ZULLO, M. A. T. Brassinosteroides em café. **Bragantia**. Campinas, v.49. n.1, p.37-41, 1990.

MAZORRA, L. M. NÚÑEZ, M. Estado actual sobre el conocimiento de la biosíntesis y los mecanismos moleculares de acción de los brasinosteroides em las plantas. **Cultivos Tropicales**, Cuba, v.20, n.3, p.63-72, 2008.

MIRANDA, J. C. C; MIRANDA, L. N. Dependência micorrízica de diferentes culturas anuais, adubos verdes e pastagens em solos de Cerrado. Planaltina, DF: EMBRAPA- CPAC, 2004.3p. (EMBRAPA- CPAC. **Comunicado Técnico**, 114).

MIRANDA, J. C. C.; MIRANDA, L. N. Manejo da micorriza arbuscular por meio da rotação de culturas nos sistemas agrícolas do cerrado. Planaltina, DF: EMBRAPA – CPAC, 2001. 3p. (EMBRAPA CPAC, **Comunicado Técnico**, 42).

MIRANDA, J C.C.; MIRANDA, L. N. Introdução da tecnologia de inoculação com fungos micorrízicos arbusculares na produção de mudas em viveiros. Planaltina: EMBRAPA CPAC, 2000. 4p. (EMBRAPA - CPAC. **Comunicado Técnico**, 24).

MOLINA, M. L. et al. Importancia del manejo de hongos micorrizógenos em el establecimiento de árboles em sistemas silvopastoriles. **Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias**, Robledo, v.18, n.2, p.162-175, 2005.

MOREIRA, F. M. de S.; SIQUEIRA, J. O. Microbiologia e bioquímica do solo. In: \_\_\_\_;\_\_\_\_. **Rizosfera**. Lavras: UFLA, 2002, Cap. 8, p. 361-397.

MOTTA, P. E. F. et al. Ocorrência de macaúba em Minas Gerais, Brasil: relação com atributos climáticos, pedológicos e vegetacionais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. Brasília, v.37, n.7, p.1023-1031, 2002.

NÚÑEZ, M. Aplicaciones prácticas de los brasinoesteroides y sus análogos en la agricultura. **Cultivos Tropicales**, Cuba, v.29, n.1, p.91-105, 1999.

PEREIRA, R. M. et al., Avaliação de populações de possíveis rizobacterias em solos sob espécies florestais. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.32, n.5, p.1921-1927, 2008.

PLENCHETTE, C. et al. Growth response of several plants species to mycorrhizae in a soil of moderate P-fertility. I. Mycorrhizal dependency under field conditions. **Plant and Soil**, The Hague, v.70, n.2, p.199-209, 1983.

SAGGIN JÚNIOR, O. J. e SILVA, E. M. R. **Micorriza arbuscular**: papel, funcionamento e aplicação da simbiose. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 2002.

SAGGIN JÚNIOR, O. J. et al. Interação fungos micorrízicos versus superfosfato e seus efeitos no crescimento e teores de nutrientes do cafeeiro em solo não fumigado. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.18, p.27-36, 1994.

SILVA, M. A. da et al. Fungos micorrízicos arbusculares e vermicomposto na aclimação de *Alpinia purpurata* (Viell.) Schum e *Zingiber spectabile* Griff. (Zingiberaceae). **Acta Botanica Brasilica**. São Paulo, v.20, n.2, p.249-256. Abril-Junho. 2006.

SILVA, R. P. da et al. Influência de diversos substratos no desenvolvimento de mudas de maracujazeiro azedo (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* DEG). **Revista Brasileira Fruticultura** Jaboticabal, v.23, n.2, p.377-381, 2001.

SILVEIRA, S. V.; SOUZA, P. V. D.; KOLLER, O. C. Efeito de fungos micorrízicos arbusculares no desenvolvimento do abacateiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 37, n. 11, p. 1597-1604, 2002.

SIQUEIRA, J. O. e SAGGIN JÚNIOR, O. J. Dependency on arbuscular mycorrhizal fungi and responsiveness of some Brazilian native woody species. **Mycorrhiza**, v.11, p.245-255, 2001.

SIQUEIRA, J. et al. Efeitos da infecção de plântulas de cafeeiro com quantidades crescentes de esporos do fungo endomicorrízico *Gigaspora margarita*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.29, p.875-883, 1994.

SOUZA JÚNIOR, E. E. de et al. Efeito de substratos e recipientes na aclimação de plântulas de abacaxizeiro *Ananas comosus* (L.) Merrill cv. pérola. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v.31, n.2, p.147-151, 2001.

STANCATO, G. C. e SILVEIRA, A. P. D. da. Associação de fungos micorrízicos arbusculares e cultivares micropropagadas de antúrio. **Bragantia**. Campinas. v.65, n.3, p. 511-516, 2006.

VANDRESEN, J. et al. Inoculação de fungos micorrízicos arbusculares e adubação na formação e pós-transplante de mudas de cinco espécies arbóreas nativas do sul do Brasil. **Acta Botanica Brasilica**. São Paulo, v.21, n.4, p.753-765, 2007.

VÁZQUEZ, M. C. N.; RODRÍGUEZ, R. C. M. Brasinoesteroides: nuevos reguladores del crecimiento vegetal con amplias perspectivas para La agricultura. Campinas: IAC, 2000. (**Documento IAC**, n. 68).

ZULLO, M. A. T. e GUNTER, A. Brassinosteroid phytohormonesstructure, bioactivity and applications. **Journal Plant Physiology**, Londrina, v.14, n.3, p.83-121, 2002.

### **5 CAPÍTULO 3 - EFEITO DE INOCULANTE MICORRÍZICO E ANÁLOGO DE BRASSINOSTEROIDE NO CRESCIMENTO DA PALMEIRA BOCAIUVA**

#### **RESUMO**

Visando subsidiar o cultivo de *Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd. ex Martius Arecaceae apresentam-se resultados de pesquisa relativo ao crescimento mudas por dois anos em condições de campo, testando-se a resposta frente à aplicação de inoculante micorrízico e regulador vegetal. Detectou-se resposta positiva apenas sobre determinadas variáveis isoladas ao longo do processo de crescimento, favorecendo especificamente o sistema radicular e o número de folhas. A variabilidade genética da população estudada, assim como o tempo de monitoramento, podem ter influenciado a menor expressão da resposta frente ao esperado. Porém, pode-se recomendar a utilização dessas substâncias para promover o crescimento das mudas de *Acrocomia aculeata*.

Palavras-chave: Arecaceae, *Acrocomia aculeata*, cultivo

#### **EFFECT OF MYCORRHIZAL INOCULANTS AND ANALOG BRASSINOSTEROID ON GROWTH OF PALM BOCAIUVA**

#### **ABSTRACT**

Aiming to support the domestication of *Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd. ex Martius, the results from research on plant growth from germination two years after transplantation in the field, testing the responses to the application of mycorrhizal inoculant and plant regulator. It turned positive response only to certain individual variables in the process of growth, specifically favoring the growth of the root system and number of leaves. The genetic variability of the study population as well as the monitoring time may have influenced the expression of the lower front of the expected response. However, we can recommend the use of these substances to promote plant growth.

Keywords: Arecaceae, *Acrocomia aculeata*, cultivation.

## 5.1 INTRODUÇÃO

A bocaiuva [*Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd. ex Martius] é uma espécie potencial como matéria prima fonte de biocombustível, além dos diversos subprodutos, destacando-se a polpa dos frutos usada para a fabricação de licores e doce, as tortas tanto da polpa quanto da amêndoa e as folhas utilizadas como ração animal, o endocarpo como carvão vegetal além do óleo que pode ser utilizado na alimentação humana e na geração de energia (SILVA, 1994; LORENZI, 2006; MOURA, 2007; BANDEIRA, 2008; ANDRADE; SILVA, 2011). Além disso, apresenta vantagens em relação a outras oleaginosas, devido à sua maior rentabilidade (MOTA et al., 2002; NUCCI, 2007). É uma espécie rústica, pouco exigente em relação a água e solo, podendo ser cultivada em áreas marginais ou com certo grau de degradação ambiental. Adicionalmente, há possibilidade de seu uso em sistema agroflorestral, consorciada com culturas anuais, frutíferas, pastagens e ou florestais, o que proporcionaria a diversificação da agricultura familiar e conseqüentemente, contribuiria com uma renda adicional para a população local (BANDEIRA, 2008).

Neste contexto, a exploração sustentável da bocaiuva associada a outros recursos, em conjunto com outras atividades econômicas, pode contribuir para a transformação da realidade do produtor rural e da região em que for estabelecido o cultivo. Porém, até o momento, a sua exploração ocorre de forma extrativista (MOTA et al., 2002) sendo o plantio comercial ainda muito pequeno (ANDRADE; SILVA, 2011). No entanto, apesar da potencialidade desta espécie, há escassez de informações sobre o seu cultivo, crescimento e desenvolvimento, o que é um fator limitante para a implantação e/ou incremento de cultivos comerciais.

Uma alternativa, que tem sido visualizada como extremamente importante para otimizar o cultivo de espécies nativas, é a aplicação de fungos micorrízicos arbusculares na fase de formação de mudas em viveiro. Além disso, outra potencial substância para promover o crescimento de plantas são os reguladores vegetais, em especial os brassinosteroides.

Os fungos micorrízicos arbusculares (FMA) vivem em associação natural e benéfica com as plantas no solo. Quando aplicados ao substrato promovem o crescimento das mesmas, devido a sua influência positiva, principalmente quanto à absorção de nutrientes (COSTA; LOVATO, 2004). Os FMA, além de melhorar o estado nutricional, aumentam a tolerância das plantas ao estresse do transplante (BORGES et al., 2007) e contribuem para o aumento da

sobrevivência das mudas no campo (MIRANDA, 2001). Os FMA são uma alternativa valiosa para diminuir a aplicação de fertilizantes adicionados as mudas, além de manter um sistema de produção limpo e eficiente (MOLINA et al., 2005). Tal associação é comum a muitos grupos vegetais e em algumas palmeiras foi detectada a sua ocorrência natural (BOVI et al, 1987; RUIZ ,1993).

Os brassinosteroides (BR) são considerados a sexta classe de hormônios vegetais (TAIZ; ZEIGER, 2004). Dentre os análogos sintéticos de BR o Biobras - 16<sup>®</sup> vem sendo avaliado em relação a sua eficiência na promoção do crescimento vegetal. Os análogos de brassinosteroides tem sido bastante pesquisados por agir na divisão e alongamento celular (GROVE et al., 1979; CLOUSE; SASSE 1998) e estimular ou inibir o crescimento radicular (MÜSSIG et al., 2003; BAO et al., 2004). Adicionalmente, proporcionam o aumento no rendimento e produção de biomassa, melhoram a qualidade das colheitas (MAZORRA; NÚÑEZ, 2008), aumentam a tolerância das culturas a estresse salino, hídrico ou térmico e a resistência das plantas a pragas e doenças (NÚÑEZ, 1999; KRISHNA 2003; NÚÑEZ et al., 2006).

Neste contexto, visando subsidiar o cultivo de *Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd. ex Martius apresentam-se resultados de pesquisa sobre o crescimento de plântulas pelo período de 2 anos após transplante em campo, testando-se a resposta biológica frente à aplicação de inoculante micorrízico e regulador vegetal, prática cada vez mais utilizada na agricultura.

## 5.2 MATERIAL E MÉTODOS

### 5.2.1 Estabelecimento dos ensaios

Crescimento de mudas (Casa-de-vegetação): O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com 4 repetições de 54 plantas cada, totalizando 216 plantas por tratamento. As mudas foram gentilmente cedidas pelo Laboratório de Cultura de Tecidos e Células Vegetais, Departamento de Fitotecnia, Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais. Essas foram geradas via sementes e pré - germinadas de acordo com a técnica descrita por Motoike et al. (2007). Imediatamente, após a chegada destas sementes à Curitiba procedeu-se a semeadura, em tubetes, de 120cm<sup>3</sup> (38 mm de diâmetro interno e 140 mm de altura) contendo vermiculita umedecida, sendo acondicionada em casa-de-vegetação, localizada no Jardim Botânico de



Curitiba, até atingirem em média 15 cm de altura, quando então foram transferidas para embalagens plásticas de (18cm x 30cm) contendo terra umedecida (Anexo 5). O controle de temperatura e umidade no local foi realizado automaticamente, sendo efetuada irrigação por aspersão com vazão de 3,8mm/dia. Nesta etapa experimental foi testada a aplicação do inoculante micorrízico (Ecomic ®). Este é composto por FMA *Glomus hoi like* sendo adicionado 3g de inoculante em cada embalagem plástica por ocasião do transplante.

Aclimação (Viveiro rústico): O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com 4 repetições de 54 plantas cada, totalizando 216 plantas por tratamento. Após a fase em casa-de-vegetação, as mudas foram levadas até o local de estudo, ou seja, no município de Cerro Azul – Paraná, onde foram acondicionadas em um viveiro para adaptar-se ao ambiente natural e conseqüentemente, diminuir possíveis perdas. O viveiro foi construído com material existente na propriedade, constituído de tela de sombreamento (50%) e taquara para sustentação, nas dimensões de 3m X 6m (Anexo 6). As mudas permaneceram neste local até que as condições climáticas (não ocorrência de geadas) permitiram o plantio no campo. Os tratamentos nesta fase foram semelhantes ao anterior, embora 30 dias antes do transplante no campo foi aplicado, via aspersão, o análogo de brassinosteróide (Biobras 16®), na concentração de 0,05ml/L<sup>-1</sup> sobre as plantas.

Desenvolvimento das mudas em campo: O delineamento experimental foi de blocos ao acaso com 4 repetições de 30 plantas/bloco, totalizando 120 plantas por tratamento. O estudo foi desenvolvido em área rural (<1,0 ha) localizada em Cerro Azul - Paraná (24°49'S, 49°15'O, 318 m s. n.m). A classificação climática segundo Kööppen é Cfa subtropical úmido com elevadas temperaturas no verão e temperaturas amenas no outono e inverno, e elevadas precipitações. O relevo da região é bastante ondulado e montanhoso, com grandes desníveis altimétricos (30 a 50%). Os solos da região são, em sua maioria, ácidos (PERACI, 2002). Em vista disso, para verificar a fertilidade da área de estudo, 4 meses antes do plantio das mudas no campo realizou-se uma análise do solo (Anexo 7). O resultado obtido demonstrou a necessidade de correção do mesmo e para tanto foram aplicadas 6 toneladas de calcário e 500 kg/ha de fosfato natural. A região tem como base produtiva a agricultura familiar, a qual se caracteriza por sua baixa rentabilidade e caráter de subsistência, sendo comum a utilização de culturas com maior adaptabilidade ao relevo em declive. O plantio foi realizado quando as mudas atingiram aproximadamente 25 cm e as condições climáticas mostraram-se propícias para o plantio (Anexo 8). As covas foram feitas nas dimensões 25 cm X 30 cm e cada muda foi marcada com uma estaca de madeira. O espaçamento entre as mudas foi de 4m X 4m, nas entrelinhas do plantio de citrus. Foram realizadas capinas manuais, para controle de plantas

daninhas, e o monitoramento e controle de ataque de formigas cortadeiras.

### 5.2.2 Monitoramento e coleta de dados

O monitoramento e as avaliações do crescimento das plantas foram realizados mensalmente, nas diferentes fases: casa-de-vegetação, viveiro e campo até completar um ano. Dado o crescimento relativamente lento das palmáceas, no segundo ano de experimento as avaliações passaram a ser realizadas a cada 3 meses. Além disso, no segundo ano não foram realizadas análises destrutivas, devido ao crescimento das plantas e não existir possibilidade de arranquio das mesmas, sem prejudicar o sistema radicular.

O crescimento inicial das mudas foi avaliado por meio da mensuração dos parâmetros de crescimento (altura da planta, número de folhas, comprimento médio das folhas e diâmetro de caule), com o auxílio de trena graduada em centímetros e paquímetro digital.

Com o objetivo de avaliar o crescimento das plantas no intervalo das amostragens foi realizada análise de crescimento destrutiva das mudas no campo a cada quatro meses, sendo coletadas 16 plantas por bloco (Anexo 9). As plantas retiradas para a análise foram repostas por outras de mesma idade e tamanho semelhante, para restabelecer o número inicial de plantas durante todo período experimental. No total foram realizadas quatro avaliações sendo determinada altura de planta, diâmetro do caule, número de folhas e raízes, comprimento de folhas e raízes e volume radicular. A partir dos dados primários, variáveis subsequentes foram determinadas tais como massa fresca e seca total aérea e radicular, área foliar, taxa de crescimento relativo e absoluto.

A determinação de massa fresca foi realizada no momento da coleta das plantas, através da separação de suas partes e da pesagem individual. Posteriormente cada parte (aérea e radicular) foi separada em sacos de papel individualizados, identificados e levados a estufa de secagem de ventilação forçada de ar a 65°C, até peso constante para a determinação da massa seca. As pesagens foram realizadas em balança digital com precisão de 0,01g.

Para a determinação da área foliar das plantas utilizou-se o método de discos, sendo retirados 10 discos de cada planta, com o auxílio de um vazador. Foi determinada a massa fresca e seca dos mesmos e posteriormente a área foliar sendo determinada através da seguinte equação:  $AF = AD \times MSF \times ND / MSD$ , em que: AF é a área foliar, AD é a área do disco (cm<sup>2</sup>), MSF – é a massa seca de folhas (g), ND – é o número de discos e MSD – é a massa seca de discos.

A partir dos dados de massa seca foi determinada a taxa de crescimento absoluto (TCA) e taxa de crescimento relativo (TCR) de acordo com metodologia descrita por (BENINCASA, 2003).

$$TCA = P_2 - P_1 / (t_2 - t_1)$$

$$TCR = \frac{\ln(P_2) - \ln(P_1)}{(t_2 - t_1)}$$

Onde:

P2 e P1 = massa seca medida (g) no intervalo de tempo

(t<sub>2</sub> - t<sub>1</sub>) = intervalo de tempo entre as duas amostragens (4 meses)

A taxa de crescimento absoluto (TCA) é usada para se ter idéia da velocidade média de crescimento ao longo do período de observação. A TCR é um índice que mede a eficiência da planta em produzir material novo, o que geralmente é visualizado pelo incremento em altura ou massa seca num intervalo de tempo quando comparado com seu tamanho inicial (BENINCASA, 2003).

Os dados obtidos foram submetidos às análises de variância, em esquema fatorial (datas e tratamentos) para todos os experimentos. Utilizou-se o software estatístico ASSISTAT 7.6 beta. (SILVA, 2011).

De maneira a subsidiar o melhor entendimento da área experimental, elaborou-se uma caracterização mais detalhada das condições climáticas durante o período de realização do experimento com base em dados diários de temperatura, precipitação, umidade e radiação solar da Estação Meteorológica de Cerro Azul, fornecidos pelo Instituto Tecnológico SIMEPAR (Anexo 10).

## 5.3 RESULTADOS

### 5.3.1 Crescimento mudas

A maioria das mudas tiveram um bom desempenho, originando a mudas de qualidade, ou seja, vigorosas capazes de suportar o estresse do transplante ao campo. A porcentagem de

germinação utilizando esse método foi superior a 80% semelhante ao descrito na literatura (MOTOIKE et al., 2007). O índice de sobrevivência em casa - de - vegetação, viveiro e campo, foram considerados alto, superiores a 90%.

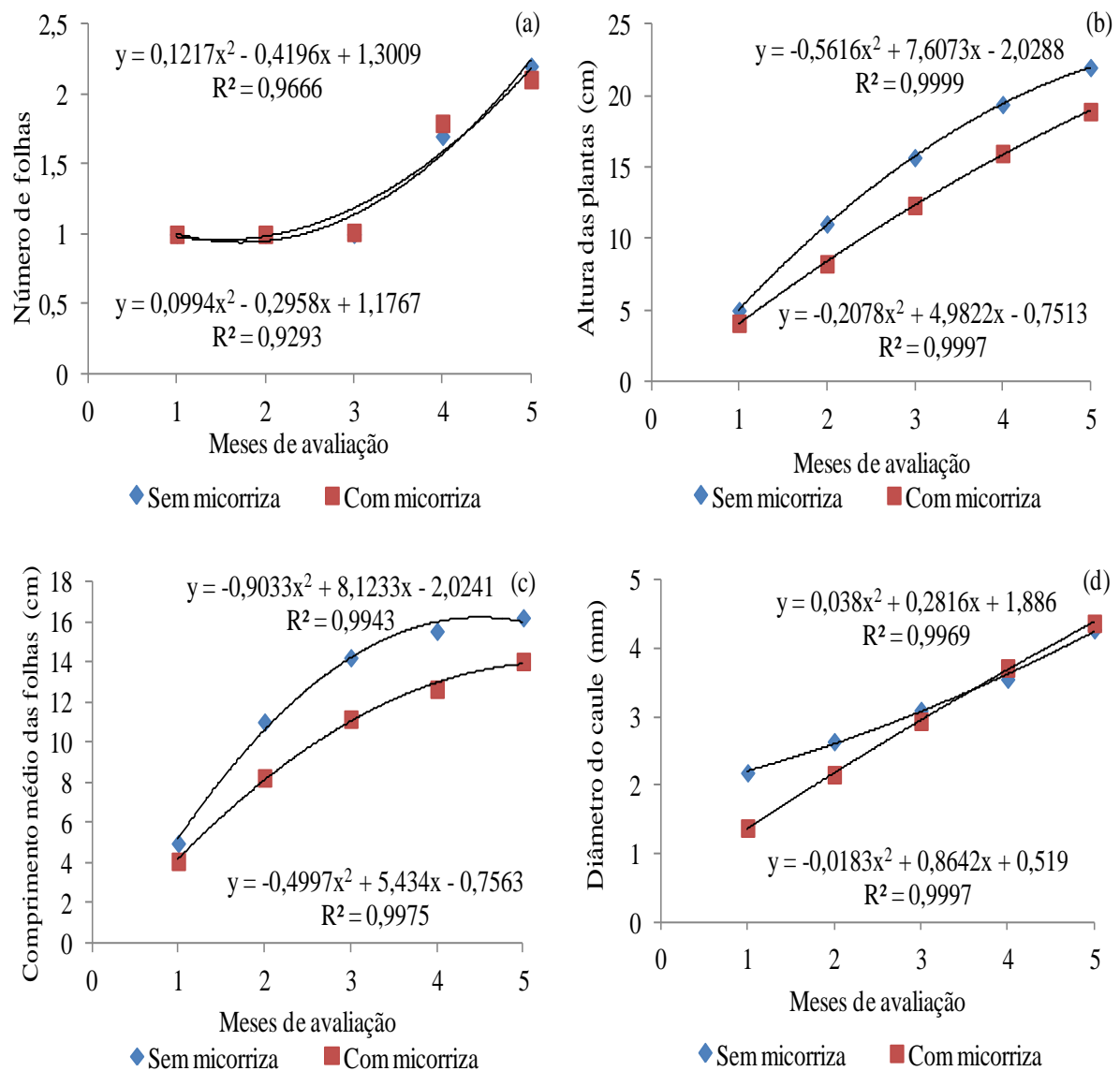
Na fase em casa - de - vegetação não foi observada interação entre os tratamentos e datas de avaliação, para todos os parâmetros analisados, na avaliação do crescimento das plantas (Tabela 6). Ou seja, a aplicação de inoculante micorrízico na fase inicial de crescimento de bocaiuva não promoveu incremento interativo, considerando todas as variáveis avaliadas.

**Tabela 6:** Análise das mudas de *Acrocomia aculeata* mantidas em casa-de-vegetação após aplicação dos tratamentos com e sem inoculante micorrízico.

| Fonte de variação | GL | Altura (cm)         | CF (cm)            | NF                   | Diâmetro (mm)      |
|-------------------|----|---------------------|--------------------|----------------------|--------------------|
| Tratamentos       | 1  | 29,19**             | 25,27**            | 0,0149 <sup>ns</sup> | 1,83 <sup>ns</sup> |
| Datas             | 4  | 129,45**            | 66,50**            | 554,08**             | 25,76**            |
| Trat. X Datas     | 4  | 0,869 <sup>ns</sup> | 0,71 <sup>ns</sup> | 2,12 <sup>ns</sup>   | 1,07 <sup>ns</sup> |
| CV (%)            |    | 11,90               | 13,20              | 4,70                 | 18,40              |

\*\* significativo a 1% de probabilidade. <sup>ns</sup> : não significativo. CF: comprimento médio das folhas, NF: número médio de folhas.

Considerando-se individualmente estas variáveis, apenas obteve-se resposta favorável de crescimento em relação ao número de folhas, com aplicação de micorriza ao substrato (Figura 6a). Ou seja, detectou-se efeito inexpressivo da aplicação de micorriza frente às demais variáveis envolvidas no crescimento das mudas (Figura 6b, 6c e 6d).



**Figura 6:** Crescimento em número médio de folhas (a), altura das plantas (b), comprimento médio das folhas (c) e diâmetro de caule (d) de plântulas de *Acrocomia aculeata* em casa-de-vegetação durante o período novembro 2009 a maio 2010.

### 5.3.2 Aclimação

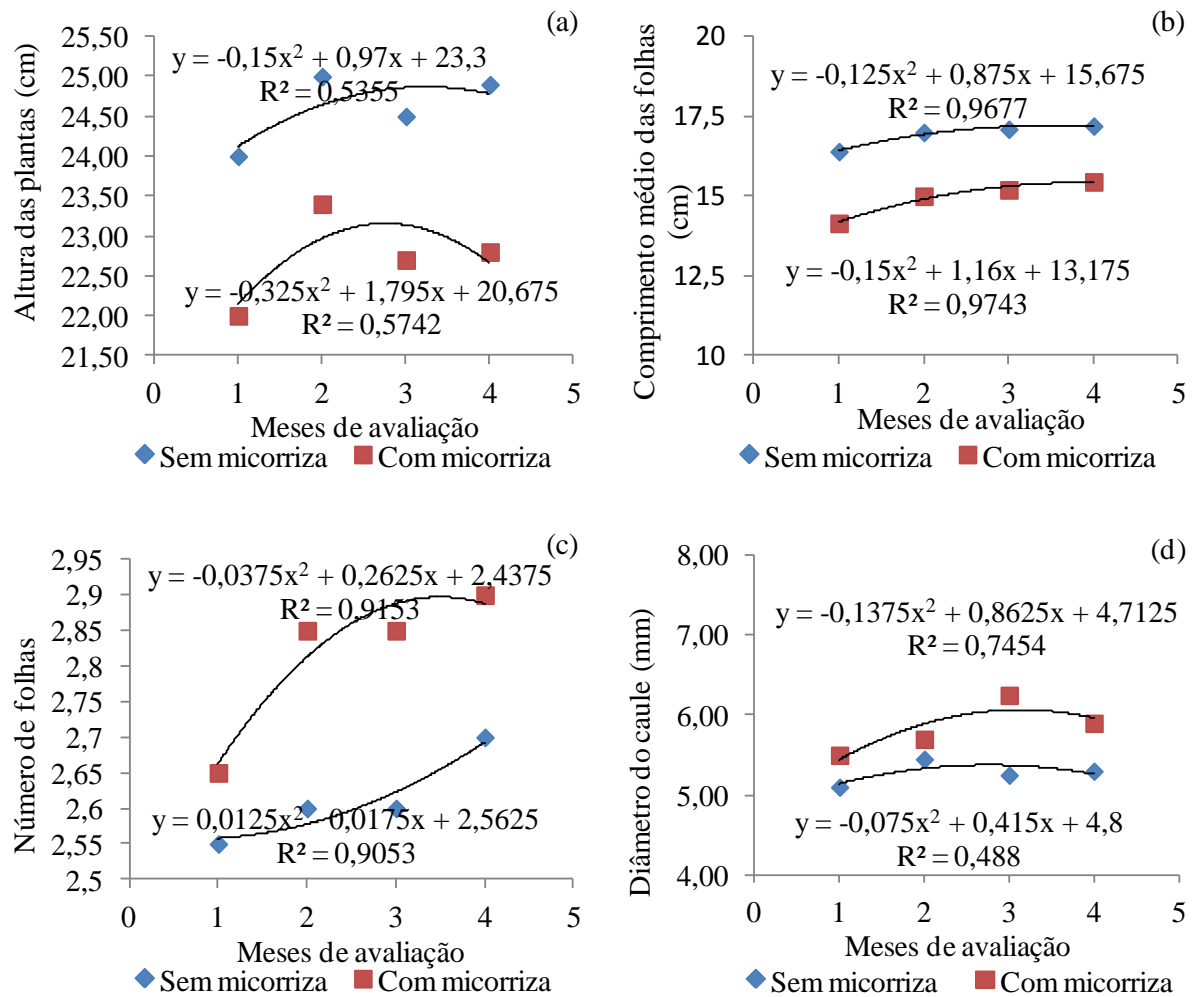
Na fase de aclimação em viveiro, registrou-se interação significativa da aplicação de micorriza para as variáveis: altura de planta e comprimento médio das folhas (Tabela 7). Isso permite inferir que, com o passar do tempo, a ação do inoculante micorrízico pode ser melhor visualizada nas plantas.

**Tabela 7:** Análise das mudas de *Acrocomia aculeata* mantidas em viveiro com e sem a aplicação de inoculante micorrízico.

| Fonte de variação | GL | Altura (cm)        | CF (cm)            | NF                  | Diâmetro (mm)      |
|-------------------|----|--------------------|--------------------|---------------------|--------------------|
| Tratamentos       | 1  | 12,78**            | 20,28**            | 5,30*               | 6,29*              |
| Datas             | 4  | 0,90 <sup>ns</sup> | 1,09 <sup>ns</sup> | 1,23 <sup>ns</sup>  | 0,80 <sup>ns</sup> |
| Trat. X Datas     | 4  | 0,043*             | 0,0651*            | 0,175 <sup>ns</sup> | 0,54 <sup>ns</sup> |
| CV (%)            |    | 6,20               | 7,70               | 8,55                | 11,40              |

\* significativo a 5% de probabilidade. \*\* significativo a 1% de probabilidade. <sup>ns</sup> : não significativo. CF: comprimento médio das folhas, NF: número médio de folhas.

Similarmente ao observado na fase de crescimento anterior, registrou-se na fase de aclimação que o tratamento controle resultou em maior incremento de altura e comprimento médio das folhas (Figuras. 7a e 7b). Por outro lado, o tratamento com micorriza promoveu maior incremento no número de folhas e diâmetro de caule (Figuras. 7c e 7d). Ou seja, promoveu incrementos que provavelmente irão beneficiar as mudas na fase posterior a campo, quando sofrerão o estresse do transplante.



**Figura 7:** Crescimento em altura de plantas (a), comprimento médio das folhas (b), número médio de folhas (c) e diâmetro de caule (d) de mudas de *Acrocomia aculeata* registrado em viveiro localizado no município de Cerro Azul (PR) durante os meses de maio a setembro de 2010.

### 5.3.3 Crescimento das plantas a campo

Os resultados das análises destrutivas, relativas ao primeiro ano de avaliação do cultivo a campo, revelaram interação entre os tratamentos testados e as datas de avaliação para as seguintes variáveis: número de raízes (NR), volume total radicular (VTR) e comprimento radicular (CR) (Tabela 8). Ou seja, a ação das micorrizas determinou um efeito interativo sobre as variáveis que representavam o crescimento radicular. Essa resposta era esperada uma vez que estes microorganismos promovem um aumento na área de absorção de água e nutrientes devido à ação das hifas do fungo.

**Tabela 8:** Análise destrutiva das mudas de *A. aculeata* em experimento no campo, submetida a aplicação de inoculante micorrízico e análogo de brassinosteróide durante o primeiro ano de avaliação no campo.

| Fator de variação | GL | H                   | NF                 | CF                 | MFF                 | MFTA               | MFTRaiz            | MFRaiz              |
|-------------------|----|---------------------|--------------------|--------------------|---------------------|--------------------|--------------------|---------------------|
| Tratamentos       | 2  | 2,65 <sup>ns</sup>  | 0,183*             | 1,18 <sup>ns</sup> | 0,74 <sup>ns</sup>  | 0,62 <sup>ns</sup> | 2,82 <sup>ns</sup> | 2,78 <sup>ns</sup>  |
| Datas             | 3  | 57,17 <sup>ns</sup> | 34,96**            | 72,1**             | 43,75**             | 43,3**             | 9,27**             | 66,32**             |
| T X D             | 6  | 1,36 <sup>ns</sup>  | 0,39 <sup>ns</sup> | 1,19 <sup>ns</sup> | 0,96 <sup>ns</sup>  | 1,07 <sup>ns</sup> | 1,09 <sup>ns</sup> | 2,3 <sup>ns</sup>   |
| Tratamentos       | 11 | 16,8**              | 9,75**             | 20,5**             | 12,60**             | 12,50**            | 26,40**            | 19,86**             |
| Blocos            | 3  | 4,05*               | 0,43 <sup>ns</sup> | 2,75 <sup>ns</sup> | 1,5 <sup>ns</sup>   | 1,1 <sup>ns</sup>  | 0,24 <sup>ns</sup> | 1,85 <sup>ns</sup>  |
| CV (%)            |    | 14,1                | 11,4               | 13                 | 38                  | 42                 | 17,7               | 34,8 <sup>ns</sup>  |
| Fator de variação | GL | AF                  | NR                 | VR                 | VTR                 | CR                 | MSTotal            | MSR                 |
| Tratamentos       | 2  | 2,36 <sup>ns</sup>  | 15,91**            | 2,49 <sup>ns</sup> | 6,19**              | 9,07**             | 1,57 <sup>ns</sup> | 0,82 <sup>ns</sup>  |
| Datas             | 3  | 30,03**             | 92,09**            | 39,92**            | 50,68**             | 148,06**           | 54,05**            | 48,3**              |
| T X D             | 6  | 1,23 <sup>ns</sup>  | 14,80**            | 1,34 <sup>ns</sup> | 3,35*               | 6,01**             | 2,34 <sup>ns</sup> | 2,16 <sup>ns</sup>  |
| Tratamentos       | 11 | 9,30**              | 36,1**             | 12,07**            | 16,77 <sup>ns</sup> | 45,31**            | 16,3**             | 14,50**             |
| Blocos            | 3  | 2,50 <sup>ns</sup>  | 0,67 <sup>ns</sup> | 1,61 <sup>ns</sup> | 2,04 <sup>ns</sup>  | 0,65 <sup>ns</sup> | 1,98 <sup>ns</sup> | 0,206 <sup>ns</sup> |
| CV (%)            |    | 30,67               | 24                 | 25,3               | 41,6                | 12,6               | 38,4               | 27,87               |

\* significativo a 5% de probabilidade. \*\* significativo a 1% de probabilidade. <sup>ns</sup> : não significativo. H: altura; NF: número médio de folhas; CF: comprimento médio das folhas, MFF: massa fresca de folhas; MFTA: massa fresca total aérea; MFTR: massa fresca total de raízes; MFR: massa fresca de raízes; AF: área foliar; NR: número de raízes, VR: volume radicular; VTR: volume total de raízes; CR: comprimento radicular; MST: massa seca total aérea e MSR: massa seca de raízes.

Em relação às taxas de crescimento absoluto (TCA) e relativo (TCR) de altura de planta e massa seca total não foram observada interação significativa entre a aplicação de micorriza e brassinosteróide e as datas de coleta de dados (Tabela 9). Ou seja, não se evidenciou diferença para as variáveis altura e massa seca total, representativas do crescimento absoluto e relativo, frente ao tratamento testado. No entanto, ao longo do tempo (fator data) registrou-se diferenciação para a TCA em massa seca total e para TCR tanto em altura de planta como em massa seca total. Este resultado indica que a TCA aumentou ao longo do período experimental, fato esperado, dado o processo de crescimento inerente ao indivíduo. Cabe ressaltar que fatores como a luz, temperatura, CO<sub>2</sub>, água e nutrientes, próprios do local de estudo, podem afetar sensivelmente a taxa de crescimento relativo e absoluto das plantas.



**Tabela 9:** Taxas de crescimento absoluto (TCA) e taxa de crescimento relativo (TCR) de altura (H) e massa seca total (MST) em experimento no campo.

| Fator de variação | GL | TCA (H)<br>g.mês <sup>-1</sup> | TCR (H)<br>g. g <sup>-1</sup> mês <sup>-1</sup> | TCA (MST)<br>g.mês <sup>-1</sup> | TCR (MST)<br>g. g <sup>-1</sup> mês <sup>-1</sup> |
|-------------------|----|--------------------------------|---|----------------------------------|---|
| Tratamentos       | 2  | 1,13 <sup>ns</sup>             | 2,75 <sup>ns</sup>                              | 0,6 <sup>ns</sup>                | 1,33 <sup>ns</sup>                                |
| Datas             | 2  | 0,22 <sup>ns</sup>             | 17,70**   | 8,93**                           | 11,19**   |
| T X D             | 4  | 2,04 <sup>ns</sup>             | 0,97 <sup>ns</sup>                              | 1,46 <sup>ns</sup>               | 0,88 <sup>ns</sup>                                |
| Tratamentos       | 8  | 1,35 <sup>ns</sup>             | 5,60**  | 3,11*                            | 3,57**  |
| Blocos            | 3  | 1,08 <sup>ns</sup>             | 3,44*   | 0,88 <sup>ns</sup>               | 1,35 <sup>ns</sup>                                |
| CV (%)            |    | 42,05                          | 4,68  | 44,98                            | 12,19   |

\* significativo a 5% de probabilidade. \*\* significativo a 1% de probabilidade. <sup>ns</sup> : não significativo. CF: comprimento médio das folhas, NF: número médio de folhas.

De maneira geral, passados dois anos de monitoramento, foram observadas diferenças apenas em fatores isolados, não ocorrendo interação entre estes (Tabela 10). O monitoramento em longo prazo poderá explicitar, de maneira mais significativa, a influência destes tratamentos sobre a dinâmica de crescimento desta espécie.

**Tabela 10:** Análise de crescimento das mudas de *Acrocomia aculeata* em experimento no campo, durante dois anos de avaliação.

| Fator de variação | GL | Altura (cm)       | NF                 | CF (cm)           | Diâmetro (mm)      |
|-------------------|----|-------------------|--------------------|-------------------|--------------------|
| Tratamentos       | 2  | 3,52*             | 5,62*              | 5,93**            | 4,36*              |
| Datas             | 8  | 45,32**           | 27,36*             | 78,60**           | 47,54**            |
| T X D             | 16 | 0,3 <sup>ns</sup> | 0,57 <sup>ns</sup> | 0,5 <sup>ns</sup> | 0,63 <sup>ns</sup> |
| Tratamentos       | 26 | 14,40**           | 9,20**             | 24,95**           | 15,35**            |
| Blocos            | 3  | 15,13**           | 9,94**             | 13,62**           | 9,50*              |
| CV (%)            |    | 24,7              | 8,9                | 17,6              | 22,7               |

\* significativo a 5% de probabilidade. \*\* significativo a 1% de probabilidade. <sup>ns</sup> : não significativo. CF: comprimento médio das folhas, NF: número médio de folhas.

### 5.3.4 Caracterização das condições climáticas da área de estudo durante o experimento

Um fator importante que deve ser levado em consideração são as condições climáticas ocorridas no local de estudo durante o período experimental (Tabela 11). Nos dois anos de

avaliação houve muita variação em precipitação, entre os meses, valores de 12,2 a 264 mm no mês de setembro de 2009 e setembro de 2011, respectivamente (Anexo 10).

**Tabela 11:** Média dos dados climáticos dos anos 2009, 2010 e 2011 do município de Cerro Azul durante período experimental de cultivo de *Acrocomia aculeata*.

| Anos   | Precipitação<br>(mm) | Temp.<br>máxima<br>(C°) | Temp.<br>mínima<br>(C°) | Temp.<br>média<br>(C°) | Umidade<br>relativa<br>(%) | Rad.<br>solar<br>(W/m <sup>2</sup> ) |
|--------|----------------------|-------------------------|-------------------------|------------------------|----------------------------|--------------------------------------|
| 2009*  | 1279                 | 25,5                    | 14,4                    | 18,7                   | 84                         | 271                                  |
| 2010   | 1697                 | 27,3                    | 15,2                    | 19,8                   | 84                         | 209                                  |
| 2011** | 1033                 | 27                      | 14,8                    | 19,1                   | 86                         | 289                                  |

\*ano de 2009 dados a partir de maio. \*\* ano de 2011 dados até setembro.

Associado aos fatores climáticos, a incidência ou não de luz resultou em diferença visual entre as parcelas. Apesar de não ter sido monitorada, pode ser observado que nas áreas onde havia maior sombreamento as plantas cresceram mais e eram mais vigorosas. Plantas expostas a pleno sol não tiveram crescimento similar, pelo contrário, eram menores. A ocorrência de geadas provocou danos visíveis nas folhas das mudas, isso também pode ter contribuído para o crescimento não ter atingido na média 2m de altura.

## 5.4 DISCUSSÃO

*Acrocomia aculeata* é uma espécie rústica, de crescimento lento, pouco exigente em relação a água e solo, sendo também resistente à seca (MOTA et al., 2002; HIANE et al., 2005; TEIXEIRA, 2005). Para várias espécies com estas características há registro na literatura de favorecimento do crescimento frente à aplicação de FMA e brassinosteroides. Em alguns casos, esta aplicação contribui para aumento da sobrevivência das mudas no campo segundo Miranda (2001), em outros melhoram o estado nutricional, aumentam a tolerância das plantas ao estresse do transplante conforme Borges et al., (2007) ou aumentam a tolerância das culturas aos diferentes tipos de estresse e a resistência das plantas a fatores bióticos (KRISHNA 2003; NÚÑEZ et al., 2006). Especificamente no que concerne a palmeiras, observou-se que a utilização de brassinosteróide pode favorecer o crescimento das plantas (BENÍTEZ; SOTO, 2010). Particularmente, alguns reguladores vegetais tem sido eficientes na promoção do crescimento radicular (MÜSSIG et al., 2003).

No entanto, os resultados obtidos com a aplicação de brassinosteroides e micorriza em *Acrocomia aculeata* não explicitaram este padrão de favorecimento. Detectou-se resposta positiva sobre determinadas variáveis isoladas ao longo do processo de crescimento, favorecendo especificamente o crescimento do sistema radicular e o número de folhas. De acordo com Khripach et al. (2000) o efeito dos brassinosteroides pode ser baixo quando as condições em que as plantas estão crescendo estão propícias.

No entanto, entende-se como importante a ação sobre o crescimento radicular, ainda que insipiente. Dado que a área de absorção de água e nutrientes foi aumentada, há favorecimento do crescimento da planta de maneira geral sendo este imprescindível para a formação de mudas de qualidade. Adicionalmente, também o estímulo ao maior número de folhas deve ser enfatizado, sendo diretamente proporcional ao aumento da biomassa.

Há que se considerar que as plantas do presente estudo, mesmo com idades idênticas e recebendo os mesmos tratamentos culturais, sofreram influência da variabilidade genética natural de populações que foram submetidas a pouco ou nenhum melhoramento genético. Neste caso, o elevado coeficiente de variação associado ao experimento pode estar mascarando importante resultado em nível individual e que poderia subsidiar futura seleção para melhoramento.

Outro fator que pode ter contribuído para a tênue evidência de ação dos tratamentos testados foi o tempo de avaliação. Dado o longo ciclo de vida desta espécie, pode ser que dois anos de campo foram insuficientes para explicitar a ação das substâncias utilizadas. O resultado mais favorável obtido até o momento utilizando brassinosteróide tem sido com espécies de ciclo curto (NÚÑEZ, 1999; NÚÑEZ et al., 2006; MAZORRA; NÚÑEZ, 2008).

Frente ao exposto, avalia-se como necessário em um prazo maior de monitoramento para melhor avaliar a resposta de ação de micorrizas e brassinosteroides sobre a dinâmica de crescimento de bocaiuva.

## 5.5 CONCLUSÕES

No que concerne às mudas de bocaiuva submetidas à aplicação de inoculante micorrízico e um análogo de brassinosteróide, detectou-se resposta positiva apenas sobre o crescimento do sistema radicular e o número de folhas. A variabilidade genética da população estudada, assim como o tempo de monitoramento, podem ter contribuído para a menor resposta frente ao esperado.

## REFERÊNCIAS

- ANDRADE, M. H. C.; SILVA, G. C. R. Potencialidades industriais do fruto da macaúba, palmeira nativa do cerrado. **A Lavoura**, Rio de Janeiro, v. 682, p. 42-43, 2011.
- BAO, F.; SHEN J.; BRADY S. R.; MUDAY G. K.; ASAMI T; YANG Z. Brassinosteroids interact with auxin to promote lateral root development in Arabidopsis. **Plant Physiology**, Washington, v. 134, p. 1624–1631, 2004.
- BANDEIRA, F. S. **Cultivo in vitro e embriogênese somática de embriões zigóticos de macaúba (*Acrocomia aculeata* (Jacq) Loddiges**. 92f. Tese (Doutorado em Ciência Florestal) - Universidade Federal de Viçosa. Viçosa - Minas Gerais, 2008.
- BENINCASA, M. M. P. **Análise do crescimento de plantas: noções básicas**. Jaboticabal: FUNEP, 2003. 44p.
- BENÍTEZ, B.; SOTO, F. El cultivo da Palma areca (*Dypsis lutescens*, H. Wendel). **Cultivos Tropicales**, Cuba, v. 31, n. 1, p. 62-69, 2010.
- BORGES, A. J. S.; TRINDADE, A. V.; MATOS, A. P. de e PEIXOTO, M. F. S. Redução do mal-do-panamá em bananeira-maçã por inoculação de fungo micorrízico arbuscular. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 42, n. 1, p. 35-41, 2007.
- BOVI, M. L. A.; GODOY JR, G.; SAES, L. A. Pesquisas com os gêneros *Euterpe* e *Bactris* no Instituto Agrônomo de Campinas. **Agrônomo**, Campinas, v. 39, n. 2, p. 129-174, 1987.
- Cerro Azul**. Disponível em:<[http://pt.wikipedia.org/wiki/cerro azul](http://pt.wikipedia.org/wiki/cerro_azul)>. Acesso em: 19/05/2008.
- CLOUSE, S. D.; SASSE, J. Brassinosteroids: essential regulators of plant growth and development. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v. 49, p. 427-451, 1998.
- COSTA, M. D.; LOVATO, P. E. Fosfatases na dinâmica do fósforo do solo sob culturas de cobertura com espécies micorrízicas e nao-micorrízicas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 39, n. 6, p. 603-605, 2004.
- GROVE, M. D.; SPENCER, G. F.; ROHWEDDER, W. K.; MANDAVA, N.; WORLEY, J. F.; WARTHEN JR, J. D.; STEFFENS, G. L.; FLIPPEN-ANDERSON J. L.; COOK JR, C. J. Brassinolide, a plant growth-promoting steroid isolated from Brassica napus pollen. **Nature**, London, v. 281, p. 216-217, 1979.
- HIANE, P. A. RAMOS FILHO, M. M.; RAMOS, M. I. L.; MACEDO, M. L. Óleo da polpa e

amêndoa de bocaiuva, *Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd. Caracterização e composição em ácido graxos. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 8, n. 3, p. 256-259, jul./set. 2005.

**IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Censo Demográfico 2010.** Disponível em: < <http://www.ibge.gov.br/cidadesat/topwindow.htm?1> >. Acesso em: 10/03/2011.

KRISHNA, P. Brassinosteroid-mediated stress responses. **Journal Plant Growth Regulation**, Heidelberg v. 22, n. 4, p. 289-297, 2003.

LORENZI, G. M. A. C. *Acrocomia aculeata* (Lodd. ) ex Mart. – **Arecaceae: bases para o extrativismo sustentável.** 172f. Tese (Doutorado em Agronomia) Universidade Federal do Paraná. Curitiba: 2006.

MAZORRA, L. M.; NÚÑEZ, M. Estado actual sobre el conocimiento de la biosíntesis y los mecanismos moleculares de acción de los brassinosteroids em las plantas. **Cultivos Tropicales**, Cuba, v. 29, n. 1, p. 91-105, 2008.

MIRANDA, J. C. C; MIRANDA, L. N. Produção de Mudas Inoculadas com fungos micorrízicos arbusculares em viveiros. Planaltina, DF: EMBRAPA- CPAC, 2001. 2p. (EMBRAPA- CPAC. **Comunicado Técnico**, 24).

MOLINA, M. L.; MAHECHA, L; MEDINA, M. Importancia del manejo de hongos micorrizógenos em el establecimiento de árboles em sistemas silvopastoriles. **Revista Colombiana de. Ciencias Pecuarias**, Robledo, v. 18, n. 2, p. 162-175, 2005.

MOTOIKE, S. Y.; LOPES, F. A.; SÁ JÚNIOR, A. Q. de; CARVALHO, M.; OLIVEIRA, M. A. R. de. **Processo de Germinação e Produção de Sementes Pré-Germinadas de Palmeiras do Gênero *Acrocomia*.** PI0703180-7 A2, 20 jul. 2007, 10 mar. 2009.

MOTTA, P. E. F.; CURI, N.; OLIVEIRA-FILHO, A. T. de.; GOMES, J. B. V. Ocorrência de macaúba em Minas Gerais, Brasil: relação com atributos climáticos, pedológicos e vegetacionais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. Brasília, v. 37, n. 7, p. 1023-1031, 2002.

MOURA, E. F. **Embriogênese somática em macaúba: indução, regeneração e caracterização anatômica.** Minas Gerais. 66f. Tese Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento- Universidade Federal de Viçosa. 2007.

MÜSSIG, C.; SHIN, G. H.; ALTMANN, T. Brassinosteroids promote root growth in Arabidopsis. **Plant Physiology**, Washington, v. 133, n. 3, p. 1261-1271, 2003.

NUCCI, S. M. **Desenvolvimento, caracterização e análise da utilidade de marcadores microssatélites em genética de população de macaúba.** 84f. Dissertação (Mestrado em Genética, Melhoramento Vegetal e Biotecnologia) – Curso de Pós- Graduação em Agricultura

Tropical e Subtropical – Instituto Agronômico de Campinas – IAC, Campinas. 2007.

NÚÑEZ, M.; MAZORRA, L. M.; MARTÍNEZ, L.; GONZÁLEZ, M. C.; ROBAINA, C. Influencia de la 24-epibrasinólida y un análogo espirostánico de brasinoesteroides en el crecimiento de plántulas de dos variedades de arroz (*Oryza sativa* L.) en medio salino. **Cultivos Tropicales**, Cuba, v. 27, n. 1, p. 75-82. 2006.

NÚÑEZ, M. Aplicaciones prácticas de los brasinoesteroides y sus análogos en la agricultura. **Cultivos Tropicales**. Cuba, v. 29, n. 1, p. 91-105, 1999.

PERACI, A. S. **CONSTRUINDO NOVOS CAMINHOS –Sistematização da Experiência de Nutrição Humana e Micro Financiamento Rural dos Agricultores e Agricultoras Familiares do Vale do Ribeira – Brasil**. 38f. Departamento de Estudos Sócio-econômicos Rurais. Curitiba, 2002. Disponível em: <<http://www.deser.org.br>>. Acesso em: 09/12/2008.

RUIZ, P. O. El rol de las micorrizas en pijuayo (*Bactris gasiapes* Kunth.). In: IV Congreso internacional sobre biología, agronomía e industrialización del pijuayo. Iquitos, 1993. **Anais...** Editorial de la Universidad de Costa Rica, San José. Costa Rica. p: 127-134, 1993.

SIMEPAR – Tecnologia e Informações Ambientais. Disponível em: <<http://www.simepar.br/>>. Acesso: 02/06/09.

SILVA, F. de A. S. e. **ASSISTAT** versão 7.6 beta - Assistência Estatística, Departamento de Engenharia Agrícola do CTRN - Universidade Federal de Campina Grande, Campus de Campina Grande-PB. Disponível em: <<http://www.assistat.com>>. Acesso em: 20/02/2011.

SILVA, J. C. **Bocaiuva: fonte de matéria-prima para os setores alimentício, energético e industrial**, 41f. (Trabalho de conclusão da disciplina Cultivo de essências exóticas e nativas). Departamento de Engenharia Florestal - Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, 1994.

TAIZ L; ZEIGER E. **Fisiologia Vegetal**; 3 ed- Porto alegre: Artmed, 2004. 720p.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

O Brasil apresenta vantagens em relação aos demais países na produção de biocombustíveis, pois possui terras agricultáveis disponíveis, recursos hídricos e clima favorável para o cultivo de várias espécies oleaginosas (dendê, bocaiuva, amendoim, canola, girassol, soja, mamona, pinhão manso, dentre outras).

A *Acrocomia aculeata* (bocaiuva) apresenta potencial econômico reconhecido, porém, as populações existentes consistem de povoamentos nativos, explorados de forma extrativista, motivo pelo qual há poucas informações sobre os aspectos técnicos de cultivo. Em vista disso, várias instituições de ensino e pesquisa estão explorando, nas mais diversas áreas do conhecimento, essa espécie, prova disso são os inúmeros trabalhos publicados, com ênfase no mercado mundial de biocombustível.

Esta espécie apresenta vantagens sobre outras oleaginosas potenciais na produção de biocombustível no Brasil, como exemplo a soja e o dendê, devido à rusticidade e a conseqüente baixa necessidade hídrica. Além disso, a bocaiuva pode ser utilizada em consórcio com outras oleaginosas, espécies perenes ou anuais, em áreas com acentuado declive, sem comprometer o crescimento da planta consorciada o que representa uma vantagem para os produtores que detêm pouca terra, sendo apropriada para a agricultura familiar.

Dada às potencialidades desta espécie, estudos sobre a germinação e crescimento das plantas são importantes para viabilizar o estabelecimento de cultivos comerciais e assim contribuir para a disseminação de uma importante alternativa sustentável para produção de alimentos e biocombustíveis.

Com base nos resultados obtidos neste trabalho pode-se inferir que a aplicação de um análogo de brassinosteróide em meio de cultivo favoreceu a formação de plântulas normais embora não tenha influenciado no aumento na taxa de germinação dos embriões zigóticos. Já em relação ao crescimento de mudas, em fase de aclimatização e também no campo, os efeitos observados após a aplicação de rizobactéria promotora do crescimento vegetal, inoculante micorrízico e análogo de brassinosteróide demonstraram resposta positiva sobre o crescimento radicular das plantas o que pode ser considerado um efeito promissor para o cultivo da bocaiuva.

Logo, sugere-se a continuação dos trabalhos efetuados a fim de esclarecer lacunas existentes sobre o crescimento e desenvolvimento da bocaiuva em diferentes locais e

condições edafoclimáticas. Além disso, deve-se fazer a avaliação da variabilidade genética entre as populações nativas, utilizando o melhoramento genético como uma ferramenta de estudo, para auxiliar o processo de cultivo deste recurso natural.

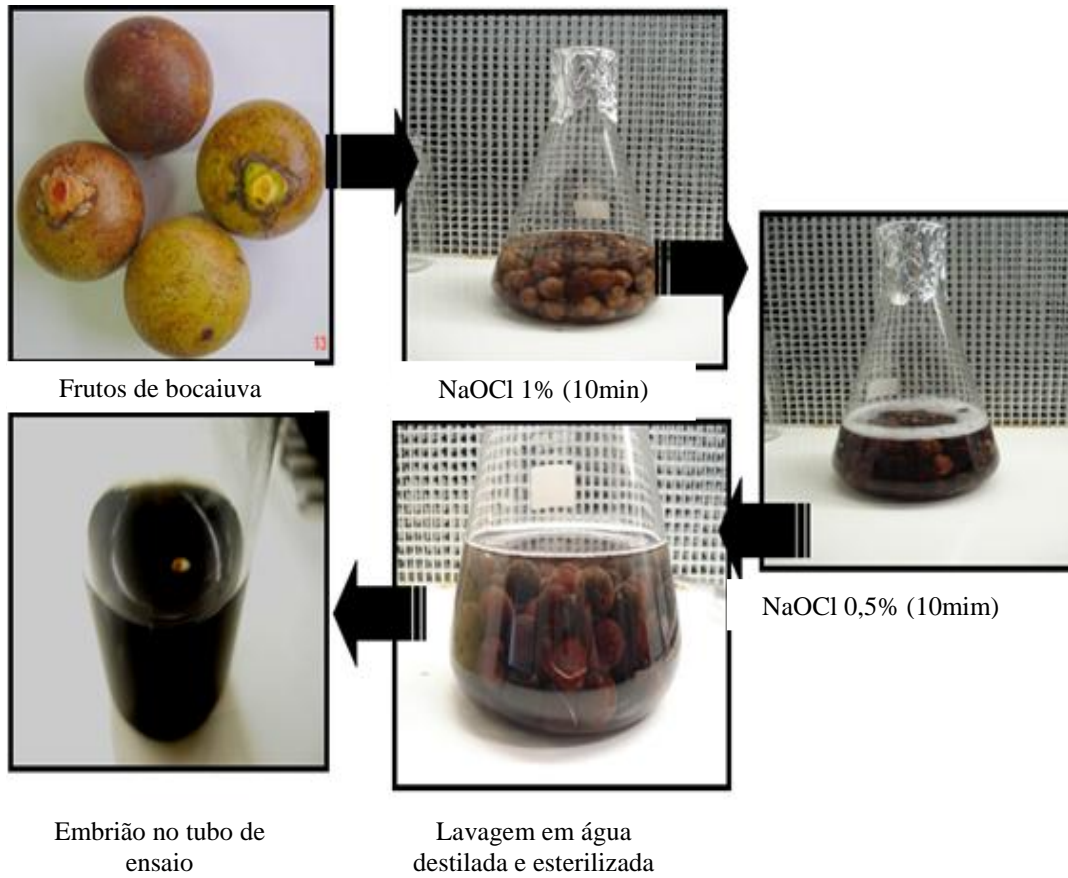
Como perspectiva futura, observa-se que a utilização de microorganismos e reguladores vegetais é uma potencialidade em um número cada vez maior de plantas. Acredita-se que o presente trabalho possa contribuir para a exploração sustentável da bocaiuva dada sua importância econômica e social.



## APÊNDICE

|   |     |
|---|-----|
| Apêndice 1: Desinfestação das sementes de <i>Acrocomia aculeata</i> . Curitiba - PR.....  | 96  |
| Apêndice 2: Cultivo de embriões zigóticos de <i>Acrocomia aculeata</i> . Curitiba – PR.....   | 96  |
| Apêndice 3: Aclimatização de plântulas de <i>A. aculeata</i> em caixas plásticas transparentes (a), caixa transparente vedada (b), caixa transparente aberta contendo mudas de bocaiuva em embalagens pequenas (c) e mudas de bocaiuva após 30 dias em casa-de-vegetação (d).....   | 97  |
| Apêndice 4: Sementes pré germinadas de <i>Acrocomia aculeata</i> envolta a isopor e em saco plástico para transporte (a), semeadura em tubetes contendo vermiculita (b), plantas após 30 dias do transplante (c), embalagens contendo solo para transplante (d), plantas com 60 dias após o transplante (e) e plantas com 120 dias após o transplante (f) em casa-de-vegetação no Jardim Botânico de Curitiba. Curitiba – Paraná..... | 98  |
| Apêndice 5: Vista geral do local onde está localizado o viveiro rústico para alocação das mudas de <i>Acrocomia aculeata</i> (a) e disposição das mudas no viveiro (b) na propriedade rural em Cerro Azul – Paraná.....   | 99  |
| Apêndice 6: Área experimental com cultivo de citrus consorciado com bocaiuva (a) e detalhe da planta de bocaiuva em campo (b) no município de Cerro Azul – PR. ....   | 100 |
| Apêndice 7: Análise destrutiva de plantas de <i>A. aculeata</i> no momento do transplante (a), 4 meses (b), 8 meses (c) e 12 meses (d) após o transplante). Cerro Azul – PR. ....   | 100 |
| Apêndice 8: Artigo publicado na Revista Ciência Rural, Santa Maria, v.42, n.2, p.270-275, fev, 2012.....  | 101 |

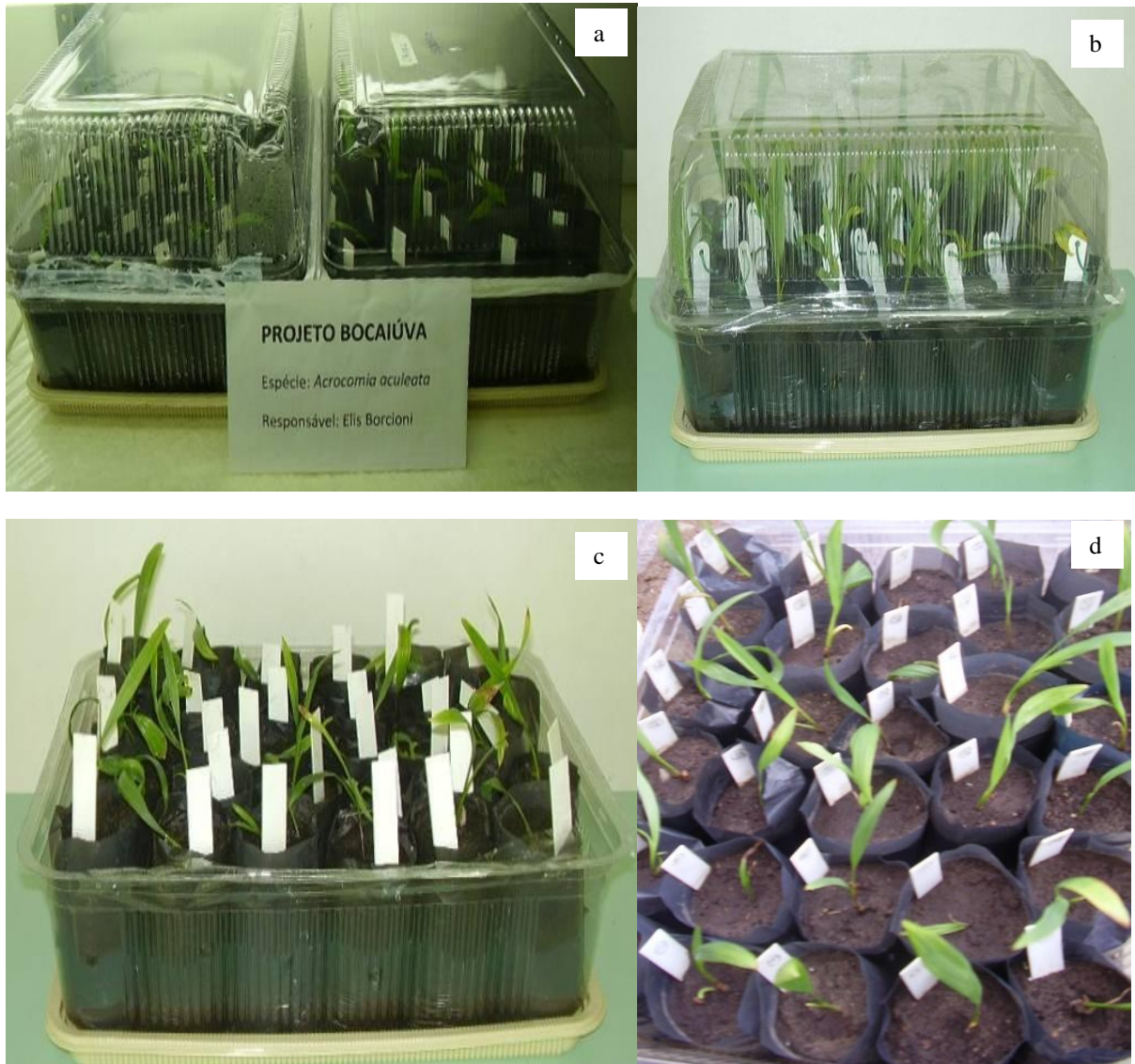
Apêndice 1: Desinfestação das sementes de *Acrocomia aculeata*. Curitiba - PR.



Apêndice 2: Cultivo de embriões zigóticos de *Acrocomia aculeata*. Curitiba – PR.



Apêndice 3: Aclimatização de plântulas de *A. aculeata* em caixas plásticas transparentes (a), caixa transparente vedada (b), caixa transparente aberta contendo mudas de bocaiuva em embalagens pequenas (c) e mudas de bocaiuva após 30 dias em casa-de-vegetação (d).





Apêndice 4: Sementes pré germinadas de *Acrocomia aculeata* envolta a isopor e em saco plástico para transporte (a), semeadura em tubetes contendo vermiculita (b), plantas após 30 dias do transplante (c), embalagens contendo solo para transplante (d), plantas com 60 dias após o transplante (e) e plantas com 120 dias após o transplante (f) em casa-de-vegetação no Jardim Botânico de Curitiba. Curitiba – Paraná.





Apêndice 5: Vista geral do local onde está localizado o viveiro rústico para alocação das mudas de *Acrocomia aculeata* (a) e disposição das mudas no viveiro (b) na propriedade rural em Cerro Azul – Paraná.

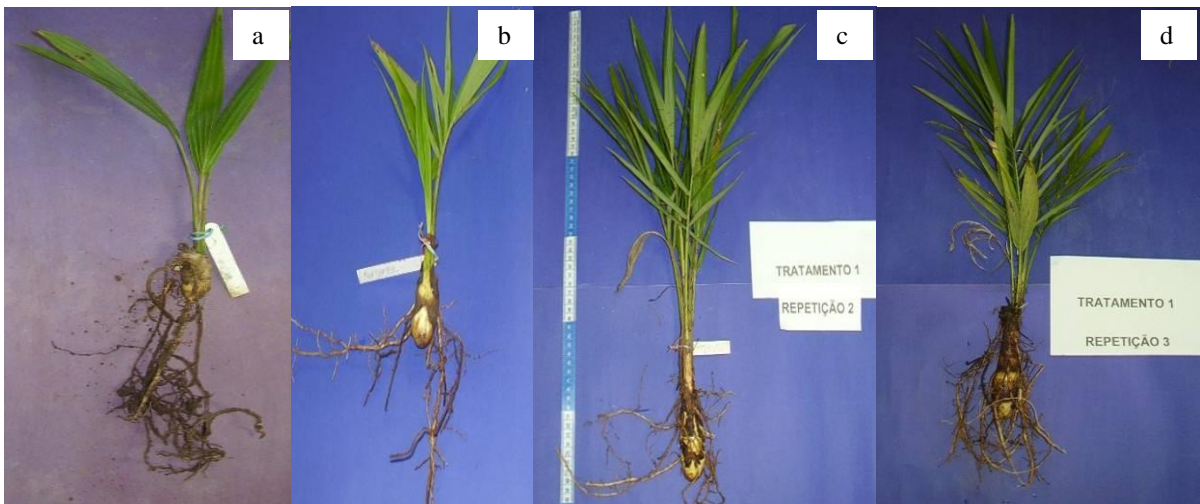




Apêndice 6: Área experimental com cultivo de citrus consorciado com bocaiuva (a) e detalhe da planta de bocaiuva em campo (b) no município de Cerro Azul – PR.



Apêndice 7: Análise destrutiva de plantas de *A. aculeata* no momento do transplante (a), 4 meses (b), 8 meses (c) e 12 meses (d) após o transplante). Cerro Azul – PR.



Apêndice 8: Artigo publicado na Revista Ciência Rural, Santa Maria, v.42, n.2, p.270-275, fev, 2012.

Ciência Rural, Santa Maria, v.42, n.2, p.270-275, fev, 2012

ISSN 0103-8478

## Aplicação de análogo de brassinosteróide (Biobras 16®) sobre a germinação e crescimento *in vitro* de embriões zigóticos e aclimatização de plântulas de bociuíva

Application of analogue brassinosteróide (Biobras 16®) germination and growth *in vitro* culture of zygotic embryos and acclimatization of bociuíva

Elis Borcioni<sup>I\*</sup> Raquel Rejane Bonato Negrelle<sup>II</sup>

### RESUMO

Apresentam-se resultados de pesquisa experimental que avaliou o crescimento *in vitro* de embriões zigóticos e aclimatização de plântulas de bociuíva (*Acrocomia aculeata*) cultivadas em diferentes concentrações (0,0; 0,001; 0,005; 0,01; 0,05; 0,1; 0,5 e 1mg L<sup>-1</sup>) de análogo de brassinosteróide (Biobras 16®). O trabalho buscou verificar se a aplicação de Biobras 16® influencia positivamente na taxa de germinação dos embriões zigóticos de *Acrocomia aculeata* e se promove o crescimento e desenvolvimento das plântulas e, conseqüentemente, afeta o número de plântulas normais. A aplicação de Biobras 16® não promoveu acréscimo no percentual de germinação, porém, estimulou a formação de plântulas normais. O efeito positivo de Biobras 16® foi observado apenas na primeira fase, não sendo observado nas demais fases de crescimento avaliadas.

**Palavras-chave:** *Acrocomia aculeata*, arecaceae, cultivo de embriões zigóticos, germinação, regulador vegetal.

### ABSTRACT

The results of an experimental research evaluating the *in vitro* growth of zygotic embryos and acclimatization of bociuíva (*Acrocomia aculeata*) grown under different concentrations (0.00, 0.001, 0.005, 0.01, 0.05, 0.1, 0.5 and 1mg. L<sup>-1</sup>) of a brassinosteroid analogue (Biobras 16®) are presented. The objective was to determine whether the application of 16 Biobras ® positively affects the germination of zygotic embryos of *Acrocomia aculeata* and promotes the growth and development of seedlings and thereby affects the number of normal seedlings. The application of Biobras 16® did not promote an increase in the percentage of germination but stimulated the formation of normal seedlings. The positive

effect of Biobras 16® was observed only in the first phase, not observed in other growth stages evaluated.

**Key words:** *Acrocomia aculeata*, arecaceae, zygotic embryos cultivation, germination, growth regulator.

### INTRODUÇÃO

A palmeira bociuíva [*Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd. ex. Martius] tem despertado interesse devido às suas potencialidades como oleaginosa, podendo ultrapassar quatro mil litros de óleo por hectare (NUCCI, 2007), além de ser resistente à seca (HIANE et al., 2005; TEIXEIRA, 2005). Porém, a propagação via sementes é limitada devido à ocorrência de dormência física, causada pela impermeabilidade dos tecidos da semente ou do fruto (TEIXEIRA, 2005; BANDEIRA, 2008) que, pelo elevado teor de óleo (HIANE et al., 2005), são também susceptíveis a deterioração (MARCOS FILHO, 2005), retardando, dessa forma, a germinação e produção de mudas.

Em vista disso, uma das potenciais soluções seria o cultivo de embriões zigóticos *in vitro*. Essa técnica consiste no isolamento e cultivo asséptico de embriões em meio de cultura visando a superar a dormência de sementes e ou viabilizar para que os embriões sejam utilizados como fonte de explantes (HU & FERREIRA, 1998). Resultados satisfatórios utilizando essa técnica têm sido reportados em

<sup>I</sup>Programa de Pós-graduação em Agronomia, Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo, Universidade Federal do Paraná (UFPR), 80035-050, Curitiba, PR, Brasil. E-mail: borcioni@yahoo.com.br. \*Autor para correspondência.

<sup>II</sup>Departamento de Botânica, UFPR, Curitiba, PR, Brasil.



trabalhos com palmeiras (PEREIRA et al., 2006; STEINMACHER et al., 2007; LEDO et al., 2007; BANDEIRA, 2008; SOARES et al., 2011).

Com relação à bocaiuva, diversas pesquisas já demonstraram a viabilidade do cultivo *in vitro*. SITTOLIN & CUNHA (1987) utilizaram esta técnica para produção de mudas de bocaiuva visando à implantação de um banco de germoplasma, com o propósito de possibilitar o acompanhamento e avaliação do potencial da cultura para produção do óleo. TABAI et al. (1990) utilizaram a cultura de embriões zigóticos para reduzir o tempo de germinação das sementes dessa mesma espécie. BANDEIRA (2008) observou que os embriões de bocaiuva germinaram com facilidade quando isolados da semente e cultivados *in vitro*, existindo a possibilidade de a dormência estar associada à presença de substâncias inibidoras na semente ou a outros fatores. Porém, RIBEIRO et al. (2010) observaram que essas substâncias inibidoras das estruturas adjacentes ao embrião não influenciam na germinação *in vitro* de bocaiuva. Em relação à composição do meio de cultura, SOARES et al. (2011) obtiveram a maior porcentagem de germinação de embriões, aos 60 dias, em meio MS (MURASHIGE & SKOOG, 1962), na composição e concentração original, sem utilização de regulador vegetal.

Adicionalmente, a produção de mudas por esta via pode ser otimizada a partir da utilização de reguladores vegetais LEDO et al. (2007), entretanto, pouco se sabe sobre o uso dessas substâncias no desenvolvimento de plantas de bocaiuva cultivadas *in vitro*. Nesse contexto, salienta-se o uso de brassinosteróides que produzem efeitos morfológicos e fisiológicos no desenvolvimento vegetal, sendo conhecidos como uma nova classe de hormônios vegetais TAIZ & ZEIGER, (2008). São ativos em pequenas concentrações, apresentam baixa toxicidade, quando utilizados nas concentrações recomendadas, estimulam e ou inibem o crescimento radicular (MÜSSIG et al. (2003); BAO et al. (2004) e MAZORRA & NUÑEZ (2008)), promovem a divisão e alongamento celular (GROVE et al. (1979) e CLOUSE & SASSE (1998)), podendo interagir com outros hormônios ou agir de forma similar a estes. Além disso, proporcionam o aumento no rendimento e produção de biomassa, aceleram o processo de maturação das plantas (MAZORRA & NUÑEZ (2008)), aumentam o percentual de germinação de sementes, florescimento, retardamento da abscisão de folhas (RAO et al., 2002), aumentam a resistência ao ataque de pragas e doenças, bem como aumentam a tolerância das plantas aos estresses abióticos (KRISHNA, 2003; NUÑEZ et al., 2006). A presença de brassinosteróides é ampla no reino

vegetal e, desde sua identificação, estudos têm verificado a possibilidade de uso em cultivos agrícolas (MANDAVA et al., 1988) e compostos análogos têm sido sintetizados para uso comercial (CORTES et al., 2003).

Dentre os vários análogos de brassinosteróides que vem sendo avaliados quanto à sua eficácia na promoção do crescimento vegetal, inclui-se o Biobras 16®, uma formulação comercial cuja substância ativa é um análogo de brassinosteróide espirostanol polihidroxilado de fórmula  $C_{27}H_{42}O_5$ . Esse produto pode ser aplicado via aspersão ou adicionado ao meio de cultura (COLL et al., 1995).

Como os resultados com a aplicação de brassinosteróides e seus respectivos análogos, especificamente Biobras 16®, não são homogêneos para todas as espécies testadas, são utilizados de maneira diferenciada tanto em estudos de germinação, enraizamento de estacas, embriogênese somática. Especificamente, visou-se avaliar diferentes concentrações de Biobras 16® na germinação dos embriões zigóticos de bocaiuva e na promoção do crescimento e desenvolvimento de plântulas normais.

## MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi conduzida no Laboratório de Micropropagação de Plantas do Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo, Setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná (UFPR), Curitiba, Paraná, Brasil.

Embriões zigóticos obtidos de frutos maduros de bocaiuva foram utilizados como fonte de explantes. Os frutos foram coletados em uma população natural, existente na Fazenda Campanário, no município de Bodoquena, Mato Grosso do Sul, Brasil, com as seguintes coordenadas: 20°22'30" S, 56°32'31" W e 180m de altitude.

Os frutos foram processados, removendo-se manualmente o epicarpo. Mecanicamente, por meio de martelo, procedeu-se à quebra do endocarpo para obtenção da amêndoa e, posterior, retirada do embrião. As amêndoas foram desinfestadas em solução de hipoclorito de sódio laboratorial (10 a 12%) na concentração de 1% por 15 minutos, dentro da câmara de fluxo laminar, em constante agitação. Após, foram realizadas três lavagens com água deionizada e autoclavada e, em seguida, com o auxílio de pinças e bisturis, foram retirados os embriões zigóticos.

Antes de serem transferidos para o meio de cultivo, os embriões permaneceram embebidos em água deionizada e autoclavada até que os embriões fossem extraídos de todas as amêndoas. Posteriormente, foram



imersos em hipoclorito de sódio laboratorial na concentração de 0,5% acrescido de 0,1ml do surfactante Tween 20® durante 10 minutos e, a seguir, foram lavados em água deionizada e autoclavada.

Em câmara de fluxo laminar, os embriões zigóticos foram inoculados individualmente em tubos de ensaio (25x150mm) contendo 20ml de meio de cultura. Estes foram acondicionados em sala de crescimento, em ausência de luz e em temperatura de 25±2°C, nos primeiros 30 dias. Posteriormente, as plântulas foram cultivadas com fotoperíodo de 16 horas a 25±2°C, permanecendo nessas condições até o término do experimento.

O meio de cultivo utilizado foi WPM – Wood Plant Medium (LLOYD & MCCOWN, 1980), suplementado com 30g L<sup>-1</sup> de sacarose, 1g L<sup>-1</sup> de carvão ativado, 6g L<sup>-1</sup> de ágar e diferentes combinações de Biobras 16®, produto gentilmente fornecido pelo Instituto Nacional de Ciências Agrícolas (INCA), localizado em San Jose de la Lajas, La Habana, Cuba. O pH do meio foi ajustado para 5,8, sendo posteriormente autoclavado (120°C, a 1,2atm de pressão, por 20 minutos).

Os tratamentos consistiram da adição de Biobras 16® em diferentes concentrações (0; 0,001; 0,005; 0,01; 0,05; 0,1; 0,5 e 1mg L<sup>-1</sup>) adicionados ao meio de cultivo. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado com quatro repetições de 20 tubos cada tratamento.

Após 90 dias de cultivo, as plantas que apresentaram crescimento de parte aérea e raiz passaram para a fase de pré-aclimatização. As plantas foram retiradas do tubo de ensaio, lavadas em água e transplantadas para sacos plásticos (5cmx10cm) contendo substrato na proporção 1:1 (solo + areia), acondicionadas em bandejas transparentes sendo cobertas com outra idêntica selada com fita, para evitar a desidratação excessiva das plantas. A irrigação foi realizada uma vez por semana, adicionando-se 10ml de água em cada planta. Estas permaneceram em sala de crescimento, nestas condições, durante seis semanas, quando então foram transferidas para casa de vegetação.

Na fase de aclimatização em casa de vegetação, a abertura das bandejas foi sendo realizada gradativamente, sendo retirada após duas semanas. Passadas mais duas semanas, as plantas foram transferidas para sacos plásticos (18cmx30cm), contendo solo + areia+ húmus na proporção de (2:1:1), sendo a irrigação realizada uma vez por semana.

As observações foram feitas semanalmente e as variáveis analisadas durante o período experimental foram: porcentagem de germinação, sendo

considerados germinados os embriões que emitiram parte aérea e ou raiz e porcentagem de plântulas normais, ou seja, aquelas que apresentaram expansão foliar e, esporadicamente, desenvolvimento de raízes secundárias durante o período em que as plântulas estavam *in vitro*. Avaliou-se também o comprimento médio das folhas e raízes, altura, número de folhas e de raízes na fase de pré-aclimatização em caixas plásticas (90 dias após a inoculação) e aclimatização em casa de vegetação (150 dias após a inoculação). A análise estatística foi feita por meio do programa ASSISTAT, versão 7.6 beta (SILVA, 2011). Os resultados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey quando significativas.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nos primeiros sete dias após a inoculação, observou-se o intumescimento dos embriões, indicando o início do processo germinativo. Aos 21 dias após o início do cultivo, aproximadamente 70% dos embriões, em todos os tratamentos, estavam germinados, sendo que, aos 35 dias, final do processo germinativo de embriões zigóticos de bocaiuva obteve-se uma taxa de germinação de 80%. Foram observados altos índices de germinação dos embriões zigóticos (70-87%), conforme a tabela 1.

Entretanto, no que se refere à melhora na eficácia da germinação, para a espécie estudada, não foi possível detectar efeito significativo da aplicação de diferentes concentrações de Biobras 16®. Esses resultados podem ser um indicativo de resposta padrão para a família Arecaceae, dado que outras pesquisas

Tabela 1 - Porcentagem de germinação (G%) e de formação de plântulas normais de bocaiuva cultivadas em meio básico WPM, quando tratadas com diferentes concentrações de Biobras 16®.

| Concentração (mg L <sup>-1</sup> ) | G (%) <sup>ns</sup> | Plântulas normais (%) <sup>*</sup> |
|------------------------------------|---------------------|------------------------------------|
| 0,0                                | 75,60               | 31,20b                             |
| 0,001                              | 87,5                | 26,00c                             |
| 0,005                              | 70,00               | 18,00c                             |
| 0,01                               | 81,87               | 25,8c                              |
| 0,05                               | 83,10               | 37,5b                              |
| 0,1                                | 70,60               | 36,6b                              |
| 0,5                                | 80,00               | 53,10a                             |
| 1,0                                | 81,25               | 36,9b                              |
| CV(%)                              | 13,70               | 17,20                              |

\*As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. ns: não significativo.

também relatam a ineficiência do uso de reguladores vegetais sobre o processo germinativo (COSTA & ALOUFA, 2007; BANDEIRA, 2008). Esta resposta na qual a não aplicação do brassinosteróide apresenta resultado mais satisfatório poderia ser devido à utilização de embriões zigóticos em estágio maduro ou próximo a este, que, neste caso, podem germinar e crescer num meio orgânico, sendo dispensável a aplicação de reguladores de vegetais (HU & FERREIRA, 1998). Nesse sentido, é interessante destacar que o estágio fisiológico dos frutos (imaturos ou maduros) pode influenciar na germinação de palmeiras, como relatado em trabalho com *Astrocaryum* spp. (PEREIRA et al., 2006). Além disso, embriões de muitas espécies utilizam as reservas do próprio embrião para promover a germinação *in vitro* (GARCÍA et al., 2002).

Para a variável porcentagem de plântulas normais, observou-se influencia das distintas concentrações do análogo de brassinosteróide, sendo que os valores de todos os tratamentos oscilaram entre 18 e 53%. O tratamento em que se aplicou 0,5mg L<sup>-1</sup> de Biobras 16® apresentou o melhor resultado (Tabela 1).

No que concerne à fase de pré-aclimatização, observaram-se diferenças significativas para algumas das variáveis analisadas de forma isolada. Dentre estas, em relação ao comprimento médio das folhas, pode-se inferir que a adição de brassinosteróide nas concentrações de 0,001 e 0,005mg L<sup>-1</sup> inibiu o crescimento das folhas, pois os valores nessas concentrações são estatisticamente inferiores ao controle (Tabela 2). O tratamento sem adição do brassinosteróide (controle) obteve resultado estatisticamente igual ao obtido nas concentrações 1,0 e 0,05mg L<sup>-1</sup>. Ressalta-se, neste caso, o fato de os embriões zigóticos serem provenientes de uma

população natural de bocaiuva que normalmente apresentam alta diversidade genética entre os indivíduos.

As variáveis número de folhas e raízes e altura das plântulas não apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos aplicados (Tabela 2). No que se refere ao comprimento radicular, verifica-se que, nas concentrações 0,001 e 0,005mg L<sup>-1</sup>, foram obtidos os valores mais baixos, podendo inferir que o Biobras 16® não estimulou o crescimento radicular das plântulas de bocaiuva. Os brassinosteróides, de maneira geral, podem estimular e ou inibir o crescimento radicular, fato reportado por MÜSSIG et al., 2003; BAO et al., 2004; MAZORRA & NÚÑEZ, 2008. De modo geral, a concentração de 1,0mg L<sup>-1</sup> de Biobras 16® apresentou efeito positivo sobre maior número de variáveis associadas a fase de pré-aclimatização.

Na fase de aclimatização em casa de vegetação, detectou-se diferença significativa apenas para o comprimento médio das folhas, sendo que a concentração de 0,1mg L<sup>-1</sup> foi superior aos demais tratamentos avaliados, porém não diferiu do controle (Tabela 3).

Vários mecanismos de ação têm sido sugeridos para explicar a promoção do crescimento de plantas mediado por análogos de brassinosteróides. No entanto, mesmo diante de todas essas possibilidades, o estudo dessas substâncias, especialmente em palmeiras, ainda são escassos, ou seja, há um longo caminho a percorrer antes de entender o real impacto destes compostos sobre a dinâmica de crescimento e desenvolvimento dessas espécies. Entretanto, os resultados obtidos reforçam a possibilidade do emprego de brassinosteróides no início do processo germinativo, tendo em vista que a influencia positiva da aplicação do análogo de

Tabela 2 - Comprimento médio das folhas (CF), número médio de folhas (NF), altura (H), número de raízes (NR) e comprimento de raízes (CR) de plântulas obtidas da germinação *in vitro* de embriões zigóticos de bocaiuva (aos 90 dias após a inoculação) na fase de pré-aclimatização em caixas plásticas, quando cultivadas em meio WPM e tratadas com diferentes concentrações de Biobras 16®.

| Concentração (mg L <sup>-1</sup> ) | CF (cm)* | NF <sup>ns</sup> | H (cm)* | NR <sup>ns</sup> | CR (cm)* |
|------------------------------------|----------|------------------|---------|------------------|----------|
| 0,0                                | 3,95a    | 1,56             | 5,52ab  | 1,08             | 5,67bc   |
| 0,001                              | 2,43b    | 1,32             | 2,90c   | 1,0              | 4,49c    |
| 0,005                              | 2,35b    | 1,62             | 3,56bc  | 1,03             | 3,98c    |
| 0,01                               | 3,27ab   | 1,42             | 4,40abc | 1,13             | 6,59abc  |
| 0,05                               | 4,07 a   | 1,90             | 6,38 a  | 1,00             | 7,22abc  |
| 0,1                                | 3,70ab   | 1,72             | 5,83 a  | 1,09             | 6,38abc  |
| 0,5                                | 3,55ab   | 1,87             | 5,66 a  | 1,00             | 9,87ab   |
| 1,0                                | 4,55 a   | 1,47             | 5,82 a  | 1,05             | 10,61a   |
| CV(%)                              | 17,6     | 16,2             | 17,5    | 7,93             | 30,1     |

\*As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. ns: não significativo.

Tabela 3 - Comprimento médio das folhas (CF), número médio de folhas (NF), altura (H), número de raízes (NR), comprimento de raízes (CR) de plântulas obtidas da germinação *in vitro* de embriões zigóticos de bocaiuva (150 dias após a inoculação) na fase de aclimatização em casa de vegetação, quando cultivadas em meio WPM e tratadas com diferentes concentrações de Biobras 16®.

| Concentração (mg L <sup>-1</sup> ) | CF (cm)* | NF <sup>ns</sup> | H (cm) <sup>ns</sup> | NR <sup>ns</sup> | CR (cm) <sup>ns</sup> |
|------------------------------------|----------|------------------|----------------------|------------------|-----------------------|
| 0,0                                | 7,40ab   | 2,47             | 10,93                | 2,22             | 7,52                  |
| 0,001                              | 6,08b    | 1,95             | 8,43                 | 2,45             | 4,95                  |
| 0,005                              | 5,26b    | 2,10             | 8,80                 | 1,80             | 4,94                  |
| 0,01                               | 6,83ab   | 2,13             | 9,34                 | 2,03             | 5,52                  |
| 0,05                               | 7,16ab   | 2,52             | 11,87                | 2,08             | 7,27                  |
| 0,1                                | 8,60 a   | 2,15             | 11,48                | 2,24             | 5,55                  |
| 0,5                                | 5,53b    | 2,62             | 10,75                | 2,62             | 5,28                  |
| 1,0                                | 7,00ab   | 2,52             | 12,20                | 2,41             | 7,21                  |
| CV(%)                              | 15,84    | 17,6             | 18,6                 | 31,3             | 30,75                 |

\*As médias seguidas pela mesma letra não diferem estaticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. ns: não significativo.

brassinosteróide não foi observada nas fases posteriores. Nessa perspectiva, sugere-se testar outras concentrações do análogo brassinosteróide e realizar outras aplicações ao longo do cultivo para verificar a influência desse regulador no crescimento das plantas de bocaiuva, uma palmeira com expressiva importância ecológica, econômica e social.

## CONCLUSÃO

A aplicação de análogo de brassinosteróide em meio de cultivo WPM não promoveu aumento na porcentagem de germinação dos embriões zigóticos de bocaiuva. O Biobras 16® estimulou a formação de plântulas normais, embora esse efeito não tenha sido observado nas demais fases de crescimento.

## REFERÊNCIAS

BANDEIRA, F.S. Cultivo *in vitro* e embriogênese somática de embriões zigóticos de macaúba *Acrocomia aculeata* (Jacq.) Loddiges. 2008. 92f. Tese (Doutorado em Ciência Florestal) - Curso de Pós-graduação em Ciência Florestal, Universidade Federal de Viçosa, MG.

BAO, F. et al. Brassinosteroids interact with auxin to promote lateral root development in *Arabidopsis*. *Plant Physiology*, Washington, v.134, p.1624-1631, 2004.

CLOUSE, S.D.; SASSE, J. Brassinosteroids: essential regulators of plant growth and development. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, Palo Alto, v.49, p.427-451, 1998.

COLL, M.T. et al. Polyhydroxyspirostanones as plant growth regulators: PCT Int. Appl. Co 7571/100, AOIN 45/00WO 97/13780, 1995. 780p.

COSTA, N.M.de S; ALOUFA, M.A.I. Desenvolvimento *in vitro* de embriões zigóticos de tamareira. *Revista Ciência Agronômica*, Fortaleza-Ceará, v.38, n.3, p.276-279, 2007.

CORTES, P.A. et al. Brassinosteroid effects on the precocity and yield of cladodes of cactus pear (*Opuntia ficus-indica* (L) Mill.). *Scientia Horticulturae*, Amsterdam, v.97, v. 1, p.65-73, 2003. Disponível em: <www.elsevier.com/locate/scihorti>. Acesso em: 14 abr. 2011. doi: 10.1016/S0304-4238(02)00080-8.

GARCÍA, J.L. et al. Influence of carbon source and concentration on the *in vitro* development of olive zygotic embryos and explants raised from them. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, Dordrecht, v.69, p.95-100, 2002.

GROVE, M.D. et al. Brassinolide, a plant growth-promoting steroid isolated from *Brassica napus* pollen. *Nature*, London, v.281, p.216-217, 1979.

HIANE, P.A. et al. Bocaiúva, *Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd., pulp and kernel oils: characterization and fatty acid composition. *Brazilian Journal of Food Technology*, Campinas, v.8, n.3, p.256-259, 2005.

HU, C.Y.; FERREIRA, A.G. Cultura de embriões. In: TORRES, A.C. et al. (Eds.). *Cultura de tecidos e transformação genética de plantas*. Brasília: EMBRAPA-SPI; EMBRAPA - CNPH, 1998. V.1, p.371-393.

KRISHNA, P. Brassinosteroid-mediated stress responses. *Journal Plant Growth Regulation*, Heidelberg, v.22, n.4, p.289-297, 2003.

LEDO, A. da S. et al. Cultivo *in vitro* de embriões zigóticos e aclimatização de plântulas de coqueiro-anão. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v.42, n.2, p.147-154, 2007. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\_arttext&pid=S0100204X2007000200002&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: 15 abr. 2009. doi: 10.1590/S0100-204X2007000200002.

LLOYD, G.; McCOWN, B. Commercially-feasible micropropagation of mountain laurel, *Kalmia latifolia*, by use of shoot-tip culture. *Combined Proceedings International Plant Propagators Society*, Seattle, v.30, p.421- 427,1980.

MANDAVA, N.B. Plant growth-promoting brassinosteroids. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, Palo Alto, v.39, p.23-52, 1988.



- MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Piracicaba: FEALQ, 2005. 495p.
- MAZORRA, L.M.; NÚÑEZ, M. Estado actual sobre el conocimiento de la biosíntesis y los mecanismos moleculares de acción de los brasinoesteroides en las plantas. **Cultivos Tropicales**, Cuba, v.29, n.1, p.91-105, 2008.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.15, p.473-497, 1962.
- MÜSSIG, C. et al. Brassinosteroids promote root growth in Arabidopsis. **Plant Physiology**, Washington, v.133, n.3, p.1261-1271, 2003.
- NUCCI, S.M. **Desenvolvimento, caracterização e análise da utilidade de marcadores microssatélites em genética de população de macaúba**. 2007. 84f. Dissertação (Mestrado em Genética, Melhoramento Vegetal e Biotecnologia) – Curso de Pós-graduação em Agricultura Tropical e Subtropical – Instituto Agrônomo de Campinas – IAC, Campinas, SP.
- NÚÑEZ, M. et al. Influencia de la 24-epibrasinólida y un análogo espiroestanoico de brasinoesteroides en el crecimiento de plántulas de dos variedades de arroz (*Oryza sativa* L.) en medio salino. **Cultivos Tropicales**, Cuba, v.27, n.1, p.75-82, 2006.
- PEREIRA, J.E.S. et al. Germinação de embriões zigóticos de murmurú (*Astrocaryum ulei*). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.30, n.2, p.251-256, 2006. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S141370542006000200009&lng=pt&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S141370542006000200009&lng=pt&nrm=iso)>. Acesso em: 20 ago. 2009. doi: 10.1590/S1413-70542006000200009.
- RIBEIRO, L.M. et al. Estruturas da semente e germinação *in vitro* de embriões de macaúba *Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd. ex. Mart. In: FÓRUM DE ENSINO, 10.; SEMINÁRIO DE PESQUISA, 11.; SEMANA DA EXTENSÃO, 5.; SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 9.; SEMANA DE GESTÃO, 2.; ENCONTRO DA UAB, 2., 2010 Universidade Estadual de Montes Claros (Unimontes). Campus Universitário Professor Darcy Ribeiro, Montes Claros, MG. **Anais...** Montes Claros, MG, 2010. 3p.
- RAO, S.S. et al. Brassinosteroids – A new class of phytohormones. **Current Science**, Bangalore, Índia, v.82, n.10, p.1239-1245, 2002.
- SILVA, F. de A.S. e. ASSISTAT versão 7.6 beta. Grande-PB: Assistência Estatística, Departamento de Engenharia Agrícola do CTRN - Universidade Federal de Campina Grande, Campus de Campina. Disponível em: <<http://www.assistat.com>>. Acesso em: 20 fev.2011.
- SITTOLIN, I.M.; CUNHA, L.H.S. Cultura de embriões de macaúba (*Acrocomia* sp.) *in vitro* visando a implantação de um banco ativo de germoplasma. In: SIMPÓSIO NACIONAL DE CULTURA DE TECIDOS VEGETAIS, 2., 1987, Brasília. **Resumos...** Brasília: ABCTP, 1987. p.13.
- SOARES J.D.R. et al. Germinação de embriões e crescimento inicial *in vitro* de macaúba. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.41, n.5, p.773-778, 2011. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S010384782011005000040&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S010384782011005000040&script=sci_arttext)>. Acesso em: 28 abr. 2011. doi: 10.1590/S0103-84782011005000040.
- STEINMACHER, D.A et al. Somatic embryogenesis from immature peach palm inflorescence explants: towards development of an efficient protocol. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Hangue, v.89, n.1, p.15-22, 2007. Disponível em: <<http://www.springerlink.com/content/g8u506t361864t72>>. Acesso em: 20 set. 2010. doi: 10.1007/s11240-007-9207-6.
- TABAI, S. et al. Control of somatic embryos formation the palm macaúba (*Acrocomia aculeata*). In: INTERNATIONAL CONGRESS PLANT TISSUE AND CELL CULTURE, 7., 1990, Amsterdam. **Resumos...** Amsterdam: IAPTC, 1990. p.248.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 4ed. Porto Alegre: Artmed, 2008. 820p.
- TEIXEIRA, L.C. Potencialidades de oleaginosas para produção de biodiesel. **Informe Agropecuário**, v.26, p.18-27, 2005.


## ANEXOS

|  |     |
|--|-----|
| Anexo 1: Composição química do meio de cultura WPM adaptado para a cultura de <i>Acrocomia aculeata</i> (bocaiuva), utilizado na produção de mudas <i>in vitro</i> . Curitiba – PR. 2010.<br>.....   | 108 |
| Anexo 2: Resultado da análise do solo da propriedade rural localizada em Cerro Azul – Paraná. ....   | 109 |
| Anexo 3: Dados meteorológicos (precipitação média mensal, temperatura máxima, mínima e média mensal, umidade relativa, pressão atmosférica e radiação solar) no período compreendido entre maio de 2009 e setembro 2011 do município de Cerro Azul fornecidos pelo SIMEPAR. .... | 110 |

Anexo 1: Composição química do meio de cultura WPM adaptado para a cultura de *Acrocomia aculeata* (bocaiuva), utilizado na produção de mudas *in vitro*. Curitiba – PR. 2010.

| <b>MEIO WPM</b>         |  |                           |
|-------------------------|--|---------------------------|
| <b>Soluções estoque</b> | <b>g L<sup>-1</sup></b>                              | <b>ml. L<sup>-1</sup></b> |
| A                       | NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>                      | 20                        |
|                         | Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> .4H <sub>2</sub> O | 27,8                      |
| B                       | K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>                       | 49,5                      |
| C                       | CaCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O                 | 19,2                      |
| D                       | KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>                      | 34                        |
|                         | H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>                       | 1,24                      |
|                         | Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> .2H <sub>2</sub> O  | 0,05                      |
| E                       | MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O                 | 74                        |
|                         | MnSO <sub>4</sub> .H <sub>2</sub> O                  | 4,46                      |
|                         | ZnSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O                 | 1,72                      |
|                         | CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O                 | 0,05                      |
| F                       | FESO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O                 | 5,57                      |
|                         | Na <sub>2</sub> EDTA                                 | 7,45                      |
|                         | Tiamina – HCL  | 1,0 mg. L <sup>-1</sup>   |
|                         | Ácido nicotínico                                     | 0,5 mg. L <sup>-1</sup>   |
|                         | Piridoxina   | 0,5 mg. L <sup>-1</sup>   |
|                         | Glicina  | 2,0 mg. L <sup>-1</sup>   |
|                         | Meio Inositol  | 100 mg. L <sup>-1</sup>   |
|                         | Sacarose   | 30 g. L <sup>-1</sup>     |
|                         | Ágar   | 6 g. L <sup>-1</sup>      |
|                         | Carvão ativado                                       | 1,0 g. L <sup>-1</sup>    |

Anexo 2: Resultado da análise do solo da propriedade rural localizada em Cerro Azul – Paraná.

|   |                                       |                 |
|---|---------------------------------------|-----------------|
|  <b>UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ</b><br>SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS<br>DEPARTAMENTO DE SOLOS E<br>ENGENHARIA AGRÍCOLA | Solicitante: EVONDIR JOSÉ DE FARIA    | Tel 3205-2690   |
|   | Endereço: PROX. A SÃO SEBASTIÃO-BOMBA |                 |
|   | Cidade: CERRO AZUL                    | Estado: PR Cep: |

CERTIFICADO N 11581

## LAUDO DE ANÁLISE DE SOLO-ROTINA+FRAÇÃO ARGILA

Data: 6/5/2009

| Nº LAB | Identificação da Amostra | pH                |      | Al <sup>3+</sup>     | H <sup>+</sup> +Al <sup>3+</sup> | Ca <sup>2+</sup> | Mg <sup>2+</sup> | K <sup>+</sup> | SB   | T                  | P                 | S | C    | V  | m    | Ca/Mg | Argila |
|--------|--------------------------|-------------------|------|----------------------|----------------------------------|------------------|------------------|----------------|------|--------------------|-------------------|---|------|----|------|-------|--------|
|        |                          | CaCl <sub>2</sub> | SMP  | cmol/dm <sup>3</sup> |                                  |                  |                  |                |      | mg/dm <sup>3</sup> | g/dm <sup>3</sup> | % | %    |    | g/kg |       |        |
| 52591  | 01                       | 4,30              | 6,30 | 0,40                 | 4,00                             | 2,00             | 0,80             | 0,06           | 2,86 | 6,86               | 1,20              | - | 11,5 | 42 | 12   | 2,5   | 400,0  |
| 52592  | 02                       | 4,30              | 6,60 | 0,40                 | 3,20                             | 1,20             | 0,30             | 0,05           | 1,55 | 4,75               | 3,50              | - | 6,9  | 33 | 21   | 4,0   | 200,0  |



Resultados restritos às amostras recebidas. Neste laudo não constam recomendações.

Prof. Antonio C.V. Moffa, Ph.D., CREA-PR 18725-D  
 Coord. Lab. de Fertilidade do Solo

Prof. Fabiane Machado Yezzani, CREA-RS 083747  
 Coord. Lab. de Física do Solo

Rua dos Funcionários, 1540 - Curitiba, PR - CEP 80035-050 - Fone (041) 350 5673 - E-mail: depsolos@ufpr.br

**Anexo 3:** Dados meteorológicos (precipitação média mensal, temperatura máxima, mínima e média mensal, umidade relativa, pressão atmosférica e radiação solar) no período compreendido entre maio de 2009 e setembro 2011 do município de Cerro Azul fornecidos pelo SIMEPAR.

| Mês    | Precipitação<br>(mm) | Temperatura<br>Máxima (C°) | Temperatura<br>Mínima (C°) | Temperatura<br>Média (C°) | Umidade<br>Relativa (%) | Radiação<br>(W/m <sup>2</sup> ) |
|--------|----------------------|----------------------------|----------------------------|---------------------------|-------------------------|---------------------------------|
| mai/09 | 72,6                 | 24,92                      | 13,35                      | 17,70                     | 87,04                   | 248,98                          |
| jun/09 | 44,64                | 21,18                      | 7,79                       | 12,82                     | 86,81                   | 256,97                          |
| jul/09 | 367                  | 20,10                      | 12,20                      | 15,25                     | 91,37                   | 154,97                          |
| ago/09 | 66,00                | 24,21                      | 11,59                      | 16,26                     | 85,80                   | 266,634                         |
| set/09 | 264,60               | 24,96                      | 15,29                      | 19,08                     | 86,03                   | 231,812                         |
| out/09 | 144,20               | 26,35                      | 15,99                      | 20,14                     | 82,03                   | 299,864                         |
| nov/09 | 193,60               | 31,93                      | 19,88                      | 24,68                     | 80,45                   | 347,338                         |
| dez/09 | 126,40               | 31,05                      | 19,55                      | 24,00                     | 79,57                   | 364,413                         |
| jan/10 | 353,40               | 30,65                      | 20,19                      | 23,84                     | 87,03                   | 311,389                         |
| fev/10 | 110,20               | 31,96                      | 20,46                      | 24,78                     | 84,39                   | 351,00                          |
| mar/10 | 224,6                | 29,90                      | 18,56                      | 22,64                     | 86,06                   | 324,78                          |
| abr/10 | 110,7                | 26,98                      | 15,34                      | 19,68                     | 85,88                   | 272,43                          |
| mai/10 | 96,2                 | 22,95                      | 12,89                      | 16,85                     | 92,01                   | 170,56                          |
| jun/10 | 49                   | 21,96                      | 10,53                      | 14,59                     | 90,50                   | 89,52                           |
| jul/10 | 72,60                | 23,93                      | 12,81                      | 16,75                     | 88,39                   | 109,71                          |
| ago/10 | 45,40                | 23,84                      | 10,21                      | 15,26                     | 84,50                   | 131,32                          |
| set/10 | 57,20                | 27,74                      | 13,90                      | 19,15                     | 78,44                   | 157,83                          |
| out/10 | 213,40               | 26,54                      | 14,00                      | 19,09                     | 80,25                   | 165,28                          |
| nov/10 | 76,40                | 30,68                      | 15,75                      | 21,83                     | 75,20                   | 230,19                          |
| dez/10 | 288,20               | 30,34                      | 18,83                      | 23,33                     | 82,73                   | 203,28                          |
| jan/11 | 217                  | 32,8                       | 20,2                       | 24,3                      | 85,7                    | 404,2                           |
| fev/11 | 65                   | 32,55                      | 20,43                      | 24,38                     | 85,44                   | 383,79                          |
| mar/11 | 115                  | 29,02                      | 18,48                      | 22,36                     | 85,26                   | 286,83                          |
| abr/11 | 68,6                 | 28,46                      | 16,62                      | 20,77                     | 87,92                   | 282,67                          |
| mai/11 | 19,80                | 24,91                      | 12,45                      | 16,73                     | 86,46                   | 277,25                          |
| jun/11 | 105,60               | 21,93                      | 9,23                       | 13,70                     | 89,82                   | 222,32                          |
| jul/11 | 200,00               | 23,24                      | 11,72                      | 15,80                     | 90,15                   | 210,48                          |
| ago/11 | 229,80               | 24,04                      | 11,76                      | 16,35                     | 85,90                   | 244,35                          |
| set/11 | 12,20                | 25,85                      | 12,72                      | 17,73                     | 79,21                   | 292,99                          |



