



UNIVERSIDADE FEDERAL DE RORAIMA
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM RECURSOS NATURAIS

OZIMAR DE LIMA COUTINHO

DESENVOLVIMENTO DE PROTOCOLO PARA MICROENXERTIA DO
TOMATEIRO *Lycopersicon esculentum* Mill.

BOA VISTA

2006

OZIMAR DE LIMA COUTINHO.

**DESENVOLVIMENTO DE PROTOCOLO PARA MICROENXERTIA DO
TOMATEIRO *Lycopersicon esculentum* Mill.**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado em Recursos Naturais do Programa de Pós-Graduação em Recursos Naturais – PRONAT, da Universidade Federal de Roraima como parte integrante dos requisitos básicos para obtenção do grau de Mestre em Recursos Naturais.

Orientadora: Prof^a Dr^a Elizanilda Ramalho do Rêgo.

BOA VISTA

2006

Dados Internacionais de Catalogação-na-publicação (CIP)

C844d Coutinho, Ozimar de Lima
Desenvolvimento de protocolo para microenxertia do
Tomateiro *Lycopersicon esculentum* Mill / Ozimar de Lima
Coutinho. -- Boa Vista, 2006.

51 f.

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Elizanilda Ramalho do Rêgo.

Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em
Recursos Naturais , Universidade Federal de Roraima.

1 – Agronomia. 2 – Tomateiro. 3- *Lycopersicon*
esculentum. 4 – Murcha bacterianaI. 5- Microenxertia. I-
Título. II – Rêgo, Elizanilda Ramalho do.

CDU- 635.64

OZIMAR DE LIMA COUTINHO.

**DESENVOLVIMENTO DE PROTOCOLO PARA MICROENXERTIA DO
TOMATEIRO *Lycopersicon esculentum* Mill.**

Dissertação apresentada como pré-requisito para conclusão do curso de Mestrado em Recursos Naturais da Universidade Federal de Roraima, defendida em 22 de Agosto de 2006 e avaliada pela banca examinadora:

Profª Drª Elizanilda Ramalho do Rego.

Orientadora – Pres.da Banca examinadora.

Profº Dr. Maílson Monteiro do Rêgo

Profº Adjunto da EAGRO/UFRR.

C844d Coutinho, Ozimar de Lima
Desenvolvimento de protocolo para microenxertia do Tomateiro *Lycopersicon esculentum* Mill / Ozimar de Lima Coutinho. -- Boa Vista, 2006.
50 f.
Orientadora: Profª. Drª. Elizanilda Ramalho do Rêgo.
Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Recursos Naturais , Universidade Federal de Roraima.

1 – Agronomia. 2 – Tomateiro. 3- *Lycopersicon esculentum*. 4 – Murcha bacterianaI. 5- Microenxertia. I- Título. II – Rêgo, Elizanilda Ramalho do.

CDU- 635.64

Dedico este trabalho à minha família, Odílio Coutinho da Silva, *in memoriam* e a Maria Clese de Lima Coutinho, meus queridos pais pela incansável luta que travaram para me educar. A meus irmãos: Ozildo e Olavo *in memoriam*. Ozinaldo, Odize, Onildo e Lisieux, pela amizade sincera. A minha esposa, Sônia Maria Venâncio Coutinho e minhas queridas filhas, Rebeca Venâncio Coutinho e Raíssa Clese Venâncio Coutinho, pelo amor, companheirismo e confiança demonstrada sempre.

AGRADECIMENTOS

Ao meu **DEUS**, "Fonte inesgotável de sabedoria e amor", pela fé, força, saúde, capacidade e amor, sempre que busquei.

Aos meus familiares pelo apoio, confiança, compreensão e força nos momentos difíceis desta luta.

A CAPES, pelo financiamento desta pesquisa.

A Universidade Federal de Roraima – UFRR. Instituição que eu vesti a camisa e aprendi a amar.

Aos meus orientadores Prof^a Dr^a. Elizanilda Ramalho do Rêgo e Prof^o Dr. Mailson Monteiro do Rêgo, pelos conhecimentos transmitidos e pela confiança depositada.

A Banca Examinadora, pelas críticas construtivas e correções oportunas.

Ao Pastor Carlos Alberto Ferreira de Lima, sua esposa Valdely e a Primeira Igreja Batista de Roraima, pelas orações em pró do sucesso deste curso.

A Dona Inácia, secretária do PRONAT pelas orações, amizade e aconselhamentos quando busquei.

Ao casal de amigos Tory e Gilianny Pignata, pela colaboração na tradução do resumo.

Aos colegas da primeira turma do curso de Mestrado em Recursos Naturais pelos bons momentos juntos no transcorrer desta jornada. (Os maus momentos já foram esquecidos)

Ao Programa de Pós Graduação em Recursos Naturais – PRONAT. Pela criação deste curso possibilitando-me a cursá-lo.

Ao Centro de Ciências Agrárias da UFRR, meu ambiente de trabalho.

Aos estagiários da Biofábrica, Jaadson, Arthur, Gilcianny, Ataíza e Júlio, pela colaboração prestada nos experimentos deste trabalho.

Aos meus amigos e parceiros, Leonildo, Delomar e Rosa pelos trabalhos, trocas de conhecimentos e estudos realizados juntos.

A Pureza e Francisco (Catita), funcionários da ROSERC, pela ajuda prestada sempre que procurados.

A todos que direta ou indiretamente contribuíram para realização desta obra.

O **Senhor** é o meu pastor, nada me faltará.

Deitar-me faz em pastos verdejantes, guia-me mansamente a águas tranqüilas.

Refrigera a minha alma, guia-me nas veredas da justiça por amor do seu nome.

Ainda que eu ande pelo vale da sombra da morte, não temerei mal algum, porque **tu** estás comigo, a tua vara e o teu cajado me consolam.

Preparas uma mesa perante mim na presença dos meus inimigos, unges com óleo a minha cabeça, o meu cálice transborda.

Certamente que a bondade e a misericórdia me seguirão todos os dias da minha vida, e habitarei na casa do **Senhor** por longos dias.

Salmos 23

LISTA DE FIGURAS.

FIGURA 1 Fotografia da inflorescência, frutos e sementes de <i>Solanum palinacanthum</i> Dun.	29
FIGURA 2 Fotografias da metodologia de microenxertia.	33
FIGURA 3 Fotografias demonstrativas do protocolo de microenxertia	39
FIGURA 4 Detalhes da microenxertia em T-invertido 7 dias após sua realização.	41

LISTA DE TABELAS.

TABELA 1 Resumo da análise de variância para diferentes concentrações de extrato etanólico de <i>L. microphylla</i> Cham. e hipoclorito de sódio a 1,25% para desinfestação de sementes de tomateiro e jurubebeira	34
TABELA 2 Comparação entre as medias das sementes germinadas <i>in vitro</i> Com diferentes concentrações de extrato etanólico de <i>L. microphylla</i> Cham. e hipoclorito de sódio a 1,25%.	35
TABELA 3 Resumo da analise de variância das características de comprimento e diâmetro de caule de tomateiro <i>in vitro</i> em relação a diferentes concentrações de sais no claro e no escuro respectivamente.	36
TABELA 4 Resumo da analise de variância das características de comprimento e diâmetro de caule de jurubebeiras <i>in vitro</i> em relação a diferentes concentrações de sais no "claro" e no "escuro" respectivamente.	36
TABELA 5 Resumo da analise de variância das características do diâmetro de caule de tomateiro <i>in vitro</i> em relação a diferentes concentrações de sacarose no "claro" e no "escuro", respectivamente.	37
TABELA 6 Comparação entre as médias de diâmetro de explantes de tomateiro cultivados em diferentes concentrações de sacarose em relação ao diâmetro do explante.	37
TABELA 7 Percentagem de sobrevivência, em diferentes microenxertos de tomateiro em jurubebeira, utilizando corte em T-invertido e Bisel, durante 4 semanas.	40

RESUMO

A murcha bacteriana, causada por *Ralstonia solanacearum*, é a principal doença vascular de plantas em todo o mundo. O agente causal é uma bactéria de hábito natural do solo, que pode sobreviver por mais de dez anos. Ocorre em todas as regiões do Brasil, predominando em condições de umidade e temperatura mais altas, fator este propício ao desenvolvimento deste patógeno. Este agente causal é de difícil controle, pois sobrevive nos mais diversos hospedeiros, especialmente *Solanáceas*, além de outras famílias de importância alimentar, condimentar e medicinal. Além disso sobrevive em plantas daninhas sem expressar o sintoma da doença, dificultando assim, ainda mais o seu controle. O uso de espécies do gênero *Solanum* na enxertia convencional e da mini-enxertia em tomateiro *Lycopersicon esculentum* é limitada em função da incompatibilidade. Neste trabalho utilizamos o método da microenxertia para obtenção de plantas resistentes a doenças como a murcha bacteriana, tendo como cavalo a espécie *Solanum palinacanthum* Dun. Para tanto se utilizou dois métodos de microenxertia: o método convencional do T-invertido e o método do corte em bisel. Foram testados meios de culturas para execução destas duas práticas de micropropagação que para isto foram realizados experimentos em diferentes condições ambientais, ou seja, presença e ausência de luminosidade, com diferentes tratamentos correspondentes a teores de açúcares e sais, submetidos a cinco avaliações com intervalos semanais. Os melhores resultados foram encontrados quando se utilizou o meio 1/8 de força adicionado de 30gr. de sacarose/L⁻¹, demonstrando, serem estas, as melhores condições às práticas da microenxertia. O método do T-invertido apresentou melhores percentuais de pegamento que o método do bisel.

Palavras chaves: Solanácea, *Lycopersicon*, Murcha bacteriana, Microenxertia.

ABSTRACT

The bacterial wilt, caused by *Ralstonia solonacearum*, is the most important vascular disease among plants in around the world. The causing agent is a bacteria whose habitat is natural soil, and which can survive for more than 10 years. It is found in all regions of Brazil, predominantly in areas with high humidity and temperature. This bacteria is difficult to control with chemical products, being able to survive in many diverse hosts especially in species of Solanaceae as well as other families of great alimental, condimental, or medicinal importance. It can also survive in weeds that do not express symptoms of the disease, making it even more difficult to control. The use of species of the Genus Solanum has been attempted but the practice of grafting and micro-grafting of tomato *Lycopersicon esculentum* is limited by incompatibility. In this work micrografting method was used to obtain resistents plants using the species *Solanum palinacanthum* Dun. which hold a series of characteristics interesting from a commercial point of view, mainly the resistance of diseases that are difficult to control as in the case of bacterial wilt. For this were used used two methods of micro-grafting, which were the conventional method of the inverted T and the method of the Bisel cut. To do this were performed experiments with different environmental conditions, these being: the presence and absence of luminosity, with different corresponding treatments with quantities of sugars and salts. The experiment was submitted to five evaluations with weekly intervals. During this phase it was determined that with $\frac{1}{8}$ the force, adding 30gr. of sacarose/L⁻¹, demonstrated better conditions for the practice of micro-grafting, beeing the best condiction to do micro-grafting. The inverted T method presented higher percentages of success than the Bisel method .

Key Words: Solanaceae, *Lycopersicon*, Bacterial wilt, Micro-grafting.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS

LISTA DE TABELAS

RESUMO.

ABSTRACT.

1- INTRODUÇÃO.	14
1.1 O tomateiro e sua importância econômica para a região norte.	14
1.2 O tomateiro e a Murcha bacteriana.	15
1.2.1 Tomateiro (<i>Lycopersicon esculentum</i> Mill).	15
1.2.2 Murcha Bacteriana	16
1.3 Jurubebeira (<i>Solanum palinacanthum</i> Dun.).	18
1.4 Microenxertia de plantas <i>in vitro</i> .	19
1.5 Desinfestação de sementes para inoculação <i>in vitro</i> .	22
1.6 Nutrição mineral <i>in vitro</i> .	23
1.6.1 Sais minerais (Macros e Micronutrientes).	23
1.6.2 Carboidratos (Açúcares).	27
2- OBJETIVOS.	28
2.1 Objetivo Geral	28
2.2 Objetivo Específico	28
3- MATERIAL E MÉTODOS.	29
3.1 Material vegetal	29
3.1.1 Local de coleta	29
3.1.2 Identificação botânica do material	29
3.2 Desinfestação das sementes com extrato etanólico de <i>Lippia microphylla</i> Cham.	31
3.2.1 Solução estoque de extrato etanólico de <i>L. microphylla</i> Cham.	31
3.2.2 Desinfestação de sementes de jurubebeira e tomateiro com extrato etanólico de <i>L. microphylla</i> Cham.	31
3.3 Avaliação da interação das concentrações de sais do meio MS. e as condições de cultivo (claro e escuro) na micropropagação de Jurubebeira (<i>S. palinacanthum</i> Dun) e Tomateiro (<i>L. esculentum</i> Mill).	31

3.4 Avaliação das concentrações de sacarose e condições de cultivo (claro e escuro) na micropropagação de Jurubebeira (<i>S. palinacanthum</i> Dun.) e Tomateiro (<i>L. esculentum</i> Mill).	32
3.5 Protocolo para microenxertia em T-invertido e corte em bisel.	32
3.6 Comparação entre os percentuais de pegamento de microenxertia utilizando T-invertido e corte em bisel.	33
4- RESULTADOS E DISCUSSÃO.	35
4.1 Desinfestação das sementes com extrato etanólico de <i>L. microphylla</i> . Cham.	35
4.2 Determinação da interação entre a concentração de sais do meio de cultivo MS. e diferentes regimes de luz para a micropropagação de jurubebeira (<i>S. palinacanthum</i> Dun.) e tomateiro (<i>L. esculentum</i> Mill.)	36
4.3 Determinação da interação entre a concentração de sacarose e diferentes regimes de luz para a micropropagação de jurubebeira (<i>S. palinacanthum</i> Dun.) e tomateiro (<i>L. esculentum</i> Mill.)	38
4.4 Protocolo para elaboração da microenxertia através dos cortes em T-invertido e em bisel.	39
4.5 Comparação entre os percentuais de pegamento de microenxertia utilizando T-invertido e corte em bisel.	41
5- CONCLUSÕES.	43
REFERÊNCIAS.	44

1- INTRODUÇÃO.

1.1 O tomateiro e sua importância econômica para a região.

No mundo, a olericultura vem sofrendo em sua cadeia produtiva nos últimos tempos mudanças bruscas, principalmente com a abertura do mercosul e a formação de blocos econômicos europeus e americanos. Hortaliças como produtos de atividades empresariais têm crescido a níveis mundial e nacional, porém na região norte apesar do rotulo de fronteira agrícola, este crescimento tem acontecido de forma pouco animadora (TAVARES, 1997).

Roraima, em particular a região do lavrado, apresenta déficit hídrico prolongado e elevadas temperaturas, na região predomina o latossolo amarelo com baixa fertilidade natural e elevada acidez, onde o tomateiro tem sido cultivado. Entretanto, em razão do clima e do baixo nível tecnológico empregado, principalmente fatores nutricionais, as produtividades têm sido baixas, entre 1988 e 1997, observaram-se apenas rendimentos médios da ordem de 11,74 t/ha (FECOR, 1997). Nos últimos anos, dados estatísticos na produção de tomates variaram de 12 a 12,5 t/ha ostentando um crescimento muito pequeno em relação aos dados de 1987. No entanto o rendimento médio a nível nacional para 2004 estabeleceu-se em torno de 58,44 t/ha, segundo dados da produção agrícola mundial (IBGE, 2004).

Outro fator relevante que contribuiu para essa baixa produtividade foi a suscetibilidade do tomateiro a doenças favorecidas pela alta temperatura e umidade da região, somado a poucos trabalhos de ordem científica e educativa que conscientize da necessidade de pesquisa pelos órgãos competentes. O desestímulo ao cultivo do tomateiro por horticultores tem como conseqüência a redução de ofertas do produto e elevação de preços, limitando o consumo pelas comunidades carentes (KUROZAWA et al., 1990; LOPES, 1994).

Face o exposto, a microenxertia surgiu como uma alternativa viável a curto prazo para o controle de doenças principalmente de origem bacteriana, assim como na obtenção de mudas livres de fitopatógenos e alguns casos de incompatibilidade, visto que a enxertia convencional, sobre porta-enxertos selvagens e resistentes do gênero *solanum*, na região

norte do Brasil, já tem sido largamente empregado. (TOKESHI; CARVALHO, 1980; ROBBS, 1985; RIBEIRO; GIORDANO, 2001).

Utilizou-se a jurubebeira como porta-enxerto, por ser uma planta adaptada a região apresentando porte arbustiva de ocorrência comum, pouco exigentes em solos, vegetando sob plena luz, características próprias das regiões amazônicas e nordestinas (RIBEIRO, 1999; FILGUEIRA, 2003).

1.2 O tomateiro e a murcha bacteriana.

1.2.1 Tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill.)

O tomateiro é uma planta da família *Solanaceae*, amplamente cultivada, de grande complexidade e de elevado risco econômico, originário da faixa costeira andina, a oeste da América do Sul, onde hoje estão o Chile, Peru e o Equador, tendo sido domesticado no México e introduzido no Brasil pelos imigrantes italianos e japoneses. No gênero *Lycopersicon*, há diversas espécies, podendo algumas delas cruzarem-se (FONTES; FONTES, 2002).

A espécie cultivada *Lycopersicon esculentum* Mill é derivada da variedade selvagem *Lycopersicon esculentum* var. *cerasiforme*, que produz frutos do tipo cereja, e estão adaptadas a altitudes que variam de 800 a 1000 metros (COSTA, 2003).

A cultura do tomateiro constitui-se na olerícola de maior importância econômica no comércio internacional e a segunda em importância no comércio nacional, tendo um consumo que ultrapassa 7kg/pessoa/ano (FECOR, 1997; RÉGO, 1997).

Em 2004 a produção mundial de frutos de tomates ultrapassou 93 milhões de toneladas, sendo 60-65% dessa produção processada pela indústria alimentícia. Nesta estimativa o Brasil ocupa o oitavo lugar com uma produção de 3.641.400 toneladas (FAO 2004).

Em ordem de importância econômica o tomateiro é apenas superado pela batata, sendo os estados maiores produtores em ordem decrescente: São Paulo, Goiás, Rio de Janeiro, Pernambuco, Minas Gerais e Paraná. Contudo, São Paulo contribui com mais de

50% da produção brasileira de tomate, sendo este o estado no qual a tecnologia de produção está mais avançada (FONTES, 2005).

Dentre as doenças que atacam o tomateiro causando danos com prejuízos incalculáveis podemos destacar murcha fusariana, murcha de verticilos, requeima, septoriose, pinta preta, pinta parda, cancro bacteriano, mosaico comum, vira cabeça e murcha bacteriana (SAMPAIO et al., 1998; MALAVOLTA Jr., 2005).

No estado de Roraima, as principais regiões produtoras de tomates têm apresentado baixas produtividades que são associadas à má qualidade dos frutos e a diversos fatores, principalmente, a murcha bacteriana. Isto tem desestimulado o cultivo desta espécie pelos horticultores da região e como consequência direta desse fato a necessidade da importação do fruto para atender demanda do mercado da região norte, impulsionando o aumento do preço e limitando consumo as populações de baixa renda (TAKATSU; LOPES, 1997).

1.2.2 Murcha Bacteriana.

A murcha bacteriana do tomateiro tem por sinônimas murchadeira, Bacterial Wilt, Brown Root, dentre outros, mundialmente conhecida como "Wilt", termo inglês que designa murcha (PONTES, 1980).

O agente causal da murcha bacteriana, *Ralstonia solanacearum*, é uma bactéria não fluorescente, movimenta-se por meio de um tufo de flagelos polares, bastonetes, gran negativos, vascular e habitante do solo. Foi descrita pela primeira vez por Smith em 1896 como *Bacillus solanacearum* e desde então tem sofrido algumas modificações, recebendo diferentes denominações, porém a nomenclatura dada em 1914 pelo próprio Smith, como *Pseudomonas solanacearum*, prevaleceu por quase 80 anos, sendo então reclassificada no grupo II de homologia de rRNA de Palleroni *et al.* (1973) como *Burkholderia solanacearum*.

Entretanto menos de três anos depois, essa classificação foi revista com base nos dados de análise filogenética da seqüência de nucleotídeos de rDNA 16S, por meio de hibridação de rRNA-DNA, análise de lipídeos celulares e ácidos graxos e também das caracterizações fenotípicas. Então determinou-se que a bactéria permanecia no mesmo

grupo, porém como novo gênero, *Ralstonia*, criado para abrigar o grupo de homologia de DNA distinto do grupo da espécie tipo *Burkholderia cepacia* (YABUUCHI et al. 1995).

Bactéria cosmopolita, associada a grande número de plantas cultivadas e daninhas, é de controle extremamente difícil, pois além do tomateiro, ataca também larga faixa de hospedeiros cultivados e selvagens, destacadamente da família *solonaceae* causando sintomas visíveis e devastadores, sendo por isso a doença bacteriana mais estudada no mundo, desde a sua primeira constatação por Erwin F. Smith há aproximadamente um século (TAKATSU, LOPES; 1997).

A bactéria é mais destrutiva e limitante da produção em áreas mais úmidas e temperaturas elevadas das regiões de clima tropical e subtropical como norte e nordeste do Brasil, apresentando-se como a doença mais importante do tomateiro, impedindo seu plantio em muitas áreas, a exemplo de outras regiões brasileiras, em que sua ocorrência também é comum, principalmente nos meses mais quentes do ano (KIMATI et al 1997; FILGUEIRA 2003).

No Brasil a bactéria ocorre especialmente em regiões de baixadas e em solos que a bactéria faz parte da microflora nativa, como nos estados do Maranhão, Amazonas e Pará. Nestes estados a bacteriose torna-se fator limitante ao desenvolvimento da tomaticultura e os prejuízos causados pela doença podem ser totais, influenciados pela temperatura, solo, intensidade luminosa e microrganismos antagonistas ou sinérgicos (COELHO NETO et al., 2003).

Malavolta Jr.; Rodrigues Neto (1991), afirmaram que os sintomas em tomateiro afetado caracterizam-se por murcha rápida e acentuada dos folíolos mais velhos, seguida da murcha dos ponteiros, culminando com murcha generalizada da planta, sem manifestação de amarelecimento das folhas, isto em condições favoráveis, sendo tais sintomas mais evidentes nas horas mais quentes do dia, quando então toda planta murcha e sucumbe.

O diagnóstico em campo é feito de modo prático e simples, consistindo na retirada de cerca de 10 a 20 cm do tecido da planta suspeita na região do córtex e colocando-o na parede interna de um copo contendo água limpa, de modo que apenas a extremidade inferior toque a água, em minutos sendo positivo observar-se-á um corrimento em forma de filetes de líquido leitoso, que verte para o fundo do copo, constituído pelo pus bacteriano (BARRETO e SCALOPPI 1999; FILGUEIRA, 2003).

A disseminação da bactéria dá-se pela água, solo, tratos culturais, implementos agrícolas, homem, insetos, mudas e esterco contaminados, etc. O seu controle pode ser feito utilizando a rotação de culturas com gramíneas, tais como milho, arroz, sorgo, cana-de-açúcar e pastagem, sendo que a bactéria deixa de ser problema ao tomateiro ou à batata após rotação de 2 a 3 anos de cultivo (KELMAN, 1953; LOPES, 1994; TAKATSU e LOPES, 1997). Ainda como controle cultural, Malavolta Jr. (2005), recomenda que o plantio de culturas susceptíveis a murcha bacteriana, sejam realizados em áreas onde não há histórico de ocorrência da doença, realizando isolamentos de focos iniciais da doença e evitando irrigar plantas contaminadas.

A maioria dos genes de resistência a patógenos em tomateiros, foram introduzidos pelos cruzamentos entre *Lycopersicon esculentum* com espécies silvestres, resultando em híbridos com uma série de características interessantes do ponto de vista comercial, principalmente no que diz respeito a resistência a doenças (RIBEIRO; GIORDANO, 2001).

Variedades resistentes tem sido pesquisadas como porta-enxertos através de espécies selvagens tolerantes à doença, entretanto, os frutos não expressam aceitação comercial embora demonstrem qualidade, apresentam formas e tamanhos fora dos padrões comerciais, tendo-se que associar outra prática, o desbaste de frutos, para possibilitar aos frutos remanescentes atributos condizentes as exigências do mercado (TAMURA; MURATA; MUKAIHARA, 2002; FILGUEIRA, 2003).

Outra estratégia economicamente viável para superar problemas com doenças que tem sido empregado é a prática de enxertias convencionais do tomateiro sobre jurubebeira e tem sendo com isso utilizadas em localidades nordestinas e amazônicas, nas quais a bactéria é nativa do solo (FILGUEIRA, 2003).

A enxertia tornou-se prática constante por produtores de tomateiros, principalmente com respeito à obtenção de porta-enxertos resistentes à murcha bacteriana. Em regiões com a ocorrência deste patógeno tem-se identificado genótipos selvagens e resistentes utilizando-os como porta-enxerto para tomateiro. Entretanto, problemas de incompatibilidade entre enxerto e porta-enxerto são comuns, mas podem ser superados em alguns casos pela técnica da microenxertia. (RIBEIRO; GIORDANO, 2001).

1.3 Jurubebeira (*Solanum palinacanthum* Dun.).

A palavra jurubeba é derivada do tupi-guarani Yuru'peebe, que significa papagaio achatado, sendo uma alusão aos espinhos amarelos, achatados e curvos semelhantes a bicos de papagaios, comuns em varias espécies do gênero *Solanum*, família *Solanaceae*, (JOLY, 1987).

No Brasil as espécies mais fáceis de serem encontradas são: *Solanum paniculatum*, a mais amplamente distribuída no país, não ultrapassa 2,5 metros de altura; *Solanum guaraniticum* que ocorre no planalto sul brasileiro, do Rio Grande do Sul a Minas Gerais, um arbusto de 2,0 metros de altura; *Solanum tabacifolium*, arbusto que pode atingir 4,0 metros de altura, encontrado na região mais central do país, de Santa Catarina a Bahia, todas ocorrem em lavouras e pastos e são tidas como pragas (LORENZI, 2000).

As jurubebeiras são plantas arbustivas, adaptam-se melhor em solos leves e arenosos, necessitando de iluminação plena. O seu plantio é feito em sementeiras na época das chuvas, com espaçamento de 1m X 2m e a colheita é feita quando a planta encontra-se repleta de folhas e com frutos maduros (RIBEIRO, et al. 1999).

Segundo Correa et al. (2003.) essas plantas apresentam atividade farmacológica e toxicológica e são utilizadas nas afecções hepáticas, vias biliares, dispepsia, quadros febris, astenia, úlceras pépticas, anemias carencial e diabetes melitus, possui ainda, atividade diurética e suas folhas são utilizadas em cataplasmas, como cicatrizantes, porém deve-se evitar uso prolongado, pois em sua composição estão alcalóides e esteróides, isopirubidina, panicutomina A e B, isopaniculidina, alquilaminas, saponinas (jurubina) e substâncias resinosas.

Na região Norte do Brasil, onde as cultivares de tomate não tem apresentado boa tolerância à murcha bacteriana, tem-se empregado com vantagem a enxertia sobre espécies do gênero *Solanum* como jurubeba (*S. jurubeba*) e juna (*S. toxicarum*) (TOKESHI; CARVALHO 1980; ROBBS, 1985).

1.4 Microenxertia de Plantas *in vitro*

George (1993) definiu microenxertia como sendo a transferência de um pequeno fragmento do ápice caulinar ou gema axilar para um porta-enxerto, que pode ser realizado *in vitro* ou *ex vitro* em condições assépticas.

A microenxertia foi descrita pela primeira vez por Murashige et al. (1972), recuperando plantas de citrus livres de exocorte e mantendo as características genéticas das mesmas, indispensáveis do ponto de vista comercial. Posteriormente, essa técnica foi aperfeiçoada, tornando-se eficiente na obtenção de plantas cítricas livres de vírus (NAVARRO et al. 1975).

Esta técnica tem sido aplicada, com sucesso, para outras espécies de importância econômica como macieira, damasqueiro e a videira, dentre outras (SANTOS FILHO; PAZ, 1994).

A prática consiste em microenxertar, em condições assépticas, um ápice caulinar, contendo dois a três primórdios foliares, retirado de uma planta matriz, sobre um porta-enxerto cultivado *in vitro*, do qual decapta-se o porta-enxerto e faz-se uma incisão em formato de T-invertido no seu topo, onde é introduzido o microenxerto (SANTOS FILHO; PAZ, 1994).

George (1993) relata que antes da microenxertia ser realizada é necessário preparar os porta-enxertos. Quando as plântulas são usadas como porta-enxertos, e todos os estádios são conduzidos *in vitro*, as sementes são desinfestadas e germinadas em recipientes contendo meios nutritivos. As plântulas podem ter como suportes ágar ou substratos porosos, como vermiculitas. A microenxertia é então efetuada cortando-se a parte superior da plântula e colocando um pequeno ramo do ápice na superfície exposta. Quando ocorre sucesso na microenxertia, cavalo e cavaleiro crescem juntos produzindo uma planta. Em citrus onde a técnica tem sido utilizada com maior sucesso, o enxerto vem sendo colocado diretamente em uma das seguintes posições: a) incisões em forma de T-invertido, imediatamente abaixo do corte da superfície; b) na camada do câmbio vascular (figura 1).

A microenxertia possibilita detecção precoce de incompatibilidade de espécies e a associação desta com a micropropagação em outras espécies hortícolas herbáceas já foi utilizada por vários autores com sucesso. Entretanto, para frutíferas e essências florestais essa metodologia tem limitações, geralmente, apresentam dificuldade de regeneração a

partir de ápices caulinares, portanto, a técnica da microenxertia desenvolveu-se para contornar esse tipo de problema (PALMA et al., 1996; PRAKASH et al., 1999).

O processo de soldadura dos microenxertos é condicionado fundamentalmente pela congenialidade dos indivíduos envolvidos, onde o primeiro estágio da união ocorre em poucos dias, caracterizado pela morte de camadas celulares da interface do enxerto e pela formação de células parenquimáticas, preenchendo a fenda no ponto de enxertia, constituindo o calo em associação com a região vascular da variedade copa e do porta-enxerto (DICKISON, 2000).

Segundo Jeffree; Yeoman (1983), a diferenciação de algumas células do calo, a partir de novas células cambiais, forma uma união entre os tecidos afins da variedade copa e do porta-enxerto, resultando no estabelecimento de uma conexão cambial contínua, visto que, estes autores ressaltam que o posterior desenvolvimento da copa pelo alongamento e formação de novas camadas celulares assegura o estabelecimento da continuidade da vascularização entre esta e o porta-enxerto.

Moore; Walker (1983) observaram que na ausência da diferenciação vascular, o calo adjacente promove a soldadura entre os tecidos. Com base nestes dados, Prakash et al. (1999) constataram que a fase final da soldadura, na qual ocorreria a rediferenciação do tecido vascular através da interface do enxerto, não é absolutamente essencial para o sucesso da enxertia.

A microenxertia apresenta como vantagens: produzir plantas livres de vírus; matrizes de alta qualidade fitossanitária e fisiológica; formação de blocos de matrizes para o fornecimento de borbulhas certificadas a viveiristas produtores de mudas; intercâmbio de mudas e borbulhas seguras referentes a sanidade; manutenção de acessos de bancos de germoplasma livre de vírus; aumento da produtividade em plantios comerciais; rejuvenescimento do propágulo quando feito em cascata (SANTOS FILHO; PAZ, 1984).

Carvalho et al. (1998) relataram que a microenxertia de ápices caulinares tem sido utilizada com 100% de sucesso na eliminação do vírus da tristeza (*Citrus tristeza virus*), dos viróides da exocorte (*Citrus exocortis viroid* - CEVd) e cachexia-xiloporose de materiais de Bancos Ativos de Germoplasmas de Citros, porém para o complexo da sorose, esta técnica tem apresentado somente 60% de eficiência, indicando a necessidade de sua associação com termoterapia para garantir a eliminação viral.

Na microenxertia, os porta-enxertos usados são comumente oriundos de plântulas germinadas *in vitro*, mas é possível usar ramos micropropagados. Quando as plântulas são usadas como porta-enxertos, e todos os estágios são conduzidos *in vitro*, as sementes são desinfestadas e germinadas axenicamente em vasos contendo meio nutritivo. As plântulas podem ter como suporte agar ou substrato poroso, como a vermiculita. (NAVARRO, 1988).

Ramos ou meristemas apicais utilizados na microenxertia podem ser obtidos de gemas apicais ou axilares de ramos crescendo ativamente em casa-de-vegetação ou campo, ou podem ser removidos de ramos crescendo *in vitro*. Uma vez transferido, a sobrevivência dos ápices microenxertados são particularmente dependentes do seu tamanho. Ápices muito pequenos podem ser usados para eliminação de vírus, tornando a técnica difícil e impraticável. Ápices de 0,1 a 0,2 mm de comprimento tem sido utilizado na microenxertia para eliminação de vírus em videira. A retirada e transferência de ápices muito pequenos requerem micro-manipulação sob microscópio binocular (TANNÈ et al., 1993).

O escurecimento do tecido é comumente resultado da morte de enxertos muito pequenos, podendo ser reduzidos mergulhando rapidamente o explante em solução antioxidante, ou colocando uma gota de solução antioxidante sobre o porta-enxerto imediatamente antes de colocar o cavaleiro. Uma solução de 2g.L⁻¹ de sódio dietiltiocarbamato (DIECA) tem sido usado com este propósito. Navarro (1998) sugere a manipulação rápida para impedir a oxidação fenólica e segundo ele, é mais efetivo do que utilizar substâncias antioxidantes.

Na região Amazônica o enxerto do tomateiro sobre a jurubeba *Solanum toxicarium*, tem sido utilizado com bastante frequência por produtores de tomateiros, visto a resistência demonstrada pelo porta-enxerto ao patógeno causador da murcha bacteriana, ocasionando assim maior rentabilidade para o produto (MARANCA, 1981).

Por meio da microenxertia é possível produzir plantas resistentes à murcha bacteriana *in vitro*, utilizando como micro-porta-enxerto plantas resistentes ao fitopatógeno, e como microenxerto, variedades de tomateiro de interesse comercial, possibilitando o cultivo de tomate em áreas onde o patógeno é autóctone (GRATTAPAGLIA; MACHADO, 1998).

1.5 Desinfestação de sementes para inoculação *in vitro*.

No cultivo *in vitro* o elevado grau de assepsia é condição limitante em qualquer situação, pois fungos e bactérias encontram no meio nutritivo utilizado ambiente apropriado para se desenvolver rapidamente, culminando com a morte das culturas (TORRES; TEXEIRA, 1998; MARTINS-CORDER; BORGES JUNIOR, 1999; BORGES et al., 2004).

A assepsia das sementes e a sua desinfestação são ferramenta básica e essencial para o estabelecimento *in vitro* de uma cultura, utilizando-se de substâncias como o etanol e compostos à base de cloro (hipoclorito de sódio ou de cálcio), além de outros, como ácido clorídrico, cloreto de mercúrio e cloreto de benzalcônio (BORGES et al., 2004). A adição de detergente, como o tween 20, aumenta a penetração do desinfectante no tecido e a dilatação dos poros do propágulo, facilitando a penetração da solução desinfestante (PASQUAL et al., 1997).

Outras substâncias têm sido empregadas na desinfestação de explantes, dentre elas citam-se: Pastilhas de formol e formaldeído e o fungicida benomyl. Entretanto, algumas dessas substâncias químicas podem interferir na qualidade fisiológica da semente dependendo da concentração e do tempo de exposição, tais como: hipoclorito sódio ou cálcio, mercúrio ou pastilhas de formol (SATO et al., 2001; CHAVES et al., 2004).

O hipoclorito de sódio é uma solução aquosa alcalina com 10% de cloro ativo e cerca de 10-13 g.L⁻¹ de soda residual, de coloração amarela e odor característico, produzido pela reação entre o cloro gás e uma solução de hidróxido de sódio. Na desinfestação de sementes tem-se utilizado hipoclorito de sódio a 1% de cloro ativo ou mesmo produto contido em alvejantes domésticos, usados na concentração de 20% v/v que equivale a 1 – 1,5% do cloro ativo (CHAVES et al., 2004).

O formaldeído, normalmente utilizado em solução aquosa, incolor com odor penetrante e irritante. Possui inúmeras aplicações como, por exemplo, na preservação de cadáveres, em produtos de limpeza, como composto na produção industrial e como esterilizante. Os efeitos tóxicos deste composto são relatado em seres humanos e animais. Já o aldeído fórmico atua como fixador interagindo com os aminoácidos lisina e arginina, onde esse fixador dentre outras propriedades, não provoca precipitação de proteínas e não preserva gorduras livres, porém fixa lipídeos complexos, provoca leve precipitação de

outros constituintes celulares e não é o fixador de eleição para carboidratos (SATO et al., 2001).

O Benomil ou Benomyl, o primeiro fungicida sistêmico desenvolvido, possui atividades preventivas, curativas e sistêmicas contra numerosos grupos de fungos. Apresenta, ainda, baixa toxicidade e, de modo geral, não provoca fitotoxicidade. No Brasil, existem duas marcas comerciais (Benlate 500 e Benomil Nortox), ambas contendo 500g.kg⁻¹ de Benomil. No momento, apenas Benlate 500 está disponível comercialmente (PICININI,1994). O Benomil tem sido utilizado em diversos trabalhos no controle de contaminações fúngicas do meio e do material vegetal em várias concentrações, de 50 mg.L⁻¹ a 0,6 g.L⁻¹ de Benomil (YANG, 1976).

Estas substâncias utilizadas rotineiramente para desinfestação em cultura de tecidos podem interferir no processo de divisão celular e conseqüentemente no desenvolvimento de plantas normais (BORGES et al., 2004).

Schwengber et al. (2005) avaliou a atividade bactericida e fungicida de extrato etanólico de *Lippia microphylla* Cham. (Verbenaceae) no processo de desinfestação de sementes de maracujazeiro. Segundo Silva et al., (2004) o óleo essencial da salvia-do-campo, como a planta é conhecida, apresenta 24,42% de timol, substância reconhecida como excelente germicida.

1.6 Nutrição mineral *in vitro*.

1.6.1 Sais minerais (Macros e Micronutrientes).

O suprimento de minerais no meio de cultura é uma parte essencial no sistema de cultura de tecidos de plantas. Atualmente, os meios utilizados estão em grande parte baseados nas modificações empíricas de algumas formulações básicas. As exigências consideradas ideais variam amplamente entre os genótipos das plantas e sistemas de cultura. Há uma boa evidencia de que a diferença de gradiente de concentração entre o meio e o tecido do explante tem a difusão como forma de absorção de minerais pelas plântulas cultivadas *in vitro*. A concentração dos elementos nos tecidos é freqüentemente proporcional à concentração inicial do meio de cultura. Porém, o teor de nutrientes nos

tecidos pode ser mantido, embora os nutrientes dos meios de cultura sofram depleção progressiva. Uma possível explicação é que a depleção de minerais do meio é equilibrada pela remoção de água, assim mantendo um gradiente de concentração. Um efeito que difunde o estudo de nutrição das plantas é a ocorrência concomitante de crescimento de planta e absorção de minerais. É difícil determinar a causa e o efeito. Existem algumas indicações de que a parada no crescimento pode ser precedida por uma redução na absorção. Uma quantidade total maior de minerais é absorvida do meio, assim como aumento de biomassa das plantas (RAMAGE; WILLIAMS, 1991).

Calvet et al. (2002), mostraram que apesar da importância da nutrição mineral no crescimento de plântulas *in vitro*, poucos estudos abordaram a absorção ou a otimização dos meios usados nas culturas *in vitro*. Como as plântulas *in vitro* crescem em condições anormais e podem não ter raízes, elas podem usar diferentes mecanismos de absorção mineral do que plantas crescendo em condições *ex vitro*. Para examinar essa possibilidade, plântulas de *Gypsophila paniculata* foram cultivadas em meios de cultura nos quais se modificaram as concentrações de potássio ou cálcio.

A análise química mostrou um correlato linear entre a concentração de potássio ou cálcio no meio de cultura e o tecido das plântulas. A forte correlação entre a concentração do meio e teor de nutriente na plântula cultivada *in vitro* estava provavelmente relacionada a ausência de sistema radicular, sugerindo que a absorção é por difusão passiva. Entretanto interações ocorreram entre a absorção de potássio, cálcio e magnésio, sugerindo que outros mecanismos provavelmente estão envolvidos na regulação da concentração mineral nos tecidos (CALVET et al., 2002).

De acordo com Terror (2001) estudando meios nutritivos *in vitro*, mostrou que a concentração crítica do mineral pode ser mantida usando sistema cultura de tecido, relacionando a concentração de potássio e cálcio *in vitro* com os dados da espécie em condições *ex vitro*.

Segundo Ramage; Williams (2003) poucos estudos tem sido conduzidos para melhor esclarecer os efeitos os efeitos da nutrição mineral no desenvolvimento de órgãos (brotos, raízes e flores) e toda a forma e estrutura da planta (morfogênese). É surpreendente, pois os minerais são os principais componentes dos meios de cultura de tecido com uma combinação particular para cada espécie, usualmente determinado por

manipulação empírica de uma ou mais combinações de formulações publicadas. Frequentemente somente um tipo de meio é usado durante o cultivo, embora essa formulação possa não ser ótima para os diferentes estágios do crescimento e desenvolvimento do explante. Os mesmos autores concluíram que os minerais parecem exercer um importante papel na regulação da morfogênese da planta e não apenas no crescimento. O contínuo fornecimento, absorção, transporte e metabolismo dos diferentes minerais parece variar entre os diferentes estágios de iniciação dos órgãos e dos tecidos meristemáticos e de crescimento. O balanço nutricional do nitrogênio, fósforo e cálcio são essenciais para a morfogênese e o crescimento, enquanto íons como potássio, magnésio e enxofre parecem exercer papel de suporte. É visível a importância do estímulo de alguns micronutrientes, havendo uma clara necessidade de explorar seu papel morfogênico com mais detalhe. Para o conhecimento final do papel dos minerais e outros fatores na regulação do padrão do desenvolvimento e subsequente crescimento é necessário encontrar meios mais precisos para determinação de quando o embrião e a indução do meristema ocorrem. O crescimento do uso de ferramentas da genética molecular para entendimento da inter-relação entre os genes durante o desenvolvimento das plantas está avançando rapidamente o nosso conhecimento desses processos.

Segundo Ramage; Williams (2003), a absorção de nutrientes minerais *in vitro* foi afetada por fatores como a composição dos meios de culturas, composição do tecido da planta e o ambiente de cultivo. Foi observado um padrão geral de absorção similar as plantas cultivadas *ex vitro*, com exceção de cálcio, cujo teor absorvido foi menor *in vitro*. Considerou a definição desses fatores como o primeiro passo para o desenvolvimento de um modelo para estimar a composição de meios de culturas satisfatórios, baseada na análise de tecidos de plantas com crescimento *ex vitro*.

Segundo Monteiro et al. (2000) o sistema de cultura de tecido depende do equilíbrio de uma série de fatores como os reguladores de crescimento, luz, temperatura, pH e nutrientes, entre outros. O nutriente é responsável por funções específicas no metabolismo, como constituintes de proteínas, aminoácidos, características estruturais e também das reações enzimáticas, potencial osmótico, entre outras. A deficiência de minerais em plantas pode causar desordens metabólicas que são manifestadas como mudanças bioquímicas, fisiológicas e morfológicas de acordo com o nutriente e nível de deficiência. Assim,

Monteiro et al. (2000) trabalhando com *Passiflora edulis*, fizeram diversas modificações na composição inorgânica dos meios MS de acordo com deficiência mineral, principalmente de ferro e cálcio e possível fitotoxicidade do cloro, cujas concentrações do novo meio foram baseadas na composição mineral de folhas de plantas jovens e sadias.

Segundo Gómez, et al. (1999); Amaral (2003) o fator limitante para máxima absorção e crescimento ótimo foi que os minerais não estavam adequadamente disponíveis no meio de cultura. Com baixa disponibilidade de minerais, a depleção ocorreu rapidamente e a absorção e crescimento ficaram prejudicados. Os nutrientes minerais determinaram o crescimento e o desenvolvimento. Para testar a hipótese de que a absorção mineral foi proporcional a concentração inicial dos minerais no meio. Gómez, et al. (1999) estudaram a taxa de difusão dos minerais nos explantes de bananeiras (*Musa acuminata* var. Dwarf Cavendish) *in vitro* adicionando ao meio MS os minerais inorgânicos P,S,K,Ca,Mg,Na, nas concentrações 0 MS; 0,2 MS; 1MS e 2 MS. Os resultados mostraram que o crescimento e a taxa de multiplicação eram associados a taxa de disponibilidade mineral e absorção. O crescimento dos explantes de bananeiras foram relacionados a taxa de absorção mineral durante o cultivo, especialmente no primeiro mês. A absorção mineral pelos explantes foi proporcional a disponibilidade dos nutrientes no meio de cultura. A difusão foi o processo dominante na disponibilidade mineral *in vitro*. Baixa taxa de difusão de minerais no meio solidificado com ágar foi a principal razão para a baixa absorção de nutrientes e aparecimento de sintomas de deficiência nos explantes *in vitro*.

Devido ao grande numero de meios de cultura *in vitro* usado na micropropagação, Terror (2001), propôs um método para otimizar e sistematizar a concentração de micronutrientes a ser usada em um determinado meio de cultura. Consistiu em formular meios com teores de macronutrientes determinados nas folhas coletadas no período de crescimento ativo. A multiplicação de seis cultivares de porta-enxertos de amendoeira e uma de ameixeira foi comparada em meio específico formulado a partir do teor de macronutrientes das folhas e os macronutrientes do meio MS, sendo que todas as formulações continham micronutrientes no meio MS. Os resultados sugeriram claramente que a formulação específica de macronutrientes influenciou positivamente a multiplicação dos diferentes porta-enxertos.

De acordo com Amaral (2003), o crescimento de plantas, órgãos, tecidos e células *in vitro* depende do desenvolvimento de meios de cultura otimizados para a perfeita interação de componentes essenciais como fitorreguladores, fonte de carbono e nutrientes minerais. Os fatores que limitam o crescimento *ex vitro*.

Leifert et al. (1995) mostraram que os dados sobre a depleção de nutrientes em meio de cultura superaram, finalmente, o conceito errôneo de que os nutrientes estão disponíveis em quantidades suficientes nas células das plântulas e no meio de cultura, não limitando o crescimento. Esse conceito estava claramente equivocado e os pesquisadores concluíram que certos nutrientes minerais e carboidratos poderiam sofrer depleção, limitando o crescimento *in vitro*, especialmente em sistemas de cultura de tecido comerciais, onde a relação plântula/meio é alta. Assim, os dados disponíveis indicaram que houve uma rápida absorção de alguns nutrientes, especialmente do fósforo, possivelmente alcançando o nível de luxúria. Dependendo da espécie, número de plântulas por frasco e intervalo de subcultivos, os nutrientes poderão alcançar a depleção no meio de cultura, limitando o crescimento. Entretanto, sem os dados do teor e valores críticos de nutrientes nas plantas, não seria possível determinar o nível que um nutriente em particular alcançaria o seu limite. Portanto, devido a habilidade das plântulas em acumular nutrientes, o teor encontrado no tecido das plântulas deveria, também ser monitorado para detecção do início da deficiência, ponto em que nutrientes armazenados nos tecidos foram esgotados e a taxa de crescimento e concentração de nutrientes no meio e na plântula permitiriam a melhor compreensão das razões das diferentes deficiências nutricionais, tais como: Ligação química, precipitação do meio, absorção limitada, depleção do meio e reserva de nutrientes nas plântulas. Tais estudos permitiriam a adoção da estratégia correta para resolver a redução de crescimento causada por deficiência nutricional, bem como permitirá o estudo da competição entre os nutrientes e os seus efeitos na taxa de crescimento.

1.6.2 Carboidratos.

As exigências nutricionais para o estabelecimento de crescimento de um tecido *in vitro* podem variar com o genótipo, onde explantes de diferentes partes podem requerer meios distintos (ATAHYDE, 1992). Os açúcares tem fundamental importância no

estabelecimento do potencial osmótico do meio de cultivo, sendo que a sacarose ao ser autoclavada é hidrolisada em frutose e glicose, compostos osmoticamente ativos (SINGHA et al., 1987).

Murashige (1974) afirmou que vários açúcares tem sido utilizados em cultura de tecidos, entretanto esses não têm sido superiores a sacarose que tem dados boas respostas nas taxas de crescimento na maioria das espécies vegetais.

Diversas concentrações desse açúcar vêm sendo testadas com o objetivo de se estabelecer os melhores resultados para determinada cultura (GAVISH et al., 1991).

Pasqual et al. (1994) discorreu sobre a importância da adição de sacarose ao meio de cultura como fonte complementar de energia.

A presença de carboidrato é essencial para o enraizamento de muitas espécies “*in vitro*” (GRATTAPAGALIA; MACHADO, 1990), entretanto, sua necessidade vem sendo discutida por alguns autores. Os níveis de sacarose, normalmente usados em cultura de tecidos, podem inibir a síntese de clorofila (GEORGE; SHERRINGTON, 1984). De acordo com Kozai (1991), na presença de açúcar, as plântulas não desenvolvem capacidade fotoautótrofica, podendo causar crescimento reduzido e morte de mudas durante a fase de aclimação.

2-OBJETIVOS.

2.1 Objetivo geral.

Ajustar um meio de cultivo, testando diferentes concentrações de sais do meio MS e sacarose, e diferentes regimes de luz, para dar suporte a multiplicação *in vitro* e microenxertia de tomateiro utilizando a jurubebeira como micro-porta-enxertos.

2.2 Objetivos específicos.

Comparar a eficiência de diferentes concentrações de extrato etanólico de *Lippia microphylla* Cham. com hipoclorito de sódio na desinfestação de sementes de jurubebeiras *in vitro* como micro-porta-enxerto e sementes de tomateiros como cavaleiros.

Avaliar diferentes concentrações de sacarose e de sais do meio nutritivo MS utilizado para o cultivo de tomateiros (*Lycopersicon esculentum* Mill) e a jurubebeira (*Solanum palinacanthum* Dun.);

Avaliar a interação entre sacarose e de sais do meio nutritivo MS com diferentes regimes de luz na micropropagação de tomateiros (*Lycopersicon esculentum* Mill) e a jurubebeira (*Solanum palinacanthum* Dun.); e

Verificar a eficiência das metodologias de microenxertia de T-invertido e corte em bisel.

3- MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Material vegetal.

Foram utilizados neste trabalho plântulas de tomateiros e jurubebeiras, cultivadas *in vitro*. As plântulas foram oriundas de sementes coletadas em campo e no banco de germoplasma da Universidade Federal de Roraima – UFRR, sendo desinfestadas por meio de diferentes métodos de tratamentos e cultivadas em meios nutritivos pré-determinados em experimentos com variações nos teores de sais sacaroses e condições ambientais.

3.1.1 Local de coleta

A coleta dos frutos de jurubebeiras *Solanum palinacanthum* Dun. para obtenção de sementes foi realizada no início do verão de 2005, no Campus do Cauamé da Universidade Federal de Roraima, localizado no extremo norte do Brasil, de latitude 2° 49' 7" norte, longitude 60° 39' 45" a oeste de Greenwich, com altitude de 90m acima do nível do mar, clima segundo classificação de Köpen, Aw, com período seco definido, precipitação média anual de 1.584,1mm e umidade relativa do ar de 76% (COUTINHO, 1995).

Em área previamente selecionada para coletas das sementes, as plantas foram georreferenciadas com uso do GPs e marcados os três pontos de coleta: Ponto 01: N 02° 52' 21,5", W 60° 42' 41,3"; Ponto 02: N 02° 51' 32,6", W 60° 37' 25,3" e o Ponto 03: N 02° 51' 32,7", W 60° 37' 25,4". Também foram utilizadas sementes de jurubebeiras do banco de germoplasma de hortaliças da Universidade Federal de Roraima.

3.1.2 Identificação botânica do material

Para a identificação do material coletado foram encaminhados, ao herbário do Instituto de Pesquisa da Amazônia, (INPA-AM), exemplares de jurubebeiras em exsiccatas com as devidas observações morfológicas do material coletado. Após avaliações, utilizando chaves de identificação botânica e comparações com outras exsiccatas existentes e catalogados no INPA (AM) determinou-se que o material pertencia à espécie *Solanum palinacanthum* Dun. Conforme figuras abaixo.

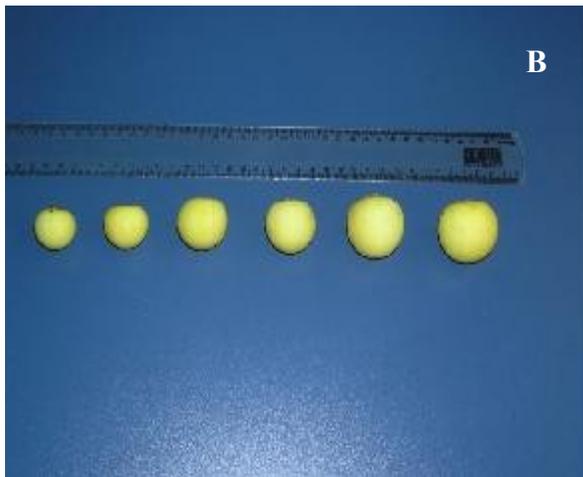


Figura 1. A, exsicata da planta de *Solanum palinacanthum* Dun., mostrando folhas, inflorescência, ramos e espinhos; B, frutos maduros de *S. palinacanthum* com diferentes tamanhos; C, sementes de *S. palinacanthum* Dun.

3.2 Desinfestação das sementes com extrato etanólico de *Lippia microphylla* Cham.

3.2.1 Solução estoque de extrato de *L. microphylla* Cham.

Inicialmente foi preparada solução estoque do extrato etanólico de *L. microphylla* Cham com uma concentração final de 1mg.mL^{-1} . Posteriormente por meio de diluições com álcool etílico 70% foram preparadas soluções nas seguintes concentrações: a) 1:1; b) 1:2,5; c) 1:5,0; d) 1:7,5; e) 1:10,0.

3.2.2 Desinfestação das sementes de jurubebeira e tomateiro com extrato etanólico de *L. microphylla* Cham.

Objetivando avaliar o potencial de desinfestação de sementes de jurubebeiras (*Solanum palinacanthum* Dun.), e tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill.) usando extrato etanólico de *L. microphylla* foi montado um experimento em DIC (Delineamento Inteiramente Casualizado) com 06 tratamentos (Soluções preparadas como descrito no item anterior e utilizando como controle a solução de hipoclorito de sódio a 1,25%) e 10 repetições. As sementes foram imersas em solução de álcool etílico a 70% para quebrar a tensão superficial e posteriormente foram transferidas para Erlenmeyer de 250 ml contendo os tratamentos com soluções desinfestantes por 15 minutos. Após esse tempo, as sementes foram enxaguadas quatro vezes em água estéril, e posteriormente foram inoculadas em tubos de ensaios contendo 10 ml de meio de cultura. Todas as operações foram realizadas sob condições assépticas em câmara de fluxo laminar e transferidas para sala de cultura submetidos a temperatura de 26°C e escuro total por 30 dias. Foram realizadas avaliações diárias de germinação. Após 30 dias de cultivo foi realizada análise de variância, sendo que quando significativo a 5% de probabilidade pelo teste F, foi realizado o teste de Tukey a 5% de probabilidade para comparação entre as médias dos tratamentos. Utilizou-se o programa computacional Genes para fazer as análises estatísticas (CRUZ, 2004).

3.3 Avaliação da interação das concentrações de sais do meio MS e as condições de cultivo (claro e escuro) na micropropagação de jurubebeira (*Solanum palinacanthum* Dun.) e tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill.).

Para avaliar se houve interação entre macro e micronutrientes e os dois regimes de luz: a) Claro (fotoperíodo de 16 horas de luz e oito de escuro); e b) Escuro (escuro total). Foi montado um experimento em fatorial simples (5 concentrações de sais e 2 regimes de luz), aplicados a jurubebeiras e tomateiros, sendo que cada tratamento constou de 4 repetições. As concentrações utilizadas foram: 0,0 de sais; MS normal; MS $\frac{1}{2}$ de força; MS $\frac{1}{4}$ de força e MS $\frac{1}{8}$ de força. Após 30 dias da inoculação foram avaliadas as seguintes características: comprimento e diâmetro em (mm) do explante, medidos com auxílio de um paquímetro. Os dados obtidos foram submetidos a análise de variância utilizando-se o programa Genes (CRUZ, 2004).

3.4 Avaliação da interação das concentrações de sacarose e condições de cultivo (claro e escuro) na micropropagação de jurubebeira (*Solanum palinacanthum* Dun.) e tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill.).

Para avaliar se houve interação entre a concentração de sacarose e os dois regimes de luz: a) Claro (fotoperíodo de 16 horas de luz e oito de escuro); e b) Escuro (escuro total), foi montado um experimento em fatorial simples com 7 concentrações de sacarose (0,0; MS 5,0 g.L⁻¹; MS 10,0 g.L⁻¹; MS 15,0 g.L⁻¹; MS 20,0 g.L⁻¹; MS 25,0 g.L⁻¹ e MS 30 g.L⁻¹) e 2 regimes de luz: claro (16 horas de luz e 8 de escuro) e escuro total, aplicados a jurubebeiras e tomateiros, sendo que cada tratamento constou de 5 repetições. Os meios foram preparados como descritos no item 3.3. Foram utilizados como explantes segmentos de hipocótilos de jurubebeira e tomateiro com 10 mm de comprimento. Após 30 dias da inoculação foram avaliadas as seguintes características: comprimento e diâmetro do explante em (mm), com auxílio de um paquímetro. Os dados obtidos foram submetidos a análise de variância utilizando-se o programa Genes (CRUZ, 2004).

3.5 Protocolo para microenxertia em T-invertido e corte em bisel.

Tendo em vista que trabalharíamos com dois métodos de microenxertia T-invertido e corte em bisel e não termos conhecimento através de dados bibliográficos da aplicabilidade de tais práticas para tomateiros em jurubebeiras, determinamos o estabelecimento da elaboração de um protocolo para realização destas práticas.

3.6 Comparação entre os percentuais de pegamento de microenxertia utilizando T-invertido e corte em bisel.

Após a determinação da concentração ótima de macro e micronutrientes, de sacarose e do melhor regime de luz, montou-se um experimento para avaliar qual o melhor método para realizar a microenxertia, utilizou-se duas metodologias: T-invertido e Corte em bisel. Para tanto, foi utilizado como micro-porta-enxertos explantes de jurubebeiras (*Solanum palinacanthum* Dun.), com 10 mm de comprimento, micropropagados *in vitro* e como micro-enxerto explantes (ápices caulinares) de tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill.) também oriundos de plantas micro-propagadas *in vitro*. A Figura 1 ilustra como foram realizadas as operações de microenxertia, tanto em T-invertido como de corte em bisel. As operações foram realizadas com auxílio de uma lupa binocular utilizando-se bisturi e pinça. Depois de realizados os cortes em T-invertido e em bisel, foram realizadas as incisões, a partir das gemas apicais, dos ápices caulinares, medindo 0,1 a 0,2 mm de comprimento, os quais foram transferidos para as bases dos cortes em T-invertido e dos cortes em bisel. Terminado o processo de microenxertia as plântulas microenxertadas foram transferidas para tubos de ensaios contendo meios de culturas mais adequados ao desenvolvimento das plantas e incubadas em sala de crescimento com temperatura de 26°C, 50 a 60 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ de intensidade luminosa e fotoperíodo de 16h de luz e 08h de escuro. Foram realizadas avaliações diárias de índices de sobrevivências dos enxertos durante quatro semanas depois de realizada a microenxertia e os resultados foram apresentados em percentuais de pegamento.

Abaixo podemos observar fotografias de partes envolvidas no processo de microenxertia, gemas apicais e explantes caulinares (cavalo e cavaleiro), respectivamente

de tomateiros *Lycopersicon esculentum* Mill e jurubebeiras *Solanum palinacanthum* Dun. com detalhes dos cortes em T-invertido e em bisel, além de explantes caulinares de jurubebeiras microenxertados e cultivados *in vitro* em câmara de cultura para aclimação e desenvolvimento inicial, pelos métodos propostos neste trabalho.



Figura 2. A, gema apical de *L. esculentum* Mill (cavaleiro); B, explante caulinar de *S. palinacanthum* com detalhe do corte em T-invertido (cavalo); C, explante caulinar microenxertado em T-invertido; D, deposição do cavaleiro na base do T-invertido; E, explante caulinar microenxertado pelo método do corte em bisel; F, explante caulinar microenxertado e cultivado em meio MS na câmara de cultivo.

4- RESULTADO E DISCUSSÃO.

4.1 Desinfestação das sementes com extrato etanólico de *Lippia microphylla* Cham.

Os resultados da desinfestação de sementes de tomateiro e jurubebeira realizada com extrato etanólico de *L. microphylla* Cham, encontra-se na tabela 1. Houve diferença significativa entre os tratamentos pelo teste de F em nível de 5% de probabilidade. Observou-se que os melhores tratamentos para desinfestar sementes de jurubebeiras foi o extrato etanólico de *L. microphylla* Cham, na concentração de 1:7,5 (tabela 2) e hipoclorito de sódio a 1,25%. No processo de desinfestação de sementes algumas substâncias químicas podem interferir na qualidade fisiológica da semente dependendo da concentração e do tempo de exposição, dentre elas o hipoclorito sódio, utilizado neste experimento como solução controle. Neste estudo a solução de extrato etanólico na concentração de 1:7,5 (T5) não diferiu do hipoclorito a 1,25% de cloro ativo. Devido ao efeito fitotóxico do hipoclorito, a utilização do extrato etanólico de *L. microphylla* é uma alternativa melhor para desinfestação. Resultados similares foram obtidos por Carvalho et al., (2004); Schwenberg et al., (2005) trabalhando também com extrato etanólico dessa planta na desinfestação de sementes tomateiro (*Lycopersicon esculentum* L.) e de maracujazeiro (*Passiflora edullis* f. *flavicarpa*), respectivamente. Palmeira et al., (2004) também obteve

resultados promissores ao trabalhar com o extrato etanólico de *Lippia microphylla* para desinfestação e germinação de sementes de jurubebeira afirmando que o óleo essencial da Sálvia-do-campo, como a planta é conhecida, apresenta 24,42% de timol, substância reconhecidamente como excelente germicida.

Tabela 1. Resumo da análise de variância para diferentes concentrações de extrato etanólico de *L. microphylla* Cham. e hipoclorito de sódio a 1,25% para desinfestação de sementes de tomateiro e jurubebeira.

FV	GL	Tomate		Jurubeba	
		QM	F	QM	F
Tratamentos	05	17,77	7,56**	17,98	7,68**
Resíduo	54	2,35		2,34	
TOTAL	59		-		

** Significativo a 1% de probabilidade pelo teste F.

Tabela 2. Comparação entre as médias das sementes germinadas *in vitro* com diferentes concentrações de extrato etanólico de *L. microphylla* Cham. e hipoclorito de sódio a 1,25%.

Tratamentos	Médias	
	Tomate	Jurubeba
1	4,0 ^a	4,0 ^a
2	2,0 ^b	2,0 ^b
3	3,0 ^a	3,0 ^a
4	2,0 ^b	2,0 ^b
5	3,0 ^a	4,0 ^a
6	1,0 ^b	1,0 ^b

As médias seguidas de uma mesma letra, na coluna, pertencem a um mesmo grupo pelo critério de Scott-Knott, em nível de 5% de probabilidade. 1 = hipoclorito 1,25%, 2 = extrato etanólico de *L. microphylla* 1:1; 3 = extrato etanólico de *L. microphylla* 1:2,5; 4 = extrato etanólico de *L. microphylla* 1:5,0; 5 = extrato etanólico de *L. microphylla* 1:7,5; 6 = extrato etanólico de *L. microphylla* 1:10,0.

Os tratamentos 1, 3 e 5, apresentaram os melhores resultados em termos de médias levando-se a crer em um maior potencial de desinfestação apesar dos resultados não terem diferidos estatisticamente. Ao contrário dos dados encontrados neste trabalho, houve contaminação generalizada, por bactérias, no trabalho desenvolvido por Sato et al., (2001) quando desinfestou os explantes com hipoclorito por 15 minutos.

Na mesma linha de pesquisa Chaves et al., (2004) utilizando hipoclorito de sódio, obteve resultados positivos quando trabalhou com 1% de cloro ativo na concentração de 20% v/v que equivale a 1 – 1,5% do cloro ativo, para desinfestação de explantes de Prunus cv. Mr. S. Os tratamentos 3 e 5, 1:2,5 e 1:7,5 de extrato de Sálvia do campo, respectivamente, foram tão efetivos quanto o tratamento 1, hipoclorito a 1,25%, sendo que aqueles devem ser utilizados em substituição devido aos efeitos fitotóxicos desse último, como constatado por Monteiro et al., (2000) trabalhando com maracujá (*Passiflora edulis* f. flavicarpa).

4.2 Determinação da interação entre a concentração de sais do meio de cultivo MS e diferentes regimes de luz para a micropropagação de jurubebeira (*S. palinacanthum* Dun.) e tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill.)

Não houve interação significativa entre as diferentes concentrações de sais do meio MS e os regimes de luz (claro e escuro) em relação às características avaliadas. As diferentes concentrações de sais do meio MS aplicados em tomateiro e jurubebeira não diferiram entre si em nível de 5% de probabilidade pelo teste de F em relação às duas características avaliadas individualmente (tabela 3 e tabela 4). Contrastando Villa et al. (2004); Santos et al. (2006) obtiveram resultados significativos utilizando diferentes concentrações de sais do meio MS, cujas melhores concentrações foram: meio MS 150% e 50% respectivamente, trabalhando com amoreira preta (*Rubus* sp.) e planta nativa ornamental (*Syngonanthus mucugensis* Giul.).

Terrer (2001) trabalhando com a taxa de difusão dos minerais nos explantes de banana (*Musa acuminata* var. Dwarf Cavendish) *in vitro* adicionando ao meio MS os minerais inorgânicos P, S, K, Ca, Mg, Na, nas concentrações 0 MS; 0,2MS; 1MS e 2MS concluíram que o crescimento e a taxa de multiplicação eram associados à taxa de disponibilidade mineral e absorção, contrariamente aos dados encontrados nesse trabalho. Ainda o autor acima verificou que em seis cultivares de porta-enxertos de amendoeira e uma de ameixeira a formulação específica de macronutrientes influenciou positivamente a multiplicação dos diferentes porta-enxertos.

Pasqual et al. (1994) observou que diferentes concentrações de sais em samambaia ornamental não encontraram significância para a determinação do número de folhas por explante, sendo entretanto significativo quanto ao comprimento de folhas e o número de brotações.

Tabela 3. Resumo da análise de variância das características de comprimento e diâmetro de caule de tomateiro *in vitro* em relação a diferentes concentrações de sais no “claro” e no “escuro” respectivamente.

FV	GL.	Claro		Escuro	
		Comp.(mm)	Diâmetro(mm)	Comp.(mm)	Diâmetro.(mm)
Tratam.	4	0,0063 ^{ns}	1,6398 ^{ns}	0,0064 ^{ns}	0,0116 ^{ns}
Resíduo	15	0,0024	1,7115	0,0036	0,0150
TOTAL	19	0,0626	32,2324	0,0809	0,273
Média		0,0690	0,4775	0,0515	0,140
CV%		72,2702	273,98	117,57	87,7147

^{ns} Não significativo pelo teste F a 5% de probabilidade.

Tabela 4. Resumo da análise de variância das características de comprimento e diâmetro de caule de jurubeiras *in vitro* em relação a diferentes concentrações de sais no claro e no escuro respectivamente.

FV	GL.	Claro		Escuro	
		Comp.(mm)	Diâmetro(mm)	Comp.(mm)	Diâmetro.(mm)
Tratam.	4	0,3158 ^{ns}	0,2280 ^{ns}	0,0041 ^{ns}	3,8064 ^{ns}
Resíduo	15	0,0121	2,0073	0,0041	1,9995
TOTAL	19	0,3087	31,0220	0,0781	45,2195
Média		0,1440	0,9300	0,0705	0,8550
CV%		76,5780	152,34	90,8982	165,38

^{ns} Não significativo pelo teste F a 5% de probabilidade.

4.3 Determinação da interação entre a concentração de sacarose e diferentes regimes de luz para a micropropagação de tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill.) e jurubeira (*S. palinacanthum* Dun.)

Não houve diferença significativa entre os tratamentos e nem para a interação, para jurubeira. Para tomateiro não foi observado efeito significativo para tratamentos, porém a interação, Tratamento x Ambiente, foi significativa (tabela 5).

Tabela 5. Resumo da análise de variância das características Diâmetro de caule de tomateiro *in vitro* em relação a diferentes concentrações de sacarose no claro e no escuro, respectivamente.

F.V.	G.L.	Q.M.	F
Tratamentos	6	0,00328	0,3066 ^{ns}
Ambientes	1	0,0000003185	0,00013 ^{ns}
Trat. x Amb.	6	0,0107	4,37294*
Trat/Amb	12	0,00699	2,85684*
Trat/Amb 1	6	0,00939	3,83650*
Trat/Amb 2	6	0,00459	1,87718 ^{ns}
Residuo	56	0,00245	
Total	69		
Média	0,053		
CV%	93,323672		

ns-não significativo; * significativo pelo teste F, em nível de 5 de probabilidade.

Na comparação entre as medias pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade a maior concentração foi o tratamento mais efetivo em relação a característica diametro do explante (tabela 6).

Tabela 6. Comparação entre as médias de diâmetro de explantes de tomateiro cultivados em diferentes concentrações de sacarose em relação ao diâmetro do explante na presença da luz.

Tratamentos	Médias de diâmetro do explante
1	0,052 ^{ab}
2	0,058 ^{ab}
3	0,094 ^{ab}
4	0,032 ^b
5	0,068 ^{ab}
6	0,028 ^b
7	0,106 ^a

Teste de Duncan a 5% de probabilidade. 1 = 0,0; 2 = 5,0 g.L⁻¹; 3 = 10,0 g.L⁻¹; 4 = 15,0 g.L⁻¹; 5 = 20,0 g.L⁻¹; 6 = 25,0 g.L⁻¹ e 7 = 30 g.L⁻¹

Alguns pesquisadores reportam efeitos positivos da adição da sacarose ao meio de cultura, tais como: Fridborg, (1971); Sharp, (1971); Flores et al. (1999) trabalhando com cebola (*Allium cepa*); culturas de embriões e macieira (*Malus prunifolia* Willd, Borkh) respectivamente. Estes verificaram maior desenvolvimento das brotações e gemas com o

aumento das concentrações. Entretanto Paiva et al. (2004) analisando o desenvolvimento *in vitro* de estrelícia (*Strelitzia reginae* Banks.) concluíram que o desenvolvimento de embriões com o transcorrer de 140 dias obtiveram melhores taxas quanto à parte aérea quando utilizou 20,64 g.L⁻¹ de sacarose, regredindo este índice para uma inibição abrupta quando utilizou taxa zero de sacarose ou quando elevou para (60 g.L⁻¹).

Dados obtidos por Athayde (1992) trabalhando com diferentes concentrações de sacarose na propagação *in vitro* dos porta-enxertos cravo e trifoliata, detectou que doses de sacarose a partir de 30g.L⁻¹ não promovem o aumento significativo no número de brotos, demonstrando e reforçando os resultados oriundos deste trabalho que esta é a dose economicamente adequada para obtenção de melhores diâmetros de explantes. Da mesma forma, Leite et al. (2000) detectaram, avaliando diferentes concentrações de sacarose e intensidades de luz em pereiras, que a sacarose afetou o enraizamento do porta-enxerto, sendo o maior percentual de enraizamento obtido com 20g.L⁻¹ de sacarose, enquanto que no tocante a formação de raízes secundárias baixou de 80% em 30g.L⁻¹ de sacarose para 0% na ausência de sacarose.

4.4 Protocolo para elaboração da microenxertia através dos cortes em T-invertido e em bisel.

Para realização da microenxertia através dos cortes em T-invertido e bisel, necessário se faz seguir alguns requisitos também exigidos na microenxertia de espécies frutíferas. Para isto devemos obedecer a parâmetros de total assepsia, trabalhando em câmara de fluxo laminar e estabelecer seletividade rígida na escolha dos cavalos e cavaleiros quanto ao tamanho, compatibilidade entre as espécies envolvidas, finalidade, patógenos a serem eliminados, benefícios para a região onde vão ser utilizados, custos e qualidade do produto final.

Foram utilizadas gemas apicais de tomateiros retiradas sob condições assépticas com uso de pinças e bisturis em câmara de fluxo laminar com tamanho de 0,1 a 0,2mm e umedecidas com solução antioxidante, usadas como cavaleiros. Nos explantes caulinares de jurubeiras a serem microenxertados realizou-se cortes transversais de decapitação e de eliminação da parte do epicótilo e gemas cotiledonares, a seguir gemas apicais e explantes

caulinares foram umedecidos com solução antioxidante, de acordo com o que recomenda Zanol et al. (1997).

Seguindo a metodologia proposta neste trabalho, com uso de pinça estéril em câmara de fluxo laminar, retiram-se às mudas das espécies cavalos (Jurubebeiras) e cavaleiros (Tomateiros) cultivadas *in vitro* e inicia-se o processo de eliminação de cotilédones e gemas cotiledonares, decapitando-se parte do epicótilo e da raiz do cavalo deixando-o com aproximadamente 10mm, seguido do corte do ápice caulinar com dois ou três primórdios foliares medindo 0,1 a 0,2mm que será enxertado no cavalo. Efetua-se o corte no cavalo em forma de T-invertido ou em bisel com auxílio de bisturi. Em seguida executa-se a inserção do micro-enxerto do cavaleiro na fenda inferior horizontal do T-invertido, ou na base do corte em bisel. Recomenda-se o uso de substâncias antioxidantes nas partes envolvidas, antes e após a microenxertia para maior eficiência no pegamento e sobrevivência do micro-enxerto. Finalizando, com auxílio de pinça introduz-se a plântula microenxertada em tubo de ensaio contendo meio de cultivo MS, acondiciona-se em câmara de cultura com temperatura de 27°C e luminosidade controlada em 50 a 60 $\mu\text{mol.M}^{-2}.\text{S}^{-1}$ e fotoperíodo de 16 horas por aproximadamente 30 dias. Após este período quando o microenxerto emitir 2 ou 3 folhas, as plântulas estarão aptas para o transplântio. Abaixo figura demonstrativa do protocolo:

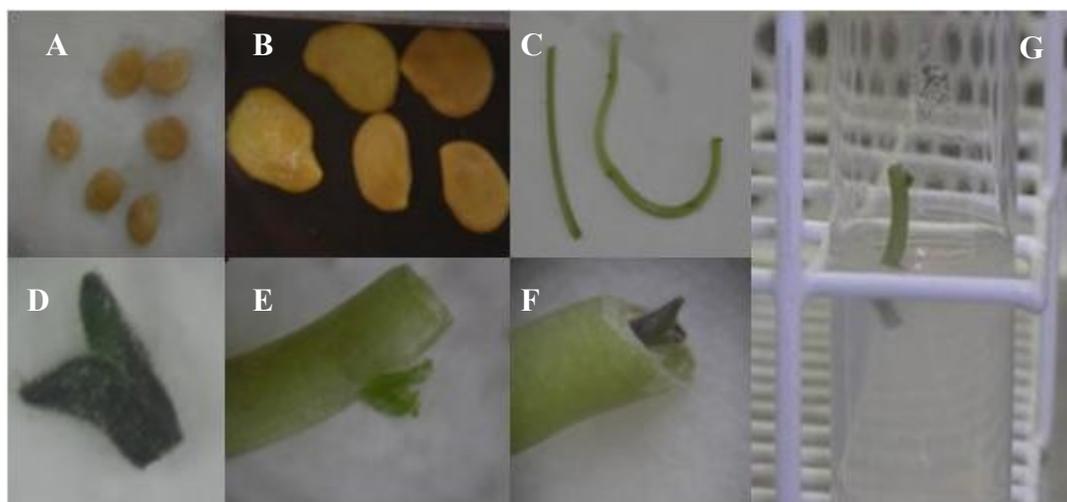


Fig. 3. A, sementes de tomateiro; B, sementes de jurubebeira; C, explantes caulinares de jurubebeira (cavalos) D, Gema apical de tomateiro (cavaleiro) E, Gema microenxertada em T-invertido; F, Gema microenxertada em corte bisel; G, explante caulinar microenxertado e cultivado em meio MS em câmara de cultivo.

4.5 Comparação entre os percentuais de sobrevivência de microenxertia utilizando T-invertido e corte em bisel.

A percentagem de viabilidade dos microenxertos, por um período de quatro semanas são mostrados na tabela 7. A metodologia de corte em T-invertido (figura 3), em termos percentuais, mostrou-se mais eficiente do que corte em bisel, atingindo ao final de 4 semanas 50% de pegamento do primeiro contra 0,0 % do ultimo. Resultados encontrados na literatura demonstraram que o tratamento com reguladores de crescimento no ponto de enxertia aumentou significativamente a viabilidade dos enxertos; (ALSKIEF; VILLEMUR, 1977; MARTINEZ et al., 1979; MOSELLA-CHANCEL et al., 1980b; JONARD, 1986; STARANTINO; CARUSO, 1988).

Outra explicação para esse baixo índice de pegamento na 4ª semana pode ser devido a oxidação dos tecidos, que segundo Navarro (1988) trabalhando com microenxertia de citrus verificou que o processo de oxidação prejudicou o pegamento dos enxertos, sendo recomendado usar uma solução antioxidante mergulhando o explante ou aplicar uma gota do antioxidante sobre o porta enxerto imediatamente antes de colocar o cavaleiro. Outro fator favorável ao aumento do percentual de sobrevivência do enxerto pode ser atribuído ao processo de aclimação em casa de vegetação após a microenxertia, conforme reportado por Zanol et al., (1997) estudando microenxertia em macieira (*Malus domestica* Borhk.).

Tabela 7. Percentagem de sobrevivência, dos microenxertos de tomateiro em jurubebeira, no período de 4 semanas após microenxertia utilizando corte em T-invertido e bisel.

Período	Técnica aplicada	Nº de Plantas microenxertadas	% sobrevivência ao longo de 4 semanas
1ª Semana	T-invertido	10	100
2ª Semana	T-invertido	10	60
3ª Semana	T- invertido	10	60
4ª Semana	T- invertido	10	50
1ª Semana	Bisel	10	90
2ª Semana	Bisel	10	70

3ª Semana	Bisel	10	0,0
4ª Semana	Bisel	10	0,0

A microenxertia de tomateiro em jurubebeira ainda é pouco pesquisada, portanto existem grandes lacunas, tais como, tamanho de explantes, concentrações de reguladores de crescimentos, usos de antioxidantes, que poderão contribuir para o sucesso de pegamento e sobrevivência dos microenxertos.

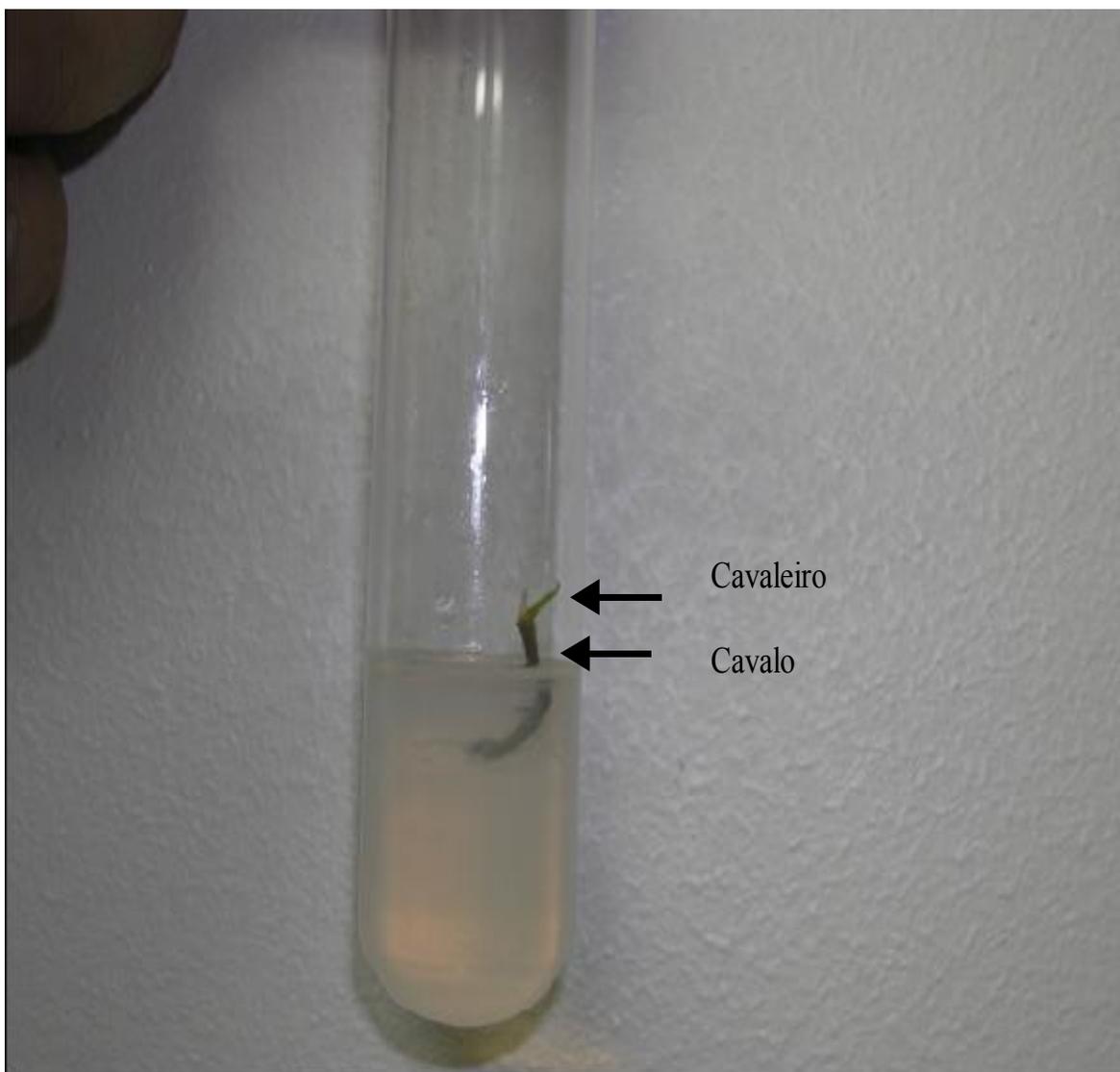


Figura 4. Detalhe da microenxertia em T-invertido, 7 dias após sua realização. A seta superior indica o cavaleiro de tomateiro (*Lycopersicon esculentum* L.) e a seta inferior indica o cavalo de jurubebeira (*Solanum palinacanthum* Dun).

5- CONCLUSÕES.

Nas condições estudadas o extrato etanólico de *Lippia microphylla* Cham. nas diluições 1:2,5 e 1:7,5 e hipoclorito de sódio foram os que proporcionaram as melhores taxas de desinfestação e germinação em tomateiros e jurubebeiras;

As diferentes concentrações de sais não interferiram no crescimento dos explantes em relação às características avaliadas, no entanto para sacarose, a concentração de 30g.L⁻¹ na presença de luz, foi mais eficiente no crescimento do diâmetro do explante para tomateiro;

Na jurubebeira não houve efeito da concentração de sais e sacarose quanto ao desenvolvimento dos explantes;

A microenxertia em T-invertido foi percentualmente superior a microenxertia em bisel.

REFERÊNCIAS

ALSKIEF, J.; VILLEMUR, P. Greffage *in vitro* d'apex sur des plantules decapitées de pommier (*Malus pumila* mill.) **Comptes Rendus de L'academie des Sciences**. Paris, Serie D, v.287, p. 1115-1118, 1977.

AMARAL, A.F.C. **Comportamento *in vitro* de Explantes de Matrizes de Cenoura (*Daucus carota* L.) Tratadas com Componentes Essenciais como Fitorreguladores e Fontes de Carbono**. São Paulo, 2003. 103f. Tese (Doutorado em Fitotecnia), Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz-ESALQ.

ATAHYDE, M.O. **Diferentes Concentrações de Sacarose e Sais na Propagação *in vitro* do “Cravo” e “Trifoliata”**. Lavras, 1992. 58f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) Escola Superior de Agricultura de Lavras, UFLA-MG.

BALDINI, E.M.; KUROZAWA, C. Comportamento de genótipos de tomateiro inoculados com *Xanthomonas campestris* pv. vesicatoria, agente da mancha bacteriana do tomateiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.15, p. 177-182, 1990.

BARRETO, M.; SCALOPPI, E.A.G. Doenças do tomateiro *Lycopersicon esculentum* Mill. **Boletim Técnico**. Jaboticabal, SP., 1999. Disponível em: <http://www.agroalerta.com.br/Tomateiro.htm>

BARROSO, G. M. **Sistemática de Angiospermas do Brasil**. Viçosa, MG: Ed.UFV. 1991. v.3

BONETTI, J.I.S.; PEREIRA, A.J.; BRIGHENTI, E.; KATSURAYAMA, Y.; TSUCHIYA, S. Situação atual e perspectiva de obtenção de cultivares e porta-enxertos de macieira resistentes às doenças, para a região subtropical. In: SEMINÁRIO SOBRE

FRUTICULTURA DE CLIMA TEMPERADO, 1, **Anais**. Florianópolis, , EPAGRI, 2001. v. 1, p.39-52.

BORÉM, A. **Melhoramento de plantas**. 2 ed., Viçosa, MG: UFV, 1998. 453 p.

BORGES, C.; CATTELAN, L. V; VARGAS, D.P; BOBROWSKI, V.L. **Avaliação Citotóxica de Formol e Hipoclorito de Sódio Utilizados na Desinfestação de Sementes em Cultura de Tecidos de Plantas**. Pelotas,RS: UFPel, 2004. Disponível em: <http://www.ufpel.edu.br/xivcic/arquivos/CB>.

CALVETE, E.O.; KÄMPF ,A.N.; SUZIN, M. Concentração de sacarose no enraizamento *in vitro* de morangueiro. **Horticultura Brasileira**, Brasília, DF, v. 20, n. 2, p. 186-191, 2002.

CARVALHO, A.L.M.; PALMEIRA, J.I.R.; SCHWENGBER, J.A.M.; RÊGO, E.R.; TAVEIRA, M.L.; RÊGO, M.M. Avaliação da eficiência de extrato etanólico de *Lippia microphylla* Cham. na desinfestação de sementes de jurubeba (*Solanum atropurpureum*).In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CULTURA DE TECIDOS DE PLANTAS, 2, 2005, Fortaleza, **Anais...**: Sociedade Brasileira de Melhoramento de Plantas, Viçosa, MG, 2005.

CARVALHO, A.L.M.; PALMEIRA, J.I.R.; SCHWENGBER, J.A.M.; RÊGO, E.R.; TAVEIRA, M.L.; RÊGO, M.M. Poder de desinfestação do extrato etanólico de *Lippia microphylla* Cham. em sementes de tomate (*Lycopersicon esculentum*). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CULTURA DE TECIDOS DE PLANTAS, 2, 2005, Fortaleza, **Anais...**: Sociedade Brasileira de Melhoramento de Plantas, Viçosa, MG, 2005.

CARVALHO, S.A., MACHADO, M.A. BAPTISTA, C.R.; MÜLLER, G.W. Shoot-tip grafting and ctv cross protection of the “centro de citricultura – IAC” citrus germoplasm collection. In: CONFERENCE OF THE INTERNATIONAL ORGANIZATION OF CITRUS VIROLOGISTS, 14, Campinas, 1998. **Abstracts**. Riverside: Internacional Organization of Citrus Virologists, 1998. p.112.

CHAVES, A.C.L; SCHUCH, M.W.; B, V.J. **Desinfestação de Explantes de *Prunus cv. mr. s. 2/5* com Hipoclorito de Sódio e Cálcio**. Pelotas, RS: UFPel, 2004.

COELHO NETO, R.A; NODA, H; BOHER, B. Agressividade de isolados de *Ralstonia solanacearum* provenientes de solanáceas no estado do Amazonas. **Summa Phytopathologica**, Manaus, v. 29, n. 2, p. 208-211, 2003.

CORREA, A. D.; BATISTA, S. R.; OVINHES, L. E. M. **Plantas Medicinais do Cultivo a Terapêutica**. Petrópolis: Vozes, 2003. 153 p.

COSTA, J. **Dicionário Rural do Brasil**. Rio de Janeiro: Campus, 2003. 427 p.

COUTINHO, O.L. **Efeito do Composto Orgânico de Resíduos Vegetais no Ciclo do Coentro em Boa Vista-RR**. Boa Vista, 1995, 37p. Monografia (Especialização em Produtos Naturais), Universidade Federal de Roraima-UFRR.

CRUZ, C.D. **PROGRAMA GENES (Versão Windows)**: aplicativo computacional em genética e estatística. Viçosa: UFV, 2001.

DICKISON, W.C. **Integrative Plant Anatomy**. San Diego, CA: Academy Press, 2000. 533p.

ESTRADA-LUNA, A.A.; LÓPEZ-PERALTA, C.; CÁRDENAS-SORIANO, E. “*In vitro* micrografting and the histology of graft union formation of selected species of prickly pear cactus (*Opuntia spp.*)”. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam., v.92, p. 317-327, 2002.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION. **Regional Office for the Near East**. Riverside: FAO, 2004.

FEDERAÇÃO DO COMERCIO. **RORAIMA 96**: economia e mercado. Boa Vista: FECOR, 1997. 114p.

FERREIRA, A. B. H. **Novo Dicionário Aurélio da Língua Portuguesa**. 2 ed., Rio de Janeiro,: Nova Fronteira, 1986. 1838p.

FERRARI, M. **Terminologia de Melhoramento Genético Florestal**. 2 ed. Curitiba: EMBRAPA-URPFCS, 2004. (EMBRAPA-URPFCS. Documento 8).

FILGUEIRA, F. A. R. **Manual de Olericultura**: cultura e comercialização de hortaliças. São Paulo: Agronômica Ceres, 1972. p. 379 – 419.

FILGUEIRA, F.A.R. **Solonaceaes**: agrotecnologia moderna na produção de tomate, batata, pimentão, berinjela e jiló. Lavras, MG: UFLA, 2003. 333p.

FLORES, R.; LESSA, A. O.; PETER, J. A.; FORTES, G.R.L. Efeito da sacarose e do benomyl na multiplicação *in vitro* da macieira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v.34, n.12, p.2363-2368, 1999.

FONTES, P.C.R; FONTES, D.J.H.S. **Produção de Tomate de Mesa**. Viçosa, MG: Ed. Aprenda Fácil, 2002. 193p.

FONTES, P.C.R. **Olericultura**: teoria e prática. Viçosa, MG: Aprenda Fácil, 2005. 486p.

FRIDBORG, G. Growth and organogenesis in tissue cultures of *Allium cepa* var. proliferum. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.25, p.436-440, 1971.

GARCIA, M.L.; DE LA TORRE, M.E.; DAL BO, E.; DJELOUAH, K.; ROUAG, N.; LUISONI, E.; MILNE, R.G.; GRAU, O. Detection of citrus psorosis-ringspot virus using RT-PCR and DAS-ELISA. **Plant Pathology**, v.46, p.830-836, 1997.

GAVISH, H.; VARDI, A.; FLUHR, R. Extra cellular proteins and early embryo development in *Citrus* nucellar cell cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 82, p. 606 – 616, 1991.

GEORGE, E. F.; SHERRINGTON, P.D. **Plant Propagation by Tissue Culture**. Eversley: Exegetics, 1984.

GEORGE, E. F. Equipment and Procedures. In: _____ **Plant Propagation by Tissue Culture**. 2 ed., Eversley: Exegetics, 1993. p.116-117. Parte 1: The technology.

GOMEZ, M. L. P. A.; LAJOLO, F. M.; CORDENUNSI, B. R. **Metabolismo de Carboidratos Durante o Amadurecimento do Mamão (*Carica papaya* l. cv. solo)**: Influência da Radiação Gama 1. São Paulo: USP, 1999.

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M.A. Micropropagação. In: TORRES, A.C.; CALDAS, L.S. **Técnicas e Aplicações da Cultura de Tecidos de Plantas**. Brasília: ABCTP/EMBRAPA/CNPH, 1990. p. 99-169.

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M.A. Micropropagação. In.: TORRES, A.C.; CALDAS, L.S.; BUSO, J.A. **Cultura de Tecidos e Transformação Genética de Plantas**. Brasília: ABCTP/EMBRAPA, 1998. v.1, p. 183-260.

HAYARD, A. C. The horsts of *Pseudomonas solanacearum*. In: HAYARD, A.C.; HARTMAN, G. L. eds. **Bacterial Wilt: The disease and the curative agent, *Pseudomonas solanacearum***. Willengford: Cab International, 1994. p. 9 – 24.

YABUUCHI, E.; YOSHIMASA, K.; YANO, I.; HOTTA, H.; HASHIMOTO, Y. Transfer of two burkholderia and alcaligenes species to *Ralstonia pickettii* (ralston, palleroni and dortoraty 1973) Cob. Nov., *Ralstonia solanacearum* (Smith 1896) Comb. Nov. **Microbiological Immunology**, v.39, n.1, p.897- 904, 1995.

YAMADA, Y.; SATO, F. The photoautotrophic culture of chlorophyllous cells. **Plant Cell Physiology**. Kyoto, v.19, p. 691- 699, 1978.

YANG, H.J. Effect of benomyl on *Asparagus officinalis* L. shoot and root development in culture medio. **HortScience**, Alexandria, v.11, n.5, p. 473- 474, 1976.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Banco de dados agregados, período 2000-2004**. Disponível em: <http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/agric/default>

JEFFREE, C.E.; YEOMAN, M.M. Development of intercellular connections between opposing cells in graft unions. **New Phytologist**, New York, v.93, n.4, p.491-509, 1983.

JOLY, A.B. **Botânica: introdução a taxonomia vegetal**. 8 ed. São Paulo: Nacional, 1987.

- JONARD, R. Micrografting and its applications to tree improvement. **Biotechnology in Agriculture and Forest**, Berlin, v.1, p.741-743, 1986.
- KELMAN, A. The bacterial wilt caused by *Pseudomonas solanacearum*, a literature review and bibliography. **Technical Bulletin 99**, North Carolina, 1953. 194 p.
- KIMATI, H. **Manual de Fitopatologia**. 3 ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1997.
- KOZAI, T. Micropropagation under photoautotrophic conditions. In: DEBERGH, P.C.; ZIMMERMAN, T.H. **Micropropagation Technology and Application**. Dordrecht: Kluwer, 1991. 484p.
- LAMBARDI, M.; BENELLI, C.; FABBRI, A. “*In vitro* axillary shoot proliferation of apple rootstocks under different ethylene conditions. *in vitro*.” **Cellular Developmental Biology Plant**, Wallengford, v.33, n.1, p.70-74, 1997.
- LEIFERT, C.; MURPHY, K.; LUMSDEN, P.J. Mineral and carbohydrate nutrition of plant cell and tissue culture. **Critical Reviews in Plant Sciences**, Boca Raton, v.14, n. 2, p. 83-109, 1995.
- LEITE, G.B.; FINARDI, N.; FORTES, G.R. Efeitos de concentrações de sacarose no meio de cultura e da intensidade luminosa no enraizamento “*in vitro*” do porta-enxerto de pereira. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, MG, v. 24, n. 2, p.353-357, 2000.
- LOPES, C. A. Ecologia de *Pseudomonas solanacearum* In: TALLER SOBRE ENFERMEDADES BACTERIANAS DE LA PAPA, 1. **Memórias**, Brasília, DF: EMBRAPA – CNPH/CIP, 1994. p. 17 – 22.
- LORENZI, H. **Plantas Daninhas do Brasil**: terrestres, aquáticas, parasitas e tóxicas. 3 ed. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 2000.
- MALAVOLTA JR., V.A. **Doenças Bacterianas em Tomateiro**: etiologia e controle. Campinas, SP: Instituto Agronômico, 2005.
- MALAVOLTA JR., V.A; RODRIGUES NETO, J. Controle de doenças causadas por bactérias em tomateiros. In: ENCONTRO NACIONAL DE PRODUÇÃO E ABASTECIMENTO DE TOMATE, 2, 1991, São Paulo, Jaboticabal, SP, **Anais...**: UNESP, 1991. p. 166-182.
- MALAVOLTA JR., V.A; ALMEIDA, I.M.G.; RODRIGUES NETO, J.; BERIAM, L.O.S; MELO, P.C.T. Caracterização de *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* em tomateiro no Brasil e reação de cultivares genótipos de tomateiro a esse patovar e ao pv. tomato. **Arquivo do Instituto Biológico**, Campinas, SP, v. 69, p. 63-66, 2002.
- MARANCA, G. **Tomate**: variedades, cultivo, pragas e doenças, comercialização. São Paulo, SP: Nobel, 1981. 158 p.

MARTINEZ, J.; MUGARD, J.; JONARD, R. Sur les differentes combinaisons de greffages des apex reslés *in vitro* entre pecher (*Prunus persica* Batsch), abricotier (*Prunus armeniaca* L.) et myrobalan (*Prunus cerasifera* Ehrh.). **Comptes Rendus de L'academie des Sciences**, Paris, Serie D, v.288, p.257-262, 1979.

MARTINS-CORDER, M. P.; BORGES JUNIOR, N. Desinfestação e quebra de dormência de sementes de *Acacia mearnsii*. **Ciência Florestal**, Santa Maria, RS, v. 9, n. 2, p. 1-71, 1999.

MONTEIRO, M.T.; PIRES, E.J.P.; BOTELHO, R.V.; CARVALHO, C.R.L. Efeitos do thidiazuron e do ácido giberelico nas características dos cachos e bagas de uvas niagara rosada na região de Jundiaí, SP. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, SP, v.22, n.2, p. 272-276, 2000.

MOSELLA-CHANCEL, L.; SIGNORET, P.A.; JONARD, R. Sur la mise au point de techniques de microgreffage d'apex en vue de l'elimination de deux types de particules virales chez le pecher (*Prunus persica* Batsch). **Comptes Rendus de L'academie des Sciences**, Paris, Serie D, v.290, p.287-290, 1980a.

MOORE, R.; WALKER, D.B. Studies of vegetative compatibility-in-compatibility in higher plants. Grafting of sedum and solanum callus tissue *in vitro*. **Protoplasma**, Wien, v.115, p.114-121, 1983.

MURASHIGE, T. Plant propagation through tissue culture. **Annual Review of Plant Physiology**, Columbus, v. 25, p.135-166, 1974.

MURASHIGE, T. E.; SKOOG, F.A. Revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue cultures. **Physiology Plantarum**, Copenhagen, v.15, 1962.

MURASHIGE, T.; BITTERS, W.P.; RANGAN, T.S.; NAUER, E.M.; ROISTACHER, C.N.; HOLLIDAY, P.B. A technique of shoot apex grafting and its utilization towards recovering virus-free citrus clones. **HortScience**, Alexandria, v.7, p.118-119, 1972.

NAVARRO, L.; ROISTACHER, C.N.; MURASHIGE, T. Improvement of shoot-tip grafting *in vitro* for virus-free citrus. **Journal of the American Society of Horticultural Science**, Alexandria, v.100, p.471-479, 1975.

NAVARRO, L. Application os shoot-tip grafting in vitro to woody species. **Acta Horticulturae**, Wageningen, v.227, p.43-55, 1988.

PAIVA, P.D.O; PAIVA, R.; PASQUAL, M.; PAIVA, L.V. Estabelecimento *in vitro* de estrelícia (*Strelitzia reginae* Banks.). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, MG, v. 28, n.5, p.1031-1037, 2004.

PALLERONI, N.J. Family 1. *Pseudomonadaceae* In: KRIEG, N.R.; HOLT, J.G. **Bergey's Manual of Systematic Bacteriology**, Baltimore: Williams and Wilkins, 1984, v.1, p. 141-198

PALMA, B.; VOGT, G.F.; NEVILLE, P.A. Combined *in vitro in vivo* method for improved grafting of acacia *senegal* l. wild. **Journal of Horticultural Science**, Cambridge, v.3, n.71, p.379-381, 1996.

PALMEIRA, J.I.R.; CARVALHO, A.L.M.; SCHWENGBER, J.A.M.; RÊGO, E.R.; TAVEIRA, M.L.; RÊGO, M.M. Protocolo de desinfestação e germinação de sementes de jurubeba (*Solanum atropurpureum*). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CULTURA DE TECIDOS DE PLANTAS, 2, 2005, Fortaleza, **Anais...**: Sociedade Brasileira de Melhoramento de Plantas, Viçosa, MG, 2005.

PASQUAL, M.; HOSHIKA, E.; ISHIDA, J.S. Influencia de diferentes concentrações de sacarose e sais minerais sobre a multiplicação *in vitro* de *Nephrolepis exaltata*: uma samambaia ornamental. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 29, n. 11, p. 1681-1684, 1994.

PICKERGILL, B. The domestication of chili peppers. In: UCKO, B. J. E.; DIMBLEBY, G.W (eds.). **The Domestication and Exploitation of Plants and Animals**. London: Gerald Duckworth, 1969. 443p.

PICININI, E.E. Fungicidas benzenodazoles. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Passo Fundo, RS, 1994. v. 2, p. 357- 409.

PONTE, J.J. da. **Clinica de Doenças de Plantas**, Fortaleza: UFC, 1996. 872p.

PRAKASH, O.; SOOD, A.; SHARMA, M.; AHUJA, P.S. Grafting micropropagated tea (*Camellia sinensis* L. O. kuntze) shoots on tea seedlings – a new approach to tea propagation. **Plant Cell Reports**, Berlin, v.18, p.883-888, 1999.

RAMAGE, C.M.; WILLIAMS, R.R. Mineral uptake in tobacco leaf discs during different developmental stages of shoot organogenesis. **Plant Cell Reports**, Berlin, v.21, n.11, p. 1047-1053, 2003.

RÊGO, E. R. **Herança da Cor e Caracterização de Frutos de Tomate Mutante Amarelo, Normal, F1 e F2**. Viçosa, MG, 1997. 66f. Dissertação (Mestrado em genética e melhoramento), Universidade Federal de Viçosa-UFV.

RIBEIRO, C.S.C.; GIORDANO, L.B. Modelos de obtenção de híbridos interespecíficos entre *Lycopersicon esculentum* e *L. peruvianum*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF., v.36, n.5, p. 793-799, 2001.

RIBEIRO, J.E.L.S.; HOPKINS, M.J.G.; VICENTINI, A.; SOTHERS, C.A.; COSTA, M.A.S.; BRITO, J.M.; SOUZA, M.A.D.; MARTINS, L.H.P.; LOHMANN, L.G.; PEREIRA, E.C.; SILVA, C.F.; MESQUITA, M.R.; PROCOPIO, L.C. Solanáceae.

In: _____ **Flora da Reserva Ducke**: guia de identificação das plantas vasculares de uma floresta de terra firme na Amazônia Central. Manaus: Ed. INPA, 1999. p. 583- 587.

RICHARDSON, F.V.M.; MACANTSOIR, S.; HARVEY, B.M.R. A study of the graft union *in vitro* micrografted apple. **Plant Growth Regulation**, Dordrecht, v.20, p.17-23, 1996.

ROBBS, C.F. Doenças causadas por bactérias. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 11, n. 131, 1985.

SAMPAIO, R. A.; ARAUJO, W.F; RUIZ, H.A.; COUTINHO, O.L; ALVES, H.O.; DIAS, M.R.N.; PAMPLONA, V.R.M. Produção de tomates em resposta a diferentes proporções de aplicações do K no plantio e em cobertura e a diferentes parcelamentos da adubação de cobertura. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA, 38, Petrolina, PE, **Resumo nº 296**. Brasília: Sociedade Brasileira de Olericultura, 1998.

SANTOS FILHO, H.P.; PAZ, O. P.da. **Microenxertia**. Cruz das Almas, MG: EMBRAPA/CNPMPF, 1994. (EMBRAPA/CNPMPF . Boletim n. 21247).

SANTOS, J. P.; DORNELLES, A. L.C; SILVA, J.R.S.; SANTANA, J.R.F.; LIMA-BRITO, A. Ajuste do meio MS Para o cultivo “*in vitro*” de *Syngonanthus Mucugensis* giulietti, espécie ameaçada de extinção1. **Sitientibus Série Ciências Biológicas**, v.6, n.1, p. 36-39, 2006.

SATO, A. Y.; DIAS, H.C.T.; ANDRADE, L.A; SOUZA, V.C. Micropropagação de *Celtis* sp: controle da contaminação e oxidação. **Cerne**, v.7, n.2, p.117-123, 2001.

SCHWENGBER, J.A.M.; PALMEIRA, J.I.R.; CARVALHO, A.L.M.; RÊGO, E.R.; TAVEIRA, M.L.; RÊGO, M.M. Potencial de desinfestação do extrato etanólico de *Lippia microphylla* Cham. Em sementes de maracujá (*Passiflora edulis* f. flavicarpa). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CULTURA DE TECIDOS DE PLANTAS, 2, Fortaleza, **Anais...**: Sociedade Brasileira de Melhoramento de Plantas, Viçosa, MG, 2005.

SHARP, W.R.; DOUGALL, D.K.; PADDOCK, E.F. Haploid plantlets and callus from immature pollen grains of nicotiana and *Lycopersicon*. **Bulletin Torrey Botanical Club**, New York, v.98, p.219-222, 1971.

SILVA, M.E.; TAVEIRA, L.M.; RÊGO, M.M. Descrição botânica de *Lippia microphylla* Cham. de Boa Vista-RR. In: SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL, 18, Manaus, **Resumos...**: INPA, Manaus, 2004.

SINGHA, S.; OBERLY, G.H.; TOWNSEND, E.C. Changes in nutrient composition and pH of the culture medium during *in vitro* shoot proliferation of crabapple and pear. **Plant Cell Tissue and Organ Culture**, Netherlands, v. 11, p. 209-220, 1987.

- STARRANTINO, A.; CARUSO, A. The shoot-tip grafting technique applied in citriculture. **Acta Horticulturae**, Wageningen, v.227, p.101-103, 1988.
- TAKATSU, A; LOPES, C. A. Murcha bacteriana em hortaliças: avanços científicos e perspectivas de controle. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 15, p.170 - 177, 1997.
- TAMURA, N.; MURATA, Y.; MUKAIHARA, T. A somatic hybrid between *Solanum integrifolium* and *Solanum violaceum* that is resistant to bacterial wilt caused by *Ralstonia solanacearum*. **Plant Cell Report**, New York v.21, p. 353-358, 2002.
- TANNÈ, E.; SHLAMOVITZ, N.; SPIEGEL-ROY, P. Rapidly diagnosing grapevine corky-bark by *in vitro* micrografting. **HortScience**, Alexandria, v. 28, n. 6, p.667-668, 1993.
- TAVARES, C.A.M. Os desafios da olericultura como atividade empresarial. **Horticultura Brasileira**, Brasília, DF, v.15, p. 141-144, 1997.
- TEIXEIRA, R. **Diversidade em Capsicum**: análise molecular, morfoagronômica e química. Viçosa, MG: UFV, 1996.
- TERRER, J.C. Determination of macronutrients to be included *in vitro*, culture medio according to leaf concentrations. **Journal of Agricultural Science and Biotechnology**, United Kingdom, 2001. p. 484-488.
- TOKESHI, H.; CARVALHO, P.C.T. de. Doenças do tomateiro, In: Galli, F. **Manual de Fitopatologia**: doenças das plantas cultivadas. São Paulo: Agronômica Ceres, 1980. v.2, Cap. 35, p.511-552.
- TORRES, A.C.; TEIXEIRA, S.L.; POZZER, L. Cultura de ápices caulinares e recuperação de plantas livres de vírus. In: TORRES, A.C.; CALDAS, L.S.; BUSO J.A. **Cultura de Tecidos e Transformação Genética de Plantas**. Brasília: EMBRAPA, 1998. 509 p.
- ZAMBOLIM, L.; VALE, F.X.R.; MONTEIRO, A.J.A.; COSTA, H. **Controle de Doenças de Plantas**: fruteiras. Viçosa, MG: UFV., 2002. v.1, 673 p.
- ZANOL, G.C.; FORTES, G. R. de L.; SILVA, J. B. da; CAMPOS, A. D.; CENTELLAS, A.Q.; MÜLLER, N. T.; GOTTINARI, R. A. Escuro e ácido indolbutírico no enraizamento *in vitro* e atividade da peroxidase de porta-enxertos de macieira, (*Malus prunifolia*) cv. marubakaido. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, RS, v.3, n.1, p.23-30, 1997.
- ZECCA, A. G. D. **Micro-enxertia, enxertia de calo e enxertia de micro-estaca sobre calo, "in vitro", como método de determinação de incompatibilidade de pereira (*Pyrus spp.*) sobre marmeleiro (*Cydonia oblonga*)**. Pelotas, RS, 1995. 110f. Dissertação (Mestrado em Fruticultura de Clima Temperado), Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Universidade Federal de Pelotas.

ZHU, L.H.; WELANDER, M.; HELLGREN, O. Growth rates and biomass production of micropropagated apple plants of m26 and gravenstein on their own roots and in different micrografted combinations under non-limiting and limiting nutrient conditions. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v.50, n. 336, p.1189-1198, 1999.