

DISPONIBILIDADE DE LUZ, TIPO DE VEDAÇÃO E DE FRASCO NA GERMINAÇÃO E CRESCIMENTO INICIAL *IN VITRO* DE PLÂNTULAS DE CUBIU (*Solanum sessiliflorum* DUNAL)

Adilson Ricken Schuelter¹; Cristiane Leonardi da Luz²; Ana Maria Scherer²;
Cristina Soares de Souza³; Suzana Stefanello⁴

SAP 10212 Data envio: 16/06/2014 Data do aceite: 17/11/2014
Scientia Agraria Paranaensis – SAP; ISSN: 1983-1471
Marechal Cândido Rondon, v. 14, n. 3, jul./set., p. 183-190, 2015

RESUMO - O presente trabalho teve como objetivo avaliar os diferentes tipos de vedação e o tamanho do frasco em relação às taxas de germinação e partição de biomassa em plântulas de duas variedades de *Solanum sessiliflorum* Dunal. Sementes das variedades de cubiu, Santa Luzia e Thais, foram inoculadas em frascos com diferentes tamanhos, contendo meio de cultura com Murashige e Skoog (1962), com 50% da concentração e vedados com diferentes materiais. Verificou-se encarquilhamento foliar das plântulas de ambas as variedades que foram inoculadas em frascos vedados com policloreto de vinila (PVC). As variedades Santa Luzia e Thais apresentaram alta porcentagem de germinação em frascos vedados com PVC e papel alumínio. Além disso, detectou-se que, para ambas as variedades, que o tipo de frasco e vedação interferem no acúmulo de fotoassimilados. Verificou-se ainda que, para a variedade Thais, existe a maior média de matéria fresca em frascos grandes e vedados com alumínio, enquanto na variedade Santa Luzia o tamanho do frasco não interfere na biomassa, mas aqueles vedados com alumínio apresentam maior massa. O acúmulo de matéria seca para a variedade Thais foi maior em frascos grandes vedados com PVC e para variedade Santa Luzia foram frascos grandes ou vedados com PVC. Ambas as variedades, quando cultivadas em frascos vedados com papel alumínio, apresentam a maior média no comprimento da parte aérea. Plântulas de cubiu cultivadas em frascos pequenos e vedados com PVC apresentaram maior comprimento radicular. Concluiu-se que o encarquilhamento foliar foi marcante em frascos vedados com PVC e o acúmulo de fotoassimilados é influenciado pelo tipo de frasco e vedação para ambas as variedades na presença de luz.

Palavras-chave: luminosidade, *Solanum sessiliflorum*, vedação.

Light availability, type of sealing and flask on germination and initial growth in vitro of plantlets cubiu (Solanum sessiliflorum Dunal)

ABSTRACT - This work aimed to evaluate the different types of sealing and flask size in relation to the rates of germination and biomass partitioning in seedlings of two varieties of *Solanum sessiliflorum* Dunal. Seeds of varieties Santa Luzia and Thais were inoculated into flasks of varying sizes, containing culture medium Murashige and Skoog (1962) with 50% of the concentration and sealed with different materials. It was found shriveling leaf in plantlets of both varieties grown in sealed flasks with polyvinyl chloride (PVC). The varieties Santa Luzia and Thais showed high germination percentage in flasks sealed with PVC and aluminum foil. Furthermore, the type of flask and sealing influenced the accumulation of assimilates in both varieties. It was found yet, the highest average of fresh matter in large flasks and sealed with aluminum for the Thais variety, while the Santa Luzia variety, the flask size does not interfere with weight, but those sealed with aluminum have a higher average weight. The dry matter accumulation for Thais variety were higher for plantlets cultivated in large flasks sealed with PVC, and for Santa Luzia variety were large flasks or sealed with PVC. Both varieties, when grown with aluminum foil have the highest average length of the aerial part. Plantlets cultivated in small flasks and sealed with PVC presented higher rootlength. It was concluded that the leaf shriveling was remarkable in flasks sealed with PVC and the accumulation of assimilates is influenced by the type of flask and seal for both varieties in the presence of light.

Key words: luminosity, *Solanum sessiliflorum*, sealing.

¹Eng. Agrônomo, Cooperativa Central de Pesquisa Agrícola, BR 467 Km 98, CEP 85813-450 Cascavel, PR. E-mail: adilson_schuelter@yahoo.com.br. * Autor para correspondência

²Bióloga, Universidade Paranaense – Campus Toledo, Av. Parigot de Souza 3636, CEP 85903-170, Toledo, PR

³Bióloga, Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais, Av. Santa Cruz 500, CEP 37780-000, Caldas, MG. E-mail: cristina.genetica@yahoo.com.br

⁴Bióloga, Universidade Federal do Paraná, Rua Pioneiro 2153, CEP 85950, Palotina, PR. E-mail: sstefanello@ufpr.br

INTRODUÇÃO

O cubiu (*Solanum sessiliflorum* Dunal) é uma solanácea nativa da região amazônica, rústica e de fácil cultivo que tem revelado interesse pela agroindústria moderna, por apresentar frutos de sabor característico, rico em sais minerais e vitaminas (MARX et al., 1998). Essa espécie contém frutos com numerosas sementes, sendo que a reprodução sexuada é a forma principal para o estabelecimento das lavouras comerciais. No entanto, a germinação é dependente das condições de ambiente empregadas (LOPES; PEREIRA, 2005; STEFANELLO et al., 2008) e a viabilidade da semente é perdida rapidamente após a colheita dos frutos, sendo dependente das condições de armazenamento (PEREIRA et al., 2012). Contudo, a cultura de tecidos torna possível obter-se grande número de plantas em curto espaço de tempo para várias espécies, além de proporcionar a uniformidade genética das plantas obtidas pela propagação vegetativa (GRATTAPAGLIA; MACHADO, 1998; SILVA NETO; ANDRADE, 2011).

A propagação *in vitro* de algumas espécies vegetais encontra-se exposta a influência de vários fatores, e o ajuste das condições de cultivo resulta no sucesso para cada espécie. Dentre esses fatores, encontram-se as concentrações de sais minerais, a temperatura, o fotoperíodo e os tipos de tampas empregados para vedação dos frascos, que determinam o nível de trocas gasosas com o ambiente externo, podendo influenciar o desenvolvimento de certas culturas, resultado da formação de microclima dentro do frasco (GRATTAPAGLIA; MACHADO, 1998).

O sistema de vedação precisa impedir o ressecamento e a contaminação por agentes externos, mas as tampas devem permitir a troca gasosa adequada, impedindo assim a deficiência de O₂ e o aumento nas concentrações de CO₂ e etileno (PIERIK, 1987). A vedação total do frasco pode provocar o acúmulo de gases, ocasionando a saturação de vapor de água, diminuindo assim o fluxo transpiratório nas culturas, o que pode causar deficiências minerais de elementos como o cálcio, levando a formação de necrose nos ápices. Já o excesso de vapor de água na atmosfera do frasco pode tornar-se responsável pela vitrificação das culturas (GRATTAPAGLIA; MACHADO, 1998). O sistema de vedação convencional empregado na propagação *in vitro* previne a desidratação das plantas e do meio de cultura, além de evitar a contaminação. No entanto, o elevado conteúdo de etileno e as baixas concentrações de CO₂ restringem-se as trocas gasosas, resultando na redução das taxas de transpiração e a fotossíntese das plantas. Além disso, a absorção de água e nutrientes é reduzida, afetando taxa de crescimento *in vitro*, e que pode resultar no aumento da mortalidade das plantas no momento da aclimação (NGUYEN; KOZAI, 2005; ZOBAYED, 2006; XIAO et al., 2011).

As vedações mais utilizadas em laboratórios são tampas plásticas de pressão ou de rosca de polipropileno, podendo ser autoclavadas, pois resistem a altas temperaturas sem que ocorra deformação

(GRATTAPAGLIA; MACHADO, 1998). Recentemente, membranas porosas permeáveis a gases tem aumentado seu uso, pois permite a eficiência das trocas gasosas, diminuindo o acúmulo de etileno, culminando na melhoria do processo de aclimação (XIAO et al., 2011; MARQUES PINHEIRO et al., 2013). Contudo, pelo seu elevado custo empregam-se vedações alternativas, tais como: papel alumínio, gaze com algodão, metal e película de PVC (GRATTAPAGLIA; MACHADO, 1998; PIERIK, 1987; SOUZA et al., 1999).

Estudos com o cubiu, visando a sua propagação *in vitro*, já foram realizados empregando-se diferentes tipos de explantes (HENDRIX et al., 1987; CORDEIRO; MATTOS, 1991). Contudo, o emprego de segmentos caulinares de plântulas oriundas de germinação *in vitro* das variedades Santa Luzia e Thaís têm-se obtidos os melhores resultados (BOUFLEUHER et al., 2008; SCHUELTER et al., 2009). No entanto, após 15 a 21 dias de cultivo, as plântulas que são as fontes de explantes, começam a encarquilhar ou enrugar, culminando com abscisão foliar. Nesse contexto, é de fundamental importância verificar se o fotoperíodo e os tipos de vedação influenciam o processo de germinação, bem como o crescimento e desenvolvimento de plântulas *in vitro*, que poderão resultar na melhoria da qualidade fisiológica dos explantes.

Assim, o objetivo do trabalho foi avaliar a influência do fotoperíodo na germinação e verificar o efeito dos tipos de vedação e da capacidade do frasco em relação ao encarquilhamento e abscisão foliar, bem como na alteração das taxas de germinação e no acúmulo de fotoassimilados.

MATERIAL E MÉTODOS

Sementes de cubiu das variedades Santa Luzia e Thaís, obtidas de plantas cultivadas em condições de casa-de-vegetação da Universidade Paranaense – Campus Toledo, PR, foram empregadas nos seguintes experimentos:

Efeito da disponibilidade de luz na germinação *in vitro* de sementes de cubiu

As sementes de cubiu foram desinfestadas por imersão em solução de etanol 70% por 2 min, seguida por hipoclorito de sódio a 40%, contendo Tween 20% durante 20 min, e tríplice lavagem em água destilada e autoclavada. Após a desinfestação das sementes em câmara de fluxo laminar, realizou-se a inoculação das sementes do experimento I em frascos de 350 mL com meio de cultura Murashige e Skoog (1962), com metade dos sais (MS/2), pH ajustado para $5,8 \pm 0,2$ antes da autoclavagem a 121°C a 0,1 atm por 20 min, suplementado com 30 g.L⁻¹ de sacarose e 6,5 g.L⁻¹ de ágar. Cada frasco contendo 50 mL de meio MS/2 foi preparado com o mínimo de 24 h de antecedência. Após a inoculação nos respectivos tipos de frascos e de vedação, as culturas foram alocadas em sala de crescimento com três diferentes condições quanto ao fotoperíodo (irradiância de 36 µmol

Disponibilidade de luz, tipo de vedação ...

SCHUELTER, A. R. et al. (2015)

$m^{-2}.s^{-1}$): (1) 24 h de exposição à luz; (2) fotoperíodo de 16 h a exposição da luz e 8 h de ausência de luz; (3) 24 h na ausência de luz (câmara escura). A temperatura da sala de crescimento foi ajustada para 24 ± 2 °C, durante 15 dias.

O delineamento experimental foi blocos ao acaso em esquema de parcelas subdivididas com quatro repetições. A unidade experimental foi constituída por três frascos contendo individualmente 10 sementes para cada variedade. A contagem de plântulas foi efetuada após o início do encarquilhamento e senescência foliar e empregada como parâmetro para determinação do potencial máximo de germinação *in vitro* para as condições de ambiente estabelecidas no experimento.

Efeito do tipo de vedação na germinação e encarquilhamento foliar de plântulas de cubiu

As sementes de cubiu das variedades Santa Luzia e Thais foram desinfestadas, empregando-se a mesma metodologia descrita no experimento anterior.

As sementes foram inoculadas em frascos de 538 mL (grande) e 250 mL (pequeno), contendo 30 mL de meio de cultura MS (MURASHIGE e SKOOG, 1962) metade da concentração de sais minerais, suplementados com 30 g L⁻¹ de sacarose, 6,5 g L⁻¹ de ágar e pH ajustado para $5,8 \pm 0,2$ antes da autoclavagem a 121 ± 1 °C a 0,1 atm por 20 min. Os frascos com capacidade para 538 mL ou 250 mL foram vedados com diferentes materiais como papel alumínio, PVC com duas voltas e papel de germinação duplo. Ao redor de cada frasco foi passada uma volta e meia de fita crepe.

A germinação foi avaliada a cada 4 dias a partir do início da emissão da radícula, sendo observado o número de sementes germinadas, a coloração das folhas e do hipocótilo e o início do encarquilhamento das folhas. Com o início do encarquilhamento e senescência foliar submeteu-se a anotação do comprimento da parte aérea e da raiz e as massas fresca e seca dividido em parte aérea e radicular.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com quatro repetições em esquema fatorial, composto por tipos de frascos e de vedação para ambas as variedades. A unidade experimental foi constituída por três frascos.

Análise Estatística

Os dados dos experimentos descritos anteriormente foram inicialmente verificados quanto a normalidade dos erros pelo teste de Lilliefors e da homogeneidade das variâncias pelo teste de Bartlett. Na sequência, procedendo-se à análise de variância apenas para aqueles caracteres que atenderam as pressuposições do modelo matemático. Com a detecção significância a 5% de probabilidade entre os tratamentos, procedeu-se a comparação de médias pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Na ausência de significância e/ou presença de apenas dois tratamentos utilizou-se o teste F da análise de variância. Todas as análises foram realizadas empregando-se o Programa Genes (2001).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Efeito da disponibilidade de luz na germinação

O início da germinação ocorreu a partir do 4º dia de cultivo em ambas as variedades, sendo que o critério para germinação foi à emissão de radícula. Os dados de germinação obtidos com o aparecimento de encarquilhamento e senescência foliar nas plântulas foram utilizados, os quais atenderam as pressuposições da análise de variância. Pela análise de variância para percentual de germinação detectou-se diferença significativa a 5% de probabilidade entre as variedades avaliadas, detectando-se que a variedade Santa Luzia apresentou maior percentual em relação à variedade Thais (Tabela 1).

As sementes, de modo geral, podem ser classificadas de acordo com sua resposta à luz como fotoblásticas positivas, beneficiadas pela luz; fotoblásticas negativas, prejudicadas pela luz; e não fotoblásticas ou indiferentes, cuja sensibilidade a esse fator não interfere na germinação (OLIVEIRA; INNECCO, 2012). Observou-se, pelos resultados (Tabela 1), que não houve diferença significativa para efeito de luz e da interação (variedade x efeito de luz), revelando que a germinação de sementes não é dependente das condições de luminosidade, conforme estudado por Stefanello et al. (2008). Por outro lado, em trabalho realizado por Souza et al. (2012) constataram que a germinação foi positivamente influenciada pela presença de luz em cubiu.

A importância da luz na germinação faz-se presente pela fotorreação, que controla a germinação por meio do pigmento denominado fitocromo, presente no citoplasma de células do eixo embrionário, cuja forma ativa é convertida pela exposição à luz, disparando o processo de germinação pela síntese de hormônios e enzimas, controle respiratório, permeabilidade dos tegumentos ao oxigênio e metabolismo de lipídios (TAIZ; ZEIGER, 2013). Porém, a intensidade desses efeitos dependerá da espécie e do cultivar, além de outros fatores relacionados com o processo de germinação.

A aplicação de 24 h de luminosidade para as duas variedades testadas resultaram em alta taxa de germinação (Tabela 1), porém as plântulas apresentaram sintoma de envelhecimento precoce de suas folhas primárias, como o amarelecimento das folhas, bem como o encarquilhamento e a senescência foliar. Contudo, aquelas que foram cultivadas no escuro, apresentavam-se estioladas, com seus caules alongados, desenvolvimento foliar reduzido e esbranquiçado, estando a síntese de clorofila condicionada à presença de luz. Segundo Raven (2001), o estiolamento pode ser explicado pelo tropismo, onde há resposta de crescimento sob a influência do fitohormônio auxina. Em termos práticos, o estiolamento tem sido empregado como alternativa durante a etapa de multiplicação, pois permite induzir o alongamento caulinar, resultando na produção de segmentos nodais passíveis de serem utilizadas na propagação *in vitro* (BIASI, 1996; SUZUKI et al., 2004). O estiolamento obtido em plântulas de cubiu poderá ser útil para produção de explantes que visem a indução de embriões somáticos, conforme foi investigado por Stefanello (2008).

Efeito do tipo de vedação na germinação e encarquilhamento foliar de plântulas de cubiu

Decorridos quatro dias de cultivo (Figura 1), verificou-se o início da emissão da radícula nas variedades Santa Luzia e Thaís para os frascos grandes e pequenos vedados com papel alumínio e PVC. No entanto, somente

na variedade Thaís cultivada em frascos cobertos com papel de germinação resultou na formação de plântulas após 12 dias de cultivo, porém com reduzido vigor. Para a variedade Santa Luzia detectou-se apenas a emissão de radícula.

TABELA 1. Percentagem de germinação para o cubiu (*Solanum sessiliflorum*) de acordo com a disponibilidade de luz para as variedades Santa Luzia e Thaís.

| Disponibilidade de luz | Percentual de Germinação | | Médias (luminosidade) |
|----------------------------------|--------------------------|--------|-----------------------|
| | Sta.Luzia | Thaís | |
| 24 horas claro | 95.0 | 85.0 | 90.0a |
| 16 horas claro + 08 horas escuro | 90.0 | 78.75 | 84.37a |
| 24 horas escuro | 82.5 | 65.0 | 73.75a |
| Médias (variedade) | 89.17a | 76.25b | - |

¹Médias seguidas de mesma letra na linha, não apresentam significância pelo teste F a 5% de probabilidade, enquanto médias com as mesmas letra na coluna não apresentam significância pelo teste F a 5% de probabilidade.

Pela análise da percentagem de germinação no transcorrer do cultivo (Figura 1) detectou-se que após oito dias da inoculação, independente da variedade e tratamento a maioria das sementes com condições fisiológicas adequadas iniciaram a formação de plântulas. No entanto, no cultivo em frascos grandes e cobertos com alumínio foi mais lento, verificando-se aos 12 dias.

Pela análise de variância para o percentual de germinação para a variedade Santa Luzia, detectou-se diferença significativa a 5% de probabilidade para tipo de frasco, de vedação e para interação tipo de frasco x vedação. Pela comparação de teste de Tukey a 5% de probabilidade (Tabela 2) foi possível aventar que, independente do tipo do frasco, a vedação com papel alumínio e PVC foram superiores em relação a vedação com papel de germinação. Além do que, a germinação de sementes da variedade Santa Luzia não é afetada quando o cultivo é realizado em diferentes tipos de frascos vedados com papel alumínio ou PVC apenas na variedade Santa Luzia o tipo de vedação promoveu resposta diferencial da germinação de sementes cultivadas em frascos vedados com alumínio e PVC em relação aqueles de papel de germinação duplo.

Avaliando-se a percentagem média de germinação (Tabela 2) para a variedade Thaís detectou-se que independente do tipo de frasco a percentagem de germinação daqueles vedados com alumínio e PVC foi superior com relação ao de papel de germinação. Nesse contexto, a elevada porosidade do papel de germinação possivelmente fez com que ocorresse perda excessiva de água do meio de cultura, resultando na falta de umidade suficiente para iniciar o processo de crescimento e desenvolvimento do embrião da semente. Além disso, a germinação de sementes inoculadas em frascos pequenos foi superior em relação ao cultivo em frascos grandes, podendo ser resultado da menor evaporação do meio de cultura.

Após 22 dias da inoculação, verificou-se que as folhas de plântulas cultivadas em frascos cobertos com

PVC tornaram-se encarquilhadas e iniciando o processo de senescência. Já as plântulas cultivadas em meio coberto com papel alumínio, o processo de encarquilhamento foi retardado em aproximadamente sete dias. Segundo Taiz e Zeiger (2013), a senescência é definida como um processo geneticamente programado que afeta todos os tecidos do vegetal, sendo iniciada por influências ambientais e regulada por hormônios como o ácido abscísico e etileno.

Os resultados da análise de variância para massa seca indicaram que o tipo de frasco e vedação influencia no acúmulo de biomassa para ambas as variedades. Contudo, o acúmulo de massa seca para a variedade Thaís foi influenciado de maneira diferencial, sendo o cultivo em frascos grandes vedados com PVC o melhor tratamento (Tabela 3). Pela análise das médias para Santa Luzia os melhores tratamentos foram encontrados nos frascos grandes ou vedados com PVC.

A variedade Thaís apresentou valor médio superior para a massa fresca em frascos de maior capacidade ou vedados com papel alumínio, enquanto que para a variedade Santa Luzia o tamanho do frasco não resultou em diferença significativa pelo teste F. No entanto, detectou-se diferença significativa para tipo de vedação, independente do tamanho do frasco, sendo os melhores obtidos com papel alumínio (Tabela 4). Resultados semelhantes foram encontrados por Souza et al. (1999) em *Brassica oleraceae*, utilizando tampas de metal e vitafilm^R, sendo a massa média da matéria fresca do cultivo com tampa de metal superior ao do vitafilm^R. Essa diferença pode ser oriunda à forma como a luz é transmitida para o interior do frasco, ou seja, tampas de metal impedem a passagem de luz fazendo que esta seja transmitida por meio da parede lateral do frasco diminuindo a quantidade de luz e a capacidade de transpiração, contribuindo para que os tecidos acumulem maior quantidade de água. Os mesmos autores sugerem que os frascos vedados com vitafilm^R permitem maior penetração de luz, aumentando a transpiração e reduzindo o armazenamento de água nos tecidos dos brotos.

O tipo de vedação de frasco interfere na aeração e na incidência de luminosidade para as culturas *in vitro*. Vedações que não são hermeticamente fechadas permitem maiores trocas gasosas entre o ar atmosférico e o ambiente do interior dos frascos, promovendo melhor transpiração das folhas e impedindo o acúmulo de etileno (SÁ et al., 2011), que pode ser prejudicial à multiplicação *in vitro* (BANDEIRA et al., 2007).

Os resultados do comprimento da parte aérea das variedades Thais e Santa Luzia indicaram por meio da análise de variância a influência do tipo de vedação e de

frasco, sendo que aqueles cultivados em frascos pequenos ou vedados com alumínio apresentaram melhores resultados (Tabela 5). Em relação a maior média do comprimento da parte aérea para os frascos vedados com papel alumínio deve estar relacionado, provavelmente, ao estiolamento, corroborando com os maiores valores de massa fresca (Tabela 4). Tal resultado pode ser considerado consequência do sombreamento que ocorreu nesses frascos.

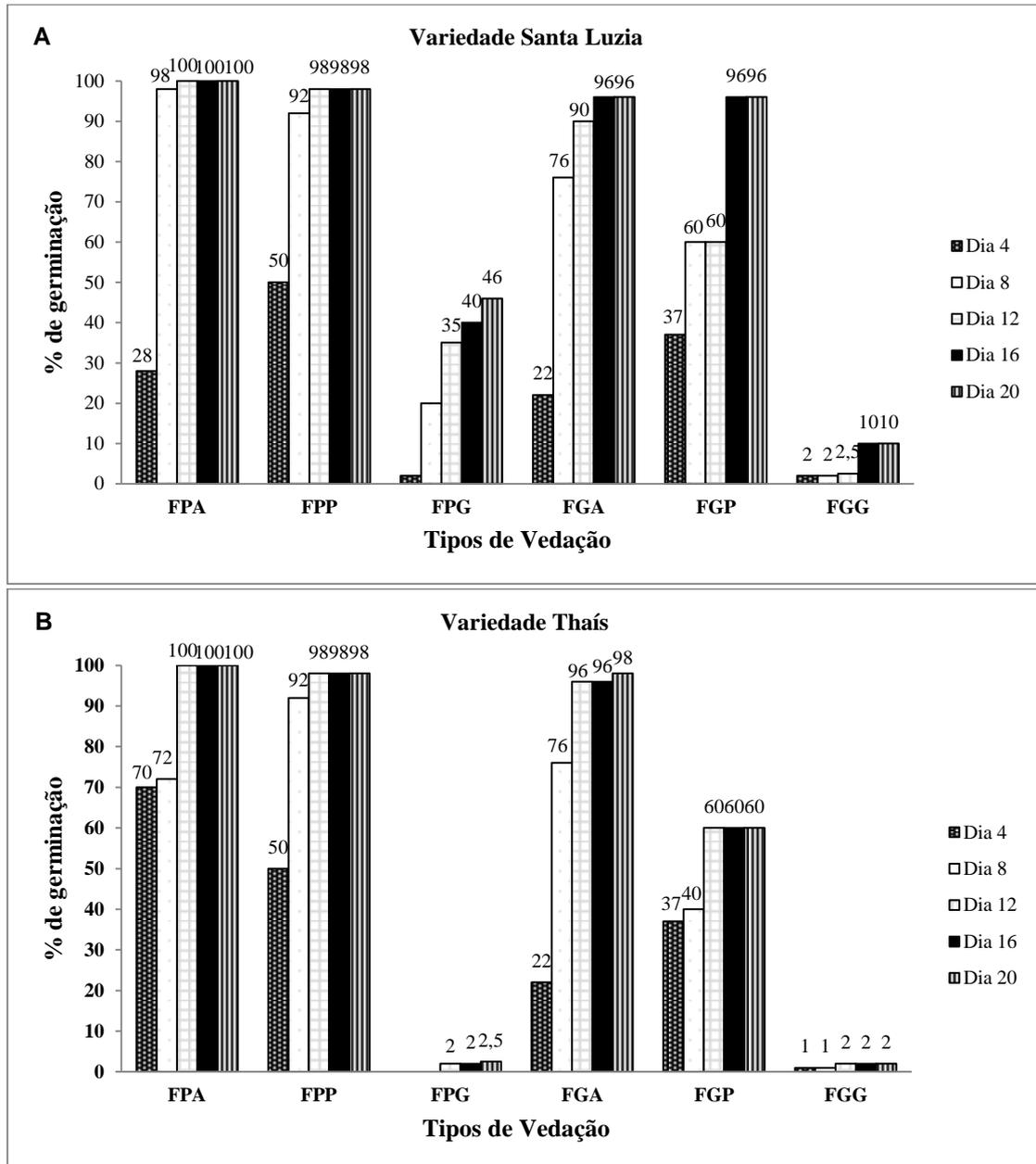


FIGURA 1 - Percentagem de germinação, expresso em percentagem, das variedades Santa Luzia (A) e Thais (B) do 4º ao 20º dia após a inoculação nos diferentes tratamentos: (FPA) - Frasco Pequeno com Alumínio; (FPP) - Frasco Pequeno com PVC; (FPG) - Frasco Pequeno com papel de germinação; (FGA) - Frasco Grande com Alumínio; (FGP) - Frasco Grande com PVC; (FGG) - Frasco Grande com papel de germinação.

TABELA 2. Percentagem de germinação de sementes de cubiu das variedades Thais (A) e Santa Luzia (B) submetidas a inoculação em diferentes tipos de frascos e de vedação.

| Tipo frasco | Santa Luzia ¹ | | | | Thais | | | |
|-------------|--------------------------|------|------------------|--------------|----------------|-----|------------------|--------------|
| | Papel Alumínio | PVC | Papel Germinação | Média frasco | Papel Alumínio | PVC | Papel Germinação | Média frasco |
| Grande | 96aA | 96aA | 10bB | 67.33B | 98 | 60 | 2 | 53.33A |
| Pequeno | 94aA | 98aA | 46bA | 79.33A | 100 | 98 | 2.5 | 66.83A |
| Média | 85a | 97a | 28b | - | 99a | 79a | 2.25b | - |

¹ Médias seguidas por letras maiúsculas iguais na coluna não apresentam significância pelo teste F a 5% de probabilidade, enquanto que médias seguidas por letras minúsculas iguais na linha não apresentam significância pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

TABELA 3. Massa seca, expressa em gramas, de plântulas das variedades de cubiu, Santa Luzia e Thais, submetidas ao cultivo em diferentes tipos de frascos e de vedação.

| Tipo Frasco | Santa Luzia | | | Thais | | |
|---------------|----------------|--------|--------------|----------------|---------|--------------|
| | Papel Alumínio | PVC | Média Frasco | Papel Alumínio | PVC | Média Frasco |
| Grande | 0.049 | 0.064 | 0.056A | 0.054bA | 0.096aA | 0.075A |
| Pequeno | 0.045 | 0.058 | 0.051B | 0.050bA | 0.070aB | 0.06B |
| Média vedação | 0.047b | 0.061a | | 0.052b | 0.083a | |

¹ Médias seguidas por letras maiúsculas iguais na coluna não apresentam significância pelo teste F a 5% de probabilidade, enquanto que médias seguidas por letras minúsculas iguais na linha não apresentam significância pelo teste F a 5% de probabilidade.

Segundo Raven et al. (2001), o estiolamento das plântulas é devido ao seu crescimento no escuro apresentando-se alongada e delgada e folhas pequenas, assim como uma coloração de amarela a incolor devido os plastídios não se tornarem verdes até a sua exposição à luz. Os autores ainda sugerem que a ocorrência de entrenós mais longos deve-se à ação das giberelinas (GA₃), hormônios que possuem efeitos no alongamento de caules e folhas em plantas intactas mediante o estímulo tanto da divisão quanto do alongamento celular que proporciona entrenós mais longos.

De acordo com Pierik (1987), a redução da intensidade de vedação em frascos contendo tampas de metal impede a troca gasosa com o meio externo, verificando-se superbrotamento e estiolamento dos brotos de repolho, provavelmente ao acúmulo de compostos voláteis. Marino et al. (1995) observaram acúmulo de CO₂

e etileno quando utilizaram diferentes tampas de plástico e alumínio.

Em relação ao sistema radicular, verificou-se por meio da análise de variância que houve diferença significativa para tipos de frascos, de vedação e da interação para as variedades Thais e Santa Luzia. O melhor resultado foi obtido utilizando-se frascos pequenos vedados com PVC, apresentando um comprimento médio de 8,4 e 7,47cm, para as variedades Thais e Santa Luzia, respectivamente (Tabela 6). Esses resultados revelam que a redução do tamanho do frasco com manutenção da quantidade de meio de cultura, permite aumentar o acúmulo de biomassa do sistema radicular, e que poderá culminar com a liberação de espaço físico na câmara de crescimento para a produção de explantes radiculares de cubiu.

TABELA 4. Massa fresca, expressa em gramas, de plântulas das variedades de cubiu, Santa Luzia e Thais, submetidas ao cultivo em diferentes tipos de frascos e de vedação.

| Tipo Frasco | Santa Luzia | | | Thais | | |
|---------------|----------------|-------|--------------|----------------|-------|--------------|
| | Papel Alumínio | PVC | Média Frasco | Papel Alumínio | PVC | Média Frasco |
| Grande | 0.65 | 0.56 | 0.60A | 0.79 | 0.68 | 0.73A |
| Pequeno | 0.70 | 0.58 | 0.63A | 0.76 | 0.57 | 0.66B |
| Média vedação | 0.67a | 0.57b | | 0.77a | 0.62b | |

¹ Médias seguidas por letras maiúsculas iguais na coluna não apresentam significância pelo teste F a 5% de probabilidade, enquanto que médias seguidas por letras minúsculas iguais na linha não apresentam significância pelo teste F a 5% de probabilidade.

TABELA 5. Comprimento da parte aérea de plântulas de cubiu, expressa em centímetros, das variedades Santa Luzia e Thais submetidas ao cultivo em diferentes tipos de frascos e de vedação.

| Tipo Frasco | Santa Luzia | | Média Frasco | Thais | | Média Frasco |
|---------------|----------------|-------|--------------|----------------|-------|--------------|
| | Papel Alumínio | PVC | | Papel Alumínio | PVC | |
| Grande | 4.83 | 3.07 | 3.95B | 6.14 | 2.99 | 4.57B |
| Pequeno | 5.50 | 3.45 | 4.48A | 7.01 | 3.68 | 5.35A |
| Média vedação | 5.16a | 3.26b | | 6.58a | 3.34b | |

¹ Médias seguidas por letras maiúsculas iguais na coluna não apresentam significância pelo teste F a 5% de probabilidade, enquanto que médias seguidas por letras minúsculas iguais na linha não apresentam significância pelo teste F a 5% de probabilidade.

TABELA 6. Comprimento do sistema radicular de plântulas de cubiu, expressa em centímetros, das variedades Santa Luzia e Thais submetidas ao cultivo em diferentes tipos de frascos e de vedação.

| Tipo Frasco | Santa Luzia | | Média Frasco | Thais | | Média Frasco |
|---------------|----------------|--------|--------------|----------------|--------|--------------|
| | Papel Alumínio | PVC | | Papel Alumínio | PVC | |
| Grande | 6.96aA | 6.16bB | 6.56B | 6.66aA | 5.75aB | 6.20B |
| Pequeno | 6.99aA | 7.47aA | 7.23A | 6.31bA | 8.40aA | 7.35A |
| Média vedação | 6.97a | 6.82b | | 6.48b | 7.07A | |

¹ Médias seguidas por letras maiúsculas iguais na coluna não apresentam significância pelo teste F a 5% de probabilidade, enquanto que médias seguidas por letras minúsculas iguais na linha não apresentam significância pelo teste F a 5% de probabilidade.

CONCLUSÕES

A disponibilidade de luz não é limitante no processo de germinação, sendo a taxa de germinação da variedade Santa Luzia superior em relação ao de Thais.

As sementes das variedades Thais e Santa Luzia apresentam altas taxas de germinação dependentes do tipo de frasco. Maiores taxas foram observadas com vedação em papel alumínio e PVC.

O encarquilhamento das folhas é marcante em frascos vedados com PVC, independentemente do tamanho do frasco e da variedade. Contudo, esse processo pode ser retardado em frascos cobertos com papel alumínio.

O acúmulo de biomassa é influenciado pelo tipo de frasco e vedação para ambas as variedades, sendo a massa seca para a variedade Thais é superior em frascos grandes vedados com PVC e a variedade Santa Luzia em frascos grandes ou vedados com PVC.

A variedade Thais apresenta maior massa fresca em frascos grandes ou vedados com papel alumínio, para a variedade Santa Luzia o tamanho do frasco não influencia na massa, enquanto que na vedação a maior média são aqueles com papel alumínio.

As plântulas das variedades Santa Luzia e Thais apresentam maior comprimento radicular quando cultivados em frascos pequenos e vedados com PVC. Já para o comprimento da parte aérea, a cobertura de frascos pequenos ou vedados com papel alumínio promovem valores de maior magnitude.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BANDEIRA, J.M.; LIMA, C.S.M.; RUBIN, S.; RIBEIRO, M.V.; FALQUETO, A.R.; PETERS, J.A.; BRAGA, E.J.B. Diferentes tipos de vedações dos frascos e concentrações de sacarose na micropropagação de *Thymus vulgaris* L. **Revista Brasileira de Biociências**, v.5, p.472-474, 2007.
- BARRIA M.J. Etileno In: CID. L.P.B. **Introdução aos hormônios vegetais**. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnológicos. 2000.
- BIASI, L.A. Etiolation to clonal plant propagation. **Revista Ciência Rural**, v.2, p. 309-314, 1996.
- BOUFLEUHER L.M., SCHUELTER, A.R., LUZ, C.L., DA LUZ, C.L., ANTES, V.A., STEFANELLO, S., COMERLATO, A.P., OTONI, W.C. In vitro propagation of *Solanum sessiliflorum* as affected by auxin and cytokinin combinations and concentration. **Asian Journal of Plant Sciences**, v.7, p.639-646, 2008.
- CORDEIRO, A.R., MATTOS, N.O. In vitro regeneration of several accessions of *Solanum tojiro* & Bonpl. and *Solanum sessiliflorum* Dun. (Cubio). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.26, p.1931-1936, 1991.
- CRUZ, C.D. **Programa genes, versão windows: aplicativo computacional em genética e estatística**. Viçosa, MG: UFV. 2001.
- GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. Micropropagação In: TORRES, C.; CALDAS, L.S.; BUSSO, J. **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília, Embrapa SPI/Embrapa. CNPH, v.1, 1998.
- HENDRIX, R.C., LITZ, R.E., KIRCHOFF, B.K. In vitro organogenesis and plant regeneration from leaves of *Solanum candidum* Lindl., *S. quitoense* Lam. (naranja) and *S. sessiliflorum* Dunal. **Plant Cell Tissue and Organ Culture**, v.11, p.67-73, 1987.
- LOPES, J.C., PEREIRA, M.D. Germinação de sementes de cubiu em diferentes substratos e temperaturas. **Revista Brasileira de Sementes**, v.27, p.146-150, 2005.
- MARQUES PINHEIRO, M.V., BOLZAN MARTINS, F., XAVIER, A., OTONI, W.C. Trocas gasosas influenciam na morfogênese in vitro de cultivares de oliveira (*Olea europaea* L.). **Revista Árvore**, v.37, p.19-29, 2013.
- MARX, F., ANDRADE, E.H., MAIA, J.G. Chemical composition of the fruit of *Solanum sessiliflorum*. **Zeitschrift für Lebensmitteluntersuchung und -Forschung**, v.206, p.364-366, 1998.

- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bio assays whit tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, v.15, p.473-497, 1962.
- NGUYEN, Q.T.; KOZAI, T. Photoautotrophic micropropagation of woody species. In: KOZAI, T.; AFREEN, F.; ZOBAYED, S.M.A. (Eds.). **Photoautotrophic (sugar-free medium) micropropagation as a new micropropagation and transplant production system**. Dordrecht: Springer, 2005. p.123-146.
- OLIVEIRA, M.A.S.; INNECCO, R. Germinação de sementes de jambu (*Acmella oleracea* – Asteraceae) sob influência de fotoperíodo e temperatura. **Revista Eletrônica de Biologia**, v.5, p.105-118, 2012.
- PAIVA, W.O. Taxa de polinização cruzada em cubiu. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.34, p.145-149, 1999.
- PASQUAL, M.; BARROS, I. Efeito de Benzilaminopurina e Ácido naftaleno acético na proliferação e alongação de brotações micropropagadas em *Coffea arabica* L. “in vitro”. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.26, p.201-204, 1991.
- PEREIRA, M.D., SOARES, E.R., LOPES, J.C., LIMA & BORGES, E.E. Condicionamento osmótico de sementes de cubiu. **Revista Caatinga**, v.25, p.12-17, 2012.
- RAVEN, P.H.; EVRETT, R.F.; EICHHORN, S.E. **Biologia Vegetal**. 6 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001.
- SÁ, A.J.; LÉDO, A.S.; LÉDO, C.A.S. Conservação in vitro de mangabeira da região nordeste do Brasil. **Ciência Rural**, v.41, p.57-62, 2011.
- SCHUELTER, A.R., GRUNVALD, A.K., AMARAL JUNIOR, A.T., DA LUZ, C.L., LUZ, C.L., GONÇALVES, L.M., STEFANELLO, S., SCAPIM, C.A. In vitro regeneration of cocona (*Solanum sessiliflorum*, Solanaceae) cultivars for commercial production. **Genetics and Molecular Research**, v.8, p.963-975, 2009.
- SILVA NETO, S.P., ANDRADE, S.R.M. Cultura de tecidos vegetais; princípios e aplicações. In: FALEIRO, F.G., ANDRADE, S.R.M., REIS JUNIOR, F.B. **Biotecnologia: estado da arte e aplicações na agropecuária**. Planaltina, Embrapa Cerrados, 2011.
- SOUZA C.M; PINTO, J.E.B.P.; RODRIGUES, B.M., MORAIS, A.R., ARRIGONI-BLANK, M.F. Influência dos fatores físicos na regeneração de brotos em repolhos. **Ciência e Agrotecnologia**, v.23, p.830-835, 1999.
- SOUZA, R.A.V.; BRAGA, F.T.; AZEVEDO, P.H.; FERREIRA, J.F.; CANÇADO, G.M.A. Efeito da luz na germinação in vitro de embriões zigóticos de genótipos de oliveira. **Revista Ceres**, v.59, p.299-304, 2012.
- STEFANELLO, S. Fisiologia pós-colheita e propagação in vitro de cultivares de *Solanum sessiliflorum* Dunal. Maringá: UEM, 2008. Tese (Doutorado) – Universidade Estadual de Maringá, 2008.
- STEFANELLO, S., CHRISTOFFOLI, P., FRNATZ, G., ROCHA, A.C.S., SILVA, J.M., STEFANELLO, R., SCHUELTER, A.R. Germinação de sementes armazenadas de cubiu sob diferentes condições de luz. **Scientia Agraria**, v.9, p.363-367, 2008.
- STORTI, E.F. Biologia Floral de *Solanum sessiliflorum* Dun. var. *sessiliflorum*, na região de Manaus. **Acta Amazonica**, v.18, p.55-65, 1988.
- SUZUKI, R.M., KERBAUY, G.B., ZAFFARI, G.R. Endogenous hormonal levels and growth of dark-incubated shoots of *Catsetum fimbriatum*. **Journal of Plant Physiology**, v.161, p.929-935, 2004.
- TAIZ, L; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 5ed. Porto Alegre: Artmed, 2013. 954p.
- XIAO, Y.; NIU, G.; KOZAI, T. Development and application of photoautotrophic micropropagation plant system. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v.105, p.149-158, 2011.
- ZOBAYED, S. Aeration in plant tissue culture. In: DUTTA GUPTA, S.; IBARAKI, Y. (Ed.). **Plant tissue culture engineering**. Springer: 2006. p.313-327.