

Morfometria de sementes, germinação *in vitro* e propagação vegetativa de sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L.)

Arthur Antunes de Souza Cardoso¹, Maria Teresa Gomes Lopes¹, Mágnio Sávio Ferreira Valente¹, Regina Caetano Quisen², Francisco Célio Maia Chaves³

¹ Universidade Federal do Amazonas, Faculdade de Ciências Agrárias, Departamento de Produção Animal e Vegetal, Manaus, AM, Brasil. Email: arthur_cardoso29@yahoo.com.br (ORCID: 0000-0001-8057-815X); mtglopes@hotmail.com (ORCID: 0000-0003-1988-7126); magnosaviovalente@gmail.com (ORCID: 0000-0003-4730-0062)

² Embrapa Florestas, Colômbor, PR, Brasil. E-mail: regina.quisen@embrapa.br (ORCID: 0000-0002-7991-837X)

³ Embrapa Amazônia Ocidental, Manaus, AM, Brasil. Email: celio.chaves@embrapa.br (ORCID: 0000-0002-4164-8511)

RESUMO: Os objetivos neste estudo foram analisar a germinação *in vitro*, os processos germinativos de sementes e determinar as melhores condições da propagação vegetativa de sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L.). Os caracteres morfobiométricos da semente foram mensurados e descritos, analisou-se também diferentes concentrações de sacarose no processo germinativo *in vitro* e o efeito do ácido indolbutírico (AIB) no enraizamento adventício de três tipos de estacas. As características avaliadas foram as porcentagens de retenção foliar, estacas enraizadas e com brotação e de mortalidade, número de raízes por estaca, comprimento da maior raiz e massa seca da parte aérea e das raízes. A germinação das sementes de sachá inchi é epígea, do tipo fanerocotiledonar, com o processo germinativo estendendo-se entre 20 a 25 dias. No cultivo *in vitro*, o uso do meio de cultura MS sem a adição de sacarose permitiu a obtenção dos maiores índices de germinação (70%). Em todos os tipos de estacas utilizadas na propagação vegetativa verificou-se capacidade satisfatória (>50%) de enraizamento adventício, todavia, as estacas apicais foram as mais eficientes para enraizamento. As estacas apicais são capazes de enraizar sem aplicação de AIB, porém, concentrações entre 0,10 a 0,20 mg L⁻¹ de AIB são as mais indicadas na propagação vegetativa desta espécie.

Palavras-chave: ácido indolbutírico; análise de sementes; cultura de tecidos; estaquia; sacarose

Seed morphometry, *in vitro* germination and vegetative propagation in sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L.)

ABSTRACT: The aims of this study were to analyze the *in vitro* germination, seed germination processes and determine the best conditions of the vegetative propagation of sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L.). The morphobiometric traits of the seed were measured. Different sucrose concentrations during *in vitro* germination were analyzed. The effects of using indole-butyric acid (AIB) on the adventitious rooting of three types of sachá inchi cutting were also assessed. The percentages of foliar retention, rooted cuttings, cuttings with sprouting and mortality, number of roots per cutting, length of the largest root and dry mass of aerial part and roots were evaluated. Sachá inchi was found to exhibit phanerocotylar epigeal germination, taking from 20 to 25 days. For *in vitro* cultivation, MS culture medium without the addition of sucrose was used to obtain higher germination rates (70%). The types of cutting used in vegetative propagation produced satisfactory adventitious roots (> 50%), but apical cuttings were more efficient. They were also capable of rooting without the application of AIB, but concentrations of between 0.10 and 0.20 mg L⁻¹ AIB are recommended in the vegetative propagation of this species.

Key words: indole-butyric acid; seed analysis; tissue culture; cuttings; sucrose

Introdução

Plukenetia volubilis Linnaeus, conhecida popularmente como sachá inchi é uma planta nativa da Amazônia, com centro de origem no Peru, Colômbia, Venezuela e Brasil (Bordignon et al., 2012). A espécie era usada pelos incas na alimentação a milhares de anos atrás, tendo iniciado o processo de domesticação e agricultura.

A planta é uma trepadeira da família das euforbiáceas, com grande potencial para aplicações nas indústrias alimentar e farmacêutica (Krivankova et al., 2007), cujas sementes são ricas em óleos insaturados, ácido graxo α -linolênico (ω -3) e linoléico (ω -6) (Follegatti-Romero et al., 2009; Valente et al., 2017), que são ácidos graxos essenciais não sintetizados pelo organismo humano, sendo necessária sua ingestão. Vale ressaltar que outras espécies desta família são ótimos exemplares da alta capacidade de obtenção de óleo, destacando a mamona (*Ricinus communis* L.) e o pinhão-mansão (*Jatropha curcas* L.) (Santos et al., 2011).

No Brasil, o plantio da espécie vem se difundindo na região do Alto Solimões no Estado do Amazonas e nas proximidades de Manaus, em parte pela produção de sementes, mas também devido às características favoráveis ao reflorestamento e proteção de encostas contra a erosão, constituindo-se assim como uma boa alternativa a áreas degradadas e programas de agricultura familiar (Bordignon et al., 2012). As pesquisas relacionadas a diferentes métodos de propagação da espécie podem auxiliar na produção de mudas e propiciar um maior interesse pelo cultivo de sachá inchi.

Estudos envolvendo análises morfológicas de sementes são essenciais no entendimento do processo de germinação, assim como na caracterização do vigor e da viabilidade das mesmas (Matheus & Lopes, 2007). Além disso, a biometria da semente está relacionada às características da dispersão e estabelecimento de plantas, sendo o peso específico e o tamanho das sementes, em muitas espécies, indicativos de sua qualidade fisiológica.

Apesar da espécie se propagar geralmente por via seminal, o que ocasiona um plantio desuniforme e dificulta a expansão das áreas de plantio (Valente et al., 2017), a propagação *in vitro* pode promover avanços em seus cultivos, possibilitando maior precocidade e aumento na produção de frutos e sementes (Rodrigues et al., 2014). A germinação *in vitro* também pode fornecer explantes livres de contaminações que muitas vezes são difíceis de serem obtidos nos cultivos tradicionais.

Devido aos poucos trabalhos com a espécie que abordam estudos em cultura de tecidos vegetais (Bordignon et al., 2012), há necessidade da obtenção de protocolos mais eficientes para o estabelecimento da propagação *in vitro* de sachá inchi. Pesquisas sobre a suplementação dos meios de cultura com fontes exógenas de carboidratos e outros aditivos poderão maximizar a porcentagem de germinação, assim como permitirão a obtenção de plântulas com elevado vigor (Nunes et al., 2008).

Outro método de propagação que pode ser utilizado para obtenção de mudas na espécie é a propagação vegetativa (Ruíz-Solsol & Mesén, 2010). Dentre as suas diversas vantagens (Tosta et al., 2012) destaca-se a valiosa contribuição aos programas de melhoramento da espécie, uma vez que ambos os componentes, aditivos e não-aditivos, da variação genética total, são transferidos à próxima geração, permitindo a obtenção de altos ganhos genéticos em períodos curtos de tempo (Valente et al., 2017).

Embora os relatos de propagação vegetativa em sachá inchi sejam relativamente recentes, um dos principais métodos com potencial de utilização em nível comercial é a estaquia (Cachique et al., 2011). Todavia, o sucesso desta técnica ainda depende de maiores estudos relacionados à minimização de déficit hídrico nas estacas, otimização da fotossíntese durante o processo de propagação e uso de reguladores que favorecem a iniciação e desenvolvimento de raízes (Ruíz-Solsol & Mesén, 2010).

A existência de grandes desafios para que sachá inchi se torne viável para o cultivo em larga escala e produção de óleo é evidente, todavia, a biotecnologia, aliada a programas de melhoramento, poderá auxiliar no desenvolvimento de cultivares agrônômicos e na produção comercial de mudas com alta qualidade fitossanitária em menor período de tempo.

Diante do exposto, os objetivos do presente trabalho foram estudar a germinação *in vitro*, os processos germinativos de sementes e determinar as melhores condições da propagação vegetativa de sachá inchi.

Material e Métodos

O material vegetal utilizado neste estudo foi coletado de plantas matrizes selecionadas de *P. volubilis* pertencentes ao Banco Ativo de Germoplasma da espécie, localizado na Embrapa Amazônia Ocidental, no município de Manaus, Estado do Amazonas.

Neste estudo, foram mensurados e descritos os caracteres morfológicos da semente, determinada a melhor concentração de sacarose no processo germinativo *in vitro* e avaliado o efeito da utilização de ácido indolbutírico (AIB) no enraizamento adventício de três tipos de estacas de sachá inchi.

Morfometria de sementes e descrição da germinação

A análise biométrica (comprimento, largura, espessura e peso fresco de 1000 sementes) das sementes de sachá inchi foi realizada. O peso de mil sementes foi determinado por meio de balança de precisão (0,0001 g) a partir da contagem de oito subamostras de 100 sementes tomadas ao acaso, sendo os valores expressos em gramas, conforme Brasil (2009). Comprimento, largura e espessura de 200 sementes foram determinados com auxílio de paquímetro digital (0,01 mm), em que considerou-se como comprimento a região compreendida entre a porção basal e a apical da semente, sendo a largura e espessura tomados na porção intermediária desta.

Um total de 100 sementes de sachá inchi, tomadas aleatoriamente, foram utilizadas na avaliação de aspectos externos (envoltórios, cor, textura, consistência, forma e posição do hilo, micrópila e rafe) e internos (presença ou ausência de endosperma, tipo, forma, cor e posição dos cotilédones, do eixo hipocótilo-radícula e da plúmula) de sementes da espécie, conforme descrito por Barroso et al. (1999). Os aspectos internos das sementes foram verificados através de cortes longitudinais e transversais e analisados com auxílio de lupa (4x), enquanto a descrição da germinação foi realizada de acordo com Abreu et al. (2005).

Germinação em cultivo *in vitro*

As sementes de sachá inchi passaram por beneficiamento, sendo descartadas aquelas com defeitos e perfurações, posteriormente foram lavadas em água e detergente neutro e submetidas à desinfestação por 30 minutos em hipoclorito de sódio (2,5% de cloro ativo), seguida por desinfestação por mais 5 minutos em mesma solução após retirada dos tegumentos. Decorrido esse período, estas foram lavadas em água deionizada e seguiram-se as práticas de inoculação de semente em meio de cultura para germinação.

Em capela de fluxo laminar, as sementes foram incubadas em frascos de vidro (250 mL) vedados com tampas de polietileno contendo 30 mL de meio MS (Murashige & Skoog, 1962), o qual continha concentração original de sais, vitaminas de MS, sendo geleificado com 6,0 g L⁻¹ de ágar, pH ajustado a 5,8 e previamente esterilizado em autoclave à 121 °C por 15 minutos. Diferentes concentrações de sacarose (tratamentos) foram avaliadas nas seguintes dosagens: 1,5, 3,0, 4,5 e 6,0% e mais o tratamento controle sem adição de sacarose.

Após inoculação em meio de cultura, os frascos contendo as sementes foram conduzidos à sala de crescimento com temperatura de 27 ± 2 °C, umidade relativa do ar de 70%, luminosidade de 52 μmol m⁻² s⁻¹ de irradiância e fotoperíodo de 16 h luz⁻¹. O delineamento utilizado foi de blocos ao acaso, com quatro repetições e quinze unidades amostrais por repetição. Ao final de 30 dias foram avaliados o percentual de sementes completamente germinadas, com desenvolvimento de raízes e parte aérea com início de brotações, e sementes que germinaram apenas inicialmente com o prolongamento da raiz primária, não passando deste estágio de crescimento.

Propagação vegetativa por meio de estacas herbáceas

O trabalho de avaliação da propagação vegetativa por meio de estaquia foi desenvolvido em casa de vegetação com nebulização intermitente e temperatura de 28 ± 2 °C e 90% de umidade relativa. Os ramos utilizados para a retirada das estacas foram coletados nas primeiras horas da manhã, sendo selecionados aqueles mais vigorosos, com 30 a 50 cm de comprimento.

Os ramos foram divididos em três porções: apical, mediana e basal, foram confeccionadas estacas com 8 cm de comprimento, com cortes em bisel na base e reto no ápice,

além da redução de metade da área foliar na porção mediana e basal, bem como manutenção das folhas inteiras na porção apical. Durante o processo de confecção, as estacas foram mantidas em baldes com água para evitar a desidratação.

Seguido à limpeza e desinfecção, cerca de 1,0 cm da base das estacas foi mergulhada por 10 segundos em solução hidroalcoólica a 50% (v/v) de ácido indolbutírico (AIB) nas concentrações de 500, 1000, 1500 e 2000 mg L⁻¹. O tratamento testemunha consistiu apenas na utilização de água e álcool (1:1), sem adição de AIB. Em seguida, as estacas foram plantadas em tubetes contendo como substrato areia e vermiculita, na proporção 1:1.

O delineamento experimental adotado foi de blocos ao acaso, com tratamentos distribuídos em esquema fatorial 3 x 5 (tipos de estacas e concentrações de AIB), com quatro repetições de dez estacas por unidade experimental, totalizando 600 estacas avaliadas.

Ao final de 30 dias da instalação do experimento foram avaliadas as seguintes variáveis: a) porcentagem de estacas com emissão de raízes adventícias - estacas vivas com raízes de mínimo 2 mm de comprimento, podendo ou não ter calos; b) número total de raízes por estaca - contabilizadas manualmente com auxílio de uma pinça; c) comprimento da maior raiz por estaca (cm) - mensuradas com auxílio de paquímetro; d) porcentagem de brotações - estacas vivas, com ou sem formação de raízes e calos, com brotações de folhas novas; e) porcentagem de retenção foliar - estacas vivas, com ou sem formação de raízes e calos, que mantiveram a folha original no momento da instalação da estaquia; f) porcentagem de mortalidade - estacas que se encontravam com tecidos necrosados; g) matéria seca da parte aérea e; h) matéria seca das raízes, ambos avaliados individualmente por estaca após passagem por estufa com circulação de ar forçada a 65 °C por 48 horas, com posterior pesagem em balança de precisão.

Anterior às análises estatísticas, os dados expressos em porcentagem foram transformados pela fórmula $\arcsen \sqrt{x/100}$ e então submetidos à análise de variância, sendo as médias com diferenças estatísticas pelo teste F comparadas pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

Resultados e Discussão

Morfometria de sementes e descrição da germinação

A forma da semente de *P. volubilis* é lenticulada, comprimida lateralmente, dorso convexo, envoltório liso, coloração marrom, marcadas por suaves estrias, sendo mais evidenciada quando as sementes se encontram úmidas (Figura 1A). A rafe é evidente e não há presença de carúncula, estrutura comum em sementes de algumas euforbiáceas, tais como a mamona (Figura 1B).

Na parte interna aos tegumentos encontra-se um endosperma de coloração branca a creme, tenro e rico em óleo (Figura 1C); o embrião possui dois cotilédones foliáceos, muito largos, porém, pouco espessos, cujo contorno dos mesmos é ovalado a reniforme, com as nervuras bem

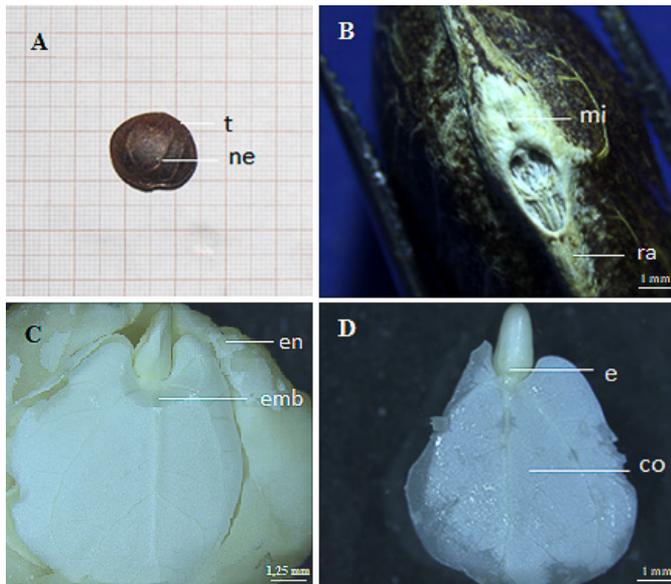


Figura 1. Aspectos morfológicos de sementes de *Plukenetia volubilis*. A) semente (t - tegumento, ne - nervura); B) detalhe da semente (mi - micropila, ra - rafe); C) en - endosperma, emb - embrião; D) detalhe do embrião com cotilédones foliáceo (e - eixo embrionário, co - cotilédone).

visíveis, contendo também o eixo hipocótilo-radícula de forma cilíndrica e reta (Figura 1D).

A germinação das sementes de sachá inchi é epígea, do tipo fanerocotiledonar, cuja parte aérea é elevada para fora do substrato envolvida ainda pelos cotilédones, num mecanismo rápido e vigoroso de crescimento inicial do eixo hipocótilo-radicular, ao passo que o epicótilo e as folhas primárias, no interior dos cotilédones, praticamente não crescem (Figura 2). Posteriormente, à medida que o eixo hipocótilo-radicular se desenvolve, forma-se, próximo do nó cotiledonar, uma alça, que é a primeira parte da plântula a atingir a superfície do substrato, a qual fica ereta assim que a plântula prossegue seu desenvolvimento. Em uma extremidade desta alça está o sistema radicular, crescendo ativamente, enquanto na outra, estão os cotilédones, trazendo em seu interior o epicótilo e a plúmula. Posteriormente, esta alça eleva os cotilédones acima do nível do substrato, e conseqüentemente, há um maior desenvolvimento do epicótilo em relação ao hipocótilo, originando a parte aérea.

Em termos cronológicos, dois dias após o intumescimento da semente ocorre a protrusão da raiz primária com o rompimento do tegumento e posterior desenvolvimento da raiz. A partir do oitavo dia ocorre o desprendimento do tegumento e, entre o 12° e 15° dias há degradação total do endosperma, com posterior desenvolvimento das folhas cotiledonares e da região do epicótilo, sendo que todo processo germinativo durou entre 20 a 25 dias, finalizando com a formação da plântula normal.

Quanto à biometria das sementes observou-se comprimento médio de 17,45 mm (variando de 13,28 a 20,30 mm), largura média de 15,05 mm (variando de 11,94 a 17,71 mm) e espessura média de 8,18 mm (variando de



Figura 2. Aspecto morfológico da germinação de *Plukenetia volubilis* do 2° ao 20° dia de semeadura.

6,58 a 9,83 mm). O peso médio de 1000 sementes foi de 0,812 kg, com o peso de cada semente variando de 0,752 a 0,867 g, sendo os valores muito próximos aos verificados por Cardoso et al. (2015) e Valente et al. (2017) trabalhando com mesma espécie.

Germinação em cultivo *in vitro*

A suplementação de meios de cultura tem sido importante tanto para maximizar a porcentagem de germinação quanto para obtenção de plântulas com elevado potencial fisiológico para serem utilizadas como fonte de explantes, em estudos sobre embriogênese somática ou organogênese (Nunes et al., 2008; Lopes et al., 2012). No presente trabalho, o percentual de germinação foi influenciado negativamente pela adição de sacarose (Figura 3), uma vez que no tratamento controle, sem adição de sacarose, obtiveram-se os maiores percentuais de germinação (aproximadamente de 70%) e desenvolvimento completo de plântulas.

Em sachá inchi, o meio de cultura MS acrescido de sacarose (30,0 g L⁻¹) foi indicado por Bordignon et al. (2012) como viável para o cultivo *in vitro* e posterior produção de mudas, sendo recomendada a utilização de explantes da região apical de sementes germinadas. Os autores

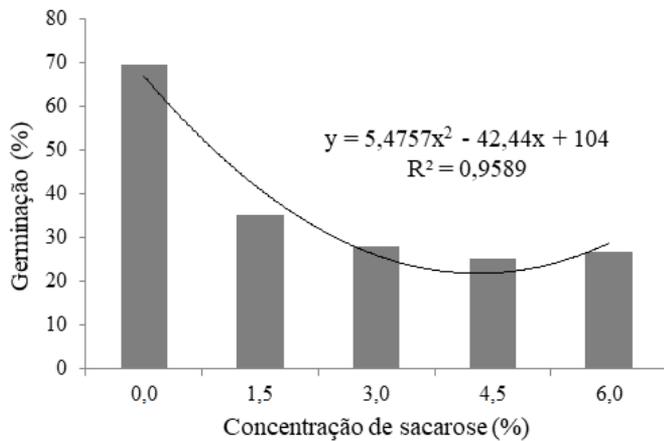


Figura 3. Percentual de germinação *in vitro* de *Plukenetia volubilis* em função de diferentes concentrações de sacarose no meio de cultivo (meio MS).

ainda comentaram que mesmo com trabalhos reduzidos em cultura de tecidos vegetais, algumas euforbiáceas têm resposta positiva à incorporação de aditivos ao meio de cultivo, a exemplo do verificado em trabalho de Nunes et al. (2008) com pinhão-manso.

No entanto, verificou-se no presente trabalho que a presença de maior concentração de sais no meio de cultura interferiu no potencial osmótico e, conseqüentemente, na disponibilidade de água para o processo de embebição da semente durante a germinação. Tais constatações, provavelmente, devem-se ao fato de que a semente possua em sua reserva nutritiva um teor de sacarose que lhe permita a emissão da plúmula e raiz primária. Adicionalmente, a maior concentração de sacarose presente no meio extracelular pode ter provocado maior perda de água devido à pressão

osmótica exercida sobre a semente. Paiva Neto & Otoni (2003) relataram que a contribuição osmótica da fonte de carbono (sacarose) tem relação inversa com a concentração da fonte de carbono.

Propagação vegetativa por meio de estacas herbáceas

Ao avaliar a retenção foliar em estacas de sachá inchi houve diferença significativa quanto ao tipo de estaca, porém as doses de AIB não influenciaram independentemente este caractere (Tabela 1). Por conter folhas mais velhas, as estacas medianas e basais, possivelmente, combinando outros fatores como a menor incidência de luz ao longo do tempo, reduziram a capacidade das folhas permanecerem na estaca, de modo que as estacas apicais retiveram folhas suficientes para afetar positivamente o enraizamento adventício.

Estes resultados corroboram com os dados obtidos por Ruiz-Solsol & Mesén (2010), em que nas estacas apicais de sachá inchi houve 93,5% de retenção foliar, sendo significativamente superior aos demais tipos de estacas. Ainda neste estudo, os autores afirmaram que uma maior quantidade de assimilados são garantidos pela maior retenção de folhas e que ao serem somados as reservas presentes na estaca, permitem um aumento no número de raízes emitidas e na capacidade de reiniciar o crescimento da parte aérea.

Os resultados também demonstram que houve influência significativa da interação TE x AIB (tipo de estaca e concentração de ácido indolbutírico) na retenção foliar, em que a combinação de uso de estacas apicais e concentração de 0,10 mg L⁻¹ de AIB foi a mais favorável, com uma retenção foliar de 67,5%.

Os percentuais de enraizamento indicaram superioridade da utilização de estacas apicais, resultado também

Tabela 1. Análise de variância e comparação de médias para as porcentagens de retenção foliar, estacas enraizadas, estacas com brotação e de mortalidade, número de raízes por estaca, comprimento da maior raiz e massa seca (MS) da parte aérea e das raízes, avaliadas em *Plukenetia volubilis* a partir de diferentes concentrações de ácido indolbutírico (AIB) e tipos de estacas (TE).

Tratamento	Retenção foliar	Estacas enraizadas	Brotação	Mortalidade	Raízes/Estaca	Comp. da maior raiz	MS aérea	MS raízes	
	%				(nº)	(cm)	g kg ⁻¹		
Estacas									
Apical	51 a	67 a	13 a	33 a	12 a	6,1 a	8,2 c	4,8 a	
Mediana	43 ab	53 b	21 a	44 a	11 ab	7,5 a	11,1 b	5,5 a	
Basal	38 b	51 b	19 a	46 a	9 b	7,2 a	12,6 a	5,0 a	
AIB (mg L⁻¹)									
0,00	39 a	60 a	30 a	34 a	5 c	7,6 a	10,7 a	2,3 b	
0,05	41 a	51 a	18 ab	45 a	9 b	6,8 a	11,2 a	4,9 ab	
0,10	53 a	65 a	16 ab	34 a	12 ab	7,6 a	10,0 a	5,8 a	
0,15	42 a	58 a	17 ab	43 a	13 a	7,1 a	10,1 a	7,0 a	
0,20	43 a	50 a	7 b	50 a	14 a	5,7 a	11,3 a	5,7 a	
Causa de variação	GL	Teste de hipótese							
TE	2	*	**	ns	ns	**	ns	**	ns
AIB	4	ns	ns	**	ns	**	ns	ns	**
TE x AIB	8	*	ns	ns	ns	ns	ns	**	ns
Resíduo	45								
CV (%)		25,3	20,8	47,8	28,2	25,7	16,7	15,6	77,7

ns - não significativo ($p \geq 0,05$); ** significativo ($p < 0,01$) e * ($p < 0,05$) respectivamente, pelo teste F. Médias seguidas da mesma letra nas colunas não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste Tukey.

verificado por Ruíz-Solsol & Mesén (2010), que obtiveram um enraizamento de 73,1% em estacas apicais produzidas em câmaras de subirrigação. Um fato relacionado ao enraizamento adventício de estacas é que dentro do balanço hormonal presente nos ramos das plantas, quanto mais próximo das regiões apicais dos ramos, maior é a produção de auxinas e, conseqüentemente, maior é a indução de raízes em estacas oriundas desta parte do ramo.

Para as porcentagens de brotações nas estacas, obtidas a partir das concentrações de AIB, houve diferenças estatísticas significativas, demonstrando que o regulador exerceu influência sobre este caractere. Porém, da testemunha até a dosagem de 0,15 mg L⁻¹ de AIB, as médias foram estatisticamente iguais, com apenas a concentração de 0,20 mg L⁻¹ sendo inferior as demais. A ausência de AIB (0 mg L⁻¹) foi a que proporcionou a maior taxa de brotação (30%), neste caso, ocorreu maior direcionamento dos assimilados para os brotos, reduzindo, assim, a capacidade de emissão de raízes.

A mortalidade das estacas não foi influenciada significativamente pelo tipo de estaca nem pelas concentrações de AIB, sendo que a porcentagem de mortalidade variou de 33 a 50%. No entanto, o uso de viveiros com maior controle dos efeitos ambientais deve proporcionar melhores resultados comparativamente aos obtidos neste trabalho, a exemplo de Cachique et al. (2011), que obtiveram menores porcentagem de mortalidade (0 a 31,25%) para sachá inchi a partir do uso de câmaras de subirrigação.

O número de raízes adventícias das estacas apicais foi superior às estacas do tipo mediana e basal, cujo padrão está em conformidade com a explicação de Veierskov (1988), que descreveu uma relação positiva com capacidade de enraizamento e o número de raízes formadas em diferentes estacas lenhosas e herbáceas, acrescentando que é comum que exista um gradiente na concentração de hidratos de carbono desde o ápice até a base dos ramos.

Por sua vez, Hartmann et al. (2011) relataram que os cortes mais espessos da porção basal dos ramos acumulam mais reservas de carboidratos e, com a influência de substâncias que promovam o enraizamento há uma maior probabilidade de induzir raízes. Fato este que não foi observado para sachá inchi porque o processo ocorreu de forma inversa, e as estacas mais herbáceas (região apical) propiciaram o melhor enraizamento, possivelmente por ser uma região de maior crescimento e as maiores concentrações de assimilados estejam ali presentes.

Com o aumento das doses de AIB, a tendência do número médio de raízes por estacas foi de crescimento típico, como tem sido observado em outras espécies tropicais (Ramos et al., 2003; Bitencourt et al., 2011). Segundo Ramos et al. (2003), o fornecimento exógeno de auxina, em certas quantidades, pode promover uma alteração hormonal, favorecendo ou não o enraizamento de estacas. Normalmente, há um aumento na capacidade de enraizamento conforme se eleva as doses de auxina até se atingir uma dose ótima, a partir da qual qualquer aumento nesta dose provoca uma diminuição no enraizamento devido aos efeitos tóxicos do AIB. Os efeitos

positivos das auxinas de enraizamento têm sido associados com os seus efeitos sobre a divisão celular.

Em relação ao comprimento das raízes não houve diferença estatística significativa nas diferentes concentrações de AIB e nem quanto ao tipo de estacas utilizadas, sendo obtido um valor médio de 6,96 cm para o comprimento da maior raiz por estaca.

Para a massa seca da parte aérea, o tipo de estaca diferiu estatisticamente pelo teste F, com os maiores valores nas estacas basais. Levando em consideração que as estacas basais obtiveram os menores percentuais de enraizamento e números de raízes, é possível que este tipo de estaca tenha uma maior predisposição em redirecionar os assimilados para a parte aérea, fato esse que pode ser explicado pelo maior acúmulo de carboidratos em tecidos mais velhos, que é o caso das estacas basais. Deve ainda ser ressaltado que os maiores incrementos de massa seca em estacas basais foram obtidos com a adição de 0,20% de AIB, sendo que neste estudo esta combinação proporcionou uma massa seca da parte aérea de 15,3 g kg⁻¹.

Para a massa seca de raízes, o único fator que exerceu influência significativa foi o AIB, ou seja, a medida que foram adicionadas doses crescente de AIB houve um incremento no conteúdo de massa seca de raízes. As concentrações de 0,10; 0,15 e 0,20% de AIB foram superiores às demais, evidenciando a importância da adição exógena de auxina para o aumento de enraizamento e, conseqüentemente, um maior volume de raízes.

Conclusões

As sementes de sachá inchi são lenticuladas, endospermicas com cotilédones foliáceos e a germinação é do tipo epigea, com o processo germinativo estendendo-se entre 20 a 25 dias;

No cultivo *in vitro*, o uso de meio de cultura sem a adição de sacarose permite a obtenção de maiores índices de germinação;

Estacas apicais são as mais eficientes para enraizamento, sendo recomendado a aplicação de 0,10 a 0,20 mg L⁻¹ de ácido indolbutírico para a propagação vegetativa da espécie.

Agradecimentos

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas (FAPEAM) pelo apoio financeiro na realização deste trabalho.

Literatura Citada

- Abreu, D.C.A.; Kuniyoshi, Y.S.; Nogueira, A.C.; Medeiros, A.C.S. Caracterização morfológica de frutos, sementes e germinação de *Allophylus edulis*. Revista Brasileira de Sementes, v.27, n.2, p.59-66, 2005. <https://doi.org/10.1590/S0101-31222005000200009>.

- Barroso, G.M.; Morim, M.P.; Peixoto, A.L.; Ichaso, C.L.F. Frutos e sementes: morfologia aplicada à sistemática de dicotiledôneas. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 1999. 443p.
- Bitencourt, G.A.; Brum, G.R.; Farevo, S. Uso do ácido indolbutírico no enraizamento de estacas de espiroleira-branca. Revista Trópica - Ciências Agrárias e Biológicas, v.5, n.3, p.39-46, 2011. <http://www.periodicoeletronicos.ufma.br/index.php/ccatropica/article/view/135>. 03 Feb. 2018.
- Bordignon, S.R.; Ambrosano, G.M.B.; Rodrigues, P.H.V. Propagação in vitro de sachá inchi. Ciência Rural, v.42, n.7, p.1168-1172, 2012. <https://doi.org/10.1590/S0103-84782012005000049>.
- Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Regras para análise de sementes. Brasília: MAPA/ACS, 2009. 395p. http://www.agricultura.gov.br/assuntos/insumos-agropecuarios/arquivos-publicacoes-insumos/2946_regras_analise_sementes.pdf. 18 Jan. 2017.
- Cachique, D.; Rodriguez, A.; Ruiz-Solsol, H.; Vallejos, G.; Solis, R. Propagación vegetativa del sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L.) mediante enraizamiento de estacas juvenile sen cámaras de subirrigación em la Amazonia Peruana. Folia Amazónica, v.20, n.1-2, p.95-100, 2011. <https://doi.org/10.24841/fa.v20i1-2.348>.
- Cardoso, A.A.; Obolari, A.M.M.; Borges, E.E.L.; Silva, C.J.; Rodrigues, H.S. Environmental factors on seed germination, seedling survival and initial growth of sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L.). Journal of Seed Science, v.37, n.2, p.111-116, 2015. <https://doi.org/10.1590/2317-1545v37n2145054>.
- Follegatti-Romero, L.A.; Piantino, C.R.; Grimaldi, R.; Cabral, F.A. Supercritical CO₂ extraction of omega-3 rich oil from sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L.) seeds. The Journal of Supercritical Fluids, v.49, n.3, p.323-329, 2009. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2009.03.010>.
- Hartmann, H.T.; Kester, D.E.; Davies Junior, R.T.; Geneve, R.L. Plant propagation: principles and practices. 8.ed. New Jersey: Prentice Hall, 2011. 915p.
- Krivankova, B.; Polesny, Z.; Lojka, B.; Lojkova, J.; Banout, J.; Preininger, D. Sachá Inchi (*Plukenetia volubilis*, Euphorbiaceae): a promising oilseed crop from Peruvian Amazon. In: Tropentag, 2007, Witzenhausen. Proceedings. Witzenhausen: University of Kassel, 2007. http://www.tropentag.de/2007/abstracts/links/Krivankova_NnQmCSMU.pdf. 07 Feb. 2018.
- Lopes, L.C.; Machado, I.S.; Magoga, E.C.; Andrade, J.G.; Penna, H.C.; Moraes, L.E.F. Cultura de embrião e indução de brotos in vitro para micropropagação do pinhão-mansão. Pesquisa Agropecuária Brasileira, v.47, n.7, p.900-905, 2012. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2012000700004>.
- Matheus, M.T.; Lopes, J.C. Morfologia de frutos, sementes e plântulas e germinação de sementes de *Erythrina variegata* L. Revista Brasileira de Sementes, v.29, n.3, p.8-15, 2007. <https://doi.org/10.1590/S0101-31222007000300002>.
- Murashige, T.; Skoog, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiologia Plantarum, v.15, n.3, p.473-497, 1962. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x>.
- Nunes, C.F.; Pasqual, M.; Santos, D.N.; Custódio, T.N.; Araújo, A.G. Diferentes suplementos no cultivo in vitro de embriões de pinhão-mansão. Pesquisa Agropecuária Brasileira, v.43, n.1, p.9-14, 2008. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2008000100002>.
- Paiva Neto, V.B.; Otoni, W.C. Carbon sources and their osmotic potential in plant tissue culture: does it matter? Scientia Horticulturae, v. 97, n.3-4, p.193-202, 2003. [https://doi.org/10.1016/S0304-4238\(02\)00231-5](https://doi.org/10.1016/S0304-4238(02)00231-5).
- Ramos, J.D.; Matos, L.E.S.; Gontijo, T.C.A.; Pio, R.; Junqueira, K.P.; Santos, F.C. Enraizamento de estacas herbáceas de 'Mirabolano' (*Prunus cerasifera* Ehrh) em diferentes substratos e concentrações de ácido indolbutírico. Revista Brasileira de Fruticultura, v.25, n.1, p.189-191, 2003. <https://doi.org/10.1590/S0100-29452003000100053>.
- Rodrigues, P.H.V.; Bordignon, S.R.; Ambrosano, G.M.B. Desempenho horticultural de plantas propagadas in vitro de sachá inchi. Ciência Rural, v.44, n.6, p.1050-1053, 2014. <https://doi.org/10.1590/S0103-84782014000600016>.
- Ruiz-Solsol, H.; Mesén, F. Efecto del ácido indolbutírico y tipo de estacilla em el enraizamiento de sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L.). Agronomia Costarricense, v.34, n.2, p.259-267, 2010. <http://revistas.ucr.ac.cr/index.php/agrocost/article/view/3636/3541>. 07 Jul. 2017.
- Santos, H.R.B.; Ribeiro, M.S.; Medeiros, D.B.; Nogueira, R.J.M.C. Morfometria de sementes de pinhão mansão (*Jatropha curcas* L.). Revista Scientia Plena, v.8, n.4, p.1-4, 2011. <https://www.scientiaplena.org.br/sp/article/viewFile/1021/543>. 07 Jul. 2017.
- Tosta, M.S.; Oliveira, C.V.F.; Freitas, R.M.O.; Porto, V.C.N.; Nogueira, N.W.; Tosta, P.A.F. Ácido indolbutírico na propagação vegetativa de cajaraneira (*Spondias* sp.). Semina: Ciências Agrárias, v.33, n.1, p.2727-2740, 2012. <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2012v33Supl1p2727>.
- Valente, M.S.F.; Chaves, F.C.M.; Lopes, M.T.G.; Oka, J.M.; Rodrigues, R.A.F. Crop yield, genetic parameter estimation and selection of sachá inchi in central Amazon. Pesquisa Agropecuária Tropical, v.47, n.2, p.226-236, 2017. <https://doi.org/10.1590/1983-40632016v4745758>.
- Veierskov, B. Relations between carbohydrates and adventitious root formations. In: Davies, T.D.; Haissig, B.E.; Sankhla, N. (Eds.). Adventitious root formation in cuttings. Portland: Discorides, 1988. p.70-78.