

Bio. 276



UNIVERSIDADE EDUARDO MONDLANE

FACULDADE DE CIÊNCIAS

Departamento de Ciências Biológicas

TRABALHO DE CULMINAÇÃO DE ESTUDOS

TEMA:

Estudo da aclimatização de plântulas de batata reno
(*Solanum tuberosum*) produzidas *in vitro*.



Autora: Sheila Cláudia Nhate

Maputo, Dezembro de 2008



UNIVERSIDADE EDUARDO MONDLANE

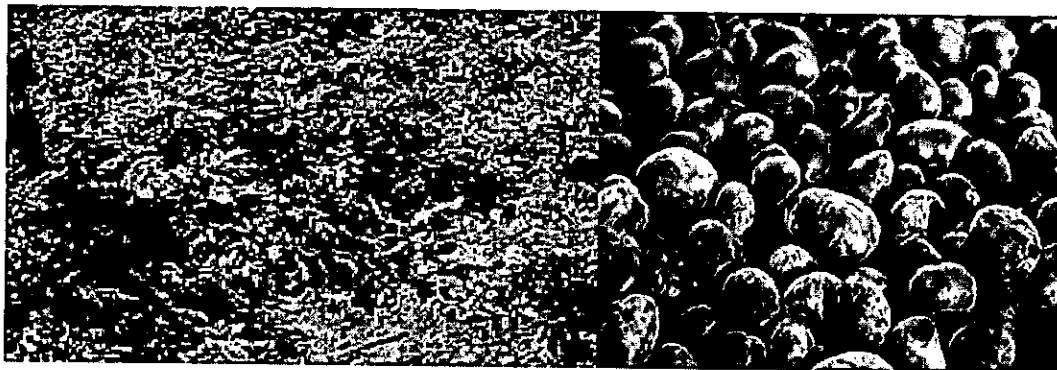
FACULDADE DE CIÊNCIAS

Departamento de Ciências Biológicas

TRABALHO DE CULMINAÇÃO DE ESTUDOS

TEMA:

**Estudo da aclimatização de plântulas de batata reno
(*Solanum tuberosum*) produzidas *in vitro*.**



Supervisores: Prof Doutor. Orlando Quilambo
dra. Célia Martins
dra. Sónia Ventura

Co Supervisor: dr. Sofrimento Matsimbe

Maputo, Dezembro de 2008

Agradecimentos

A Universidade Eduardo Mondlane pelos conhecimentos adquiridos durante a minha formação.

Ao Laboratório de Cultura de Tecidos do Instituto de Investigação Agrária (IIAM) pela concessão do estágio e a realização da pesquisa para a culminação dos estudos.

Ao dr Sofrimento Matsimbe pela amizade, apoio e incentivo no trabalho.

A dr^a Célia Martins pelo apoio e conhecimentos adquiridos.

A Prof.^{outa} DR. Orlando Quilambo pelo apoio e conhecimentos adquiridos.

Ao 5to maravilha, Damboia, Sádía, Samira, Isabel pela amizade, apoio em todos momentos

A todos trabalhadores e estagiários do laboratório de cultura de tecidos do IIAM pela amizade e apoio durante a minha estadia.

A meu grande amigo Adelino Dias pela amizade, incentivo e apoio na realização do trabalho.

A todos professores da Universidade Eduardo Mondlane que contribuíram para a minha formação.

Dedicatória

Dedico este trabalho

A meus pais João Nhate e Elisa João Matavele, pelo incentivo, lições e exemplo de vida porque *o verdadeiro valor do Homem, não esta na capacidade de gerar filhos mais sim na coragem de os cria-los.*

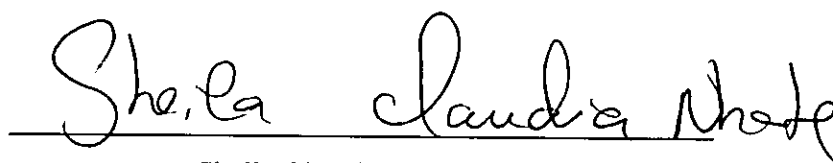
A meus irmãos Inocência, Alcinda, Percilda, Lourena e Dario. Ao meu namorado Duarte Macamo pelo incentivo e compreensão nos momentos da minha ausência.

Não se mede o valor de um Homem pelas suas roupas ou pelos bens que possui, o verdadeiro valor de um homem é o seu carácter, suas idéias e a natureza dos seus ideais

Charles Chaplin

Declaração de honra

Declaro pela minha Honra que os dados presentes neste trabalho reflectem a verdade encontrada no campo e são produto do meu desempenho.



Sheila Cláudia João Nhate

Lista de abreviaturas

IIAM- Instituto de investigação agrícola de Moçambique

ANOVA- Análise de variância

DDT- Dias depois do transplante

DCC- Delineamento completamente casualizado

CIAT- Centro Internacional de Agricultura Tropical

IITA- International Institute of Tropical Agriculture

PPF- Peso fresco da folha

PFR- Peso fresco da raiz

CR- Comprimento da raiz

NF- Numero de folhas

NR- Numero de raízes

SUB- Substrato

EMBRAPA- Empresa Brasileira de pesquisa Ágro-pecuária

PMR- Peso médio das raízes

PMF- Peso médio das folhas

CMR- Comprimento médio das raízes

CMP- comprimento médio da planta

NMR- Número médio vde raízes

NMF- Número médio de folhas

E₁. Primeiro estágio de desenvolvimento

E₂. Segundo estágio de desenvolvimento

E₃. Terceiro estágio de desenvolvimento

Glossário

Planta matriz - Planta a qual serão retirados os explantes, ou seja, os segmentos de tecido ou órgão vegetal utilizado para iniciar a cultura *in vitro*

Aclimatização- Processo de adaptação de plântulas produzidas *in vitro* às condições ambientais antes de transferência destas para o local definitivo.

Câmara de humidade- Estrutura que consiste numa base circular ou rectangular que se encontra no interior de um plástico transparente, completamente fechado.

Ex vitro- Crescimento fora do corpo vivo, em ambiente natural.

In vitro- Crescimento fora do corpo vivo em ambiente artificial.

Tubérculo – Caule volumoso, órgão de reserva, desprovido de raízes.

Tubérculo semente- Tubérculo da batata usado para produção de batata as células tendem a formar tecidos diferenciados e especializados. Os meristemas encontram-se nas áreas de crescimento como gomos e ápices.

Meristema- Região de rápida divisão celular.

Plântula- Condição do embrião vegetal após o processo de germinação, isto é, embrião vegetal já desenvolvido.

Resumo

Com objectivo de estudar as condições ideais para aclimatização de Batata reno, foram realizados três ensaios, os dois primeiros no inverno nos finais do mês de Abril á Junho, outro no mês de Julho á Agosto e o ultimo ensaio foi realizado no verão no mês de Outubro á Novembro. Nos três ensaios usou-se o plântulas do clone 800946, que se encontravam em três estágios diferentes de desenvolvimento onde as principais diferenças dos estagios são a localização das raízes nas plântulas, a quantidade das raízes, o estado fisiológico das folhas e o tempo de vida das plântulas no laboratório. Os ensaios foram montados numa das estufas do IIAM. Nos três ensaios fez-se diariamente três registos de temperatura em periodos diferentes e calculava-se a média diária, os resultados mostraram que as plantas tiveram maior desenvolvimento e maiores taxas de sobrevivência no segundo ensaio onde as temperaturas médias foram mais baixas. O terceiro estágio caracterizado por possuir plantas mais novas, com raízes apenas na base das plântulas é o ideal para tirar as plântulas do laboratório para aclimatização, porque em todos os ensaios as plântulas do terceiro estágio apresentaram rápida adaptação ao substrato, crescimento rápido, eram morfológicamente mais robustas e apresentaram maiores taxas de sobrevivência em relação aos outros estágios de desenvolvimento.

Índice

1. Introdução	1
2. Importância do estudo.....	2
3. Objectivos	3
3.1. Objectivo geral.....	3
3.2. Objectivos específicos	3
4. Revisão bibliográfica	4
4.1. Origem e distribuição.....	4
4.2. Taxonomia e morfologia da batata Reno	4
4.2.1. Morfologia	6
4.3. Importância e produção da batata Reno.....	7
4.3.1. Importância	7
4.3.1.2. Composição bioquímica da batata reno	7
4.3.2 Produção	8
4.4. Condições de cultivo da batata Reno	8
4.5. Toxinas naturais.....	9
4.6. Pragas e doenças	10
4.6.1. Condições ambientais favoráveis para a ocorrência de doenças	10
4.7. Cultura de tecidos	11
4.7.1. Aclimatização	14
5.1. Área de estudo.....	15
5.2. Materiais e métodos	15
5.2.1. Equipamentos e material experimental.....	15
5.2.2. Preparação das Soluções.....	16
5.2.3. Método - principio	16
5.3. Procedimentos.....	16
5.3.1. Preparação da estufa e de câmaras de humidade.	16
5.3.2. Transferência e aclimatização das plântulas de Batata reno produzidas in vitro	17
5.4 Observação e controle das plantas.....	18

5.5. Parâmetros de medição e os métodos aplicados	18
5.5.2. Delineamento experimental	19
5.8. Análise de dados	19
6. Resultados	20
6.1. Desenvolvimento fenológico	20
6.2. Efeito temperatura.....	20
6.3. Taxa de sobrevivência.....	21
5.3. Parâmetros de crescimento	22
5.3.1. Peso fresco das raízes.....	22
5.3.2. Peso fresco das folhas	23
5.3.3. Comprimento das raízes.....	25
5.3.4. Comprimento da planta.....	26
5.3.5. Número de raízes	27
5.3.6. Número de folhas.....	28
6. Discussão	29
Efeito temperatura.....	29
7. Conclusão.....	31
8. Recomendações.....	32
9. Referências bibliográficas.....	33

1. Introdução

A batata reno, *Solanum tuberosum* L., é nativa dos Andes, onde já era consumida há 8000 anos pelas populações nativas. Foi levada à Europa pelos colonizadores por volta de 1570. A cultura de batata reno situa-se entre as quatro mais importantes para a produção de alimentos no mundo, depois do trigo, arroz e milho (Singh, 1999 citado por Silva e Bisognin, 2004).

A parte comestível da planta é o tubérculo, as outras partes da planta apresentam concentrações elevadas de toxinas naturais, os glicoalcalóides. A planta da batata adquiriu tamanha importância devido ao seu valor alimentar (FBCI, sem ano).

Em Moçambique a cultura da batata é efectuada tendo em vista a alimentação humana, ela é cultivada em consociação com milho e feijão vulgar, em sequeiro entre os meses de Novembro e Abril, em monocultura ou consociação, no tempo seco entre Junho e Novembro (IIAM, 2006).

Um dos factores que limita a produção da batata reno é a sua susceptibilidade a grande número de doenças. Por ser uma cultura propagada vegetativamente, uma vez infectados, os tubérculos-semente levam à degenerência da cultura com influências directas sobre a produtividade (Assis, 1999; Lopes e Reifschneider, 1999 citados por Pereira e Fortes, 2004).

A aclimatização é o processo pelo qual as plantas produzidas em condições *in vitro* são transferidas para um ambiente com as condições climáticas naturais. A passagem de plantas para estas novas condições é realizada progressivamente de modo que elas sofram menos stress possível, fraco desenvolvimento ou até mesmo na morte das plantas (Brainerd & Fuchigami, 1981 citados por Pereira *et al.*, 2006).

O presente trabalho teve como objectivo estudar os procedimentos mais adequados para aclimatização de batata reno produzida a partir da técnica de cultura tecidos.

2.Importância do estudo

Em Moçambique nunca houve um sistema de produção de batata reno um dos factores que inviabiliza o processo de produção, é o facto da produção interna da batata reno depender dos tubérculos-sementes do exterior, onde no processo de aquisição são impostas quotas devido à incapacidade de abastecimento a partir da fonte (IIAM, 2006).

O facto de resistir pouco a temperaturas elevadas e a sua susceptibilidade a grande número de doenças são também factores que limitam o seu cultivo em Moçambique, já que o tipo de clima favorece o desenvolvimento dos vectores de transmissão, pois quando a presença destes vectores não é abundante a propagação dos vírus tais como o “vírus do enrolamento da folha da batata” (*Potato leafroll virus*, PLRV), o “vírus Y da batata” (*Potato virus Y*, PVY), o “vírus S da batata” (*Potato virus S* - PVS) é baixa (Singh, 1999 citado por Silva e Bisognin, 2004), e uma vez infectados os tubérculos-sementes levam a degenerência de toda productividade. (Assis, 1999; Lopes e Reifschneider, 1999 citados por Pereira e Fortes, 2004).

A técnica de cultura de tecidos constitui-se num procedimento de propagação vegetativa e obtenção de forma acelerada um incremento no número de plantas livres de doenças, principalmente viroses, utilizando porções vegetativas de diferentes partes da planta, tais como hastes de plantas juvenis. Sendo assim, com uma única planta sadia pode-se produzir dezenas de novas plantas e conseqüentemente aumentar a taxa de produção (Fortes e Pereira, 2004).

A aclimatização é a etapa de transplante que envolve a transferência das plântulas da condição *in vitro* para as estufas, é uma etapa importante porque permite a adaptação das plântulas ao meio *ex vitro* (Fortes e Pereira, 2000).

Conforme pode se notar a aclimatização é uma etapa bastante importante e crucial para a micropropagação da batata reno portanto um acerca deste processo possui uma grande importância atendendo que em Moçambique estão a ser esforços de modo a retomar a produção de batata reno a partir de sementes-tubérculos num bom estado fitossanitário.

3. Objectivos

3.1. Objectivo geral

- Estudar as condições ideais para a aclimatização das plântulas de batata reno (*Solanum tuberosum*) produzida *in vitro*.

3.2. Objectivos específicos

- Determinar o estágio de desenvolvimento adequado para a aclimatização da batata reno (*Solanum tuberosum*) produzida *in vitro*
- Determinar período do ano ideal para aclimatização da batata reno.
- Analisar a influência da temperatura na aclimatização das plântulas de batata reno (*Solanum tuberosum*) produzida *in vitro*.
- Comparar as taxas de sobrevivência e vigor das plântulas nos diferentes estágios de desenvolvimento
- Contribuir para elaboração de um protocolo de instruções para aclimatização da batata reno.

4. Revisão bibliográfica

4.1. Origem e distribuição

A batata é originária da região dos Andes, na América do Sul, foi levada para a Europa há cerca de 450 anos por exploradores espanhóis, tendo adquirido grande importância económica em todo o continente no final do século XVIII e início do século XIX (Burton, 1989).

4.2. Taxonomia e morfologia da batata Reno

A planta da batata pertence a família Solanaceae (tabela 1), desta família também fazem parte algumas outras espécies vegetais muito conhecidas como o tomate, a berinjela e o tabaco (Tazzo, 2005).

Existem duas subespécies da *S. tuberosum*. A *S. tuberosum* é a planta da batata cultivada que conhecemos e usamos. A outra subespécie é a andigena e o seu cultivo limita-se à América Central e América do Sul (FBCI, sem ano).

Tabela 1- Classificação taxonómica da batata reno.

Domínio	Eucariota
Reino	Plantae
Subreino	Viridiaeplantae
Subfilo	Spermatophytina
Infrafilo	Angiospermae
Classe	Magnoliopsida
Subclasse	Lamiidae
Classe	Magnoliopsida
Subclasse	Lamiidae
Superordem	Solananae
Ordem	Solanales
Familia	Solanaceae
Subfamilia	Solanoideae
Tribo	Solaneae
Genero	<i>Solanum</i>
Nome específico	<i>Solanum tuberosum</i>

Tabela 2- Nomes vulgares

Português	Batata reno
Espanhol	Papa
Inglês	Potato

4.2.1. Morfologia

A batata é uma planta anual, na parte aérea é herbácea com altura variável entre 0,5 á 0,7 m, podendo alcançar até 1,5 m na fase adulta (Pereira e Fortes, 2004). O caule é formado de duas partes distintas: uma aérea e outra subterrânea. Na parte aérea o caule é geralmente angular com coloração dominante verde, podendo ser aroxeada ou multipigmentada. O número de hastes ou ramos por planta pode variar, dependendo da brotação, da idade fisiológica dos tubérculos-semente, da região de cultivo e das condições climáticas de cultivo. O tamanho do tubérculo semente está directamente relacionado com o número de hastes na planta, pois quanto maior for o tamanho do tubérculo, maior será o número de hastes (Pereira e Fortes, 2004). Os caules são laterais, na extremidade dos quais aparecem os tubérculos, parte utilizável da batata. As folhas são compostas por três ou mais pares de folíolos laterais, um apical e alguns rudimentares, todos de formato arredondado. Apresenta flores autopolinizadas, originando um fruto verde (CCE, 2003). As flores são hermafroditas, reunidas em inflorescência tipo cimeira na extremidade do caule e apresentam coloração branca, rosa ou aroxeada.

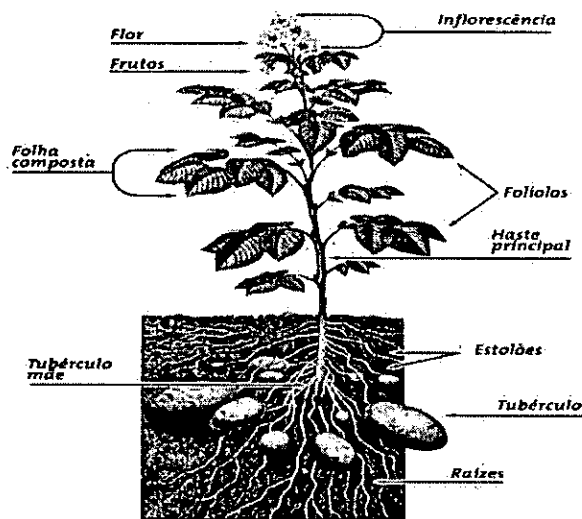


Fig 1: Estrutura externa de batata reno (Tazzo, 2005).

4.3. Importância e produção da batata Reno

4.3.1. Importância

A batata é um tubérculo rico em carboidratos, possui duas vezes mais proteínas que a mandioca. Além de vitaminas e sais minerais, a batata cozida é recomendada nos regimes alimentares, como substituta do arroz, por apresentar menor quantidade de gordura e açúcar que o popular cereal (FBCI, sem ano).

Em muitos países em desenvolvimento, a batata constitui a principal fonte de carboidratos. A fécula da batata constitui matéria-prima de grande variedade de aplicações não-alimentícias. Na indústria química, emprega-se na síntese de inúmeros compostos, e também a utilizam-na na indústria do papel e na produção de álcool para fins combustíveis (FBCI, sem ano).

Em Moçambique a batata reno goza marcadamente de perspectivas de mercado diferentes da batata doce, a sua produção está sob a responsabilidade do Centro da Zona Noroeste. As prioridades de investigação são a semente livre de doenças e variedades dominantes, especialmente as variedade de película vermelha, rosita e variedades resistentes ao míldio nas variedades de película branca (Demo *et al.*, 2006 citados por IIAM, 2006)

4.3.1.2. Composição bioquímica da batata reno

Esses tubérculos armazenam nutrientes importantes, como amido (carboidratos), proteínas e minerais. A batata é também importante fonte de vitamina C e algumas vitaminas B (Vicente *et. al.*, 1996).

Segundo (Arruda, 2004) 100 gramas de batata contêm:

calorias	78,50
água	79,41 %
hidrato de carbono	17,60 %
proteínas	1,80 %
gorduras	0,10 %

saís	1,09 %
vitamina A	45 U.I. 54
vitamina B (tiamina)	165 mg
vitamina B (riboflavina)	320 mg
vitamina B (niacina)	1 mg
vitamina C (ácido ascórbico)	15 mg

4.3.2 Produção

O ciclo de desenvolvimento da cultura de batata reno pode ser precoce menos de 90 dias, médio entre 90 á 110 dias ou longo mais de 110 dias, dependendo do cultivar (Pereira e Fortes, 2004). Os cultivares de ciclo longo ou tardio têm o hábito de crescimento indeterminado, os de ciclo curto são de crescimento determinado, apresentando o início da tubérização mais cedo que as demais (Souza, 2003).

A produção mundial é estimada em cerca de 300 milhões de toneladas por ano numa área de 20 milhões de hectares. Assim a produtividade média igual a 15 toneladas por hectare. A Ásia produz cerca de 35% da batata consumida no mundo com uma produtividade de 13 toneladas por hectare (EMBRAPA, 2003).

A planta de batata reno caracteriza-se pela presença de tubérculos. Cada planta de batata produz cerca de 12 a 15 tubérculos, que consistem na parte comestível da planta de batata (FBCI, sem ano).

4.4. Condições de cultivo da batata Reno

A batata reno é uma planta originária da região Andina, em condições de clima adverso não chega produzir bem, podendo se afirmar que a cultura de batata é muito mais exigente a condições do clima do que para natureza do proprio solo (Godoy *et al.*, 1973).

Os elementos climaticos que mais influem nesta cultura são temperatura, precipitação, humidade relativa do ar e luminosidade (Godoy *et al.*, 1973).

Esta cultura resiste pouco á temperaturas elevadas mas suporta perfeitamente as baixas temperaturas (Costa e Ferrinho, 1964). A temperatura óptima para formação de

tubérculos, situa-se entre 14°C a 18°C, quando a temperatura durante o ciclo vegetativo da planta é alta, a produção de tubérculos é muito baixa (Gogoy *et al*, 1973).

A parte da planta que tem interesse económico são os seus caules subterrâneos; para que estes se desenvolvam bem é necessário que os solos sejam fundos e poucos compactos sendo os melhores solos areno-argilosas ou argiloso-arenosas ricos em matéria orgânica e com pH de 6 a 6,5.

4.5. Toxinas naturais

Os membros da família Solanaceae caracterizam-se pela presença de glicoalcalóides. O tipo de glicoalcalóides mais presente na batata é a solanina. Glicoalcalóides são toxinas naturais, ocorrem em todas as partes da planta em níveis variáveis, protegem a batata de insectos, animais e fungos (FBCI, sem ano). Os seres humanos também se mostram profundamente sensíveis a esta substância química, presente em altos níveis nas folhas, nos caules, nas bagas e nos brotos da planta da batata. Já os tubérculos cultivados, por sua vez, contêm normalmente níveis baixos de glicoalcalóides (FBCI, sem ano).

Quando se expõem os tubérculos à luz, os brotos que se desenvolvem, podem apresentar níveis elevados de glicoalcalóides. Por esse motivo, deve-se armazenar os tubérculos da batata em local escuro após a colheita (FBCI, sem ano).

Quando se desenvolvem novas variedades de batata, tanto pelo métodos tradicionais de cruzamentos ou pela biotecnologia moderna, costuma-se determinar os níveis de toxinas. As novas variedades devem apresentar menos de 200 mg de glicoalcalóides por kg de tubérculo de batata cru (Essers, 1998).

Os parentes silvestres da batata muitas vezes contêm quantidades elevadas de glicoalcalóides nos seus tubérculos, o que lhes confere sabor amargo. A selecção de batata não amarga, por conseguinte, significa a selecção de variedades não tóxicas. Pode-se considerar esse facto um dos primeiros passos alcançados no processo de domesticação da batata (FBCI, sem ano).

4.6. Pragas e doenças

Nesta cultura há registos de ocorrência de um grande número de doenças, onde algumas têm capacidade de rápida proliferação e propagação, sendo altamente destrutivas e interferem negativamente na produtividade e no custo de produção (Tazzo, 2005).

Entre as principais pragas de insectos encontra-se o besouro do colorado da batata, as cigarras e os afídeos. As doenças mais importantes são o míldio tardio, a murcha do *fusarium*, a podridão anelar bacteriana, algumas doenças virais e certos nematóides que também podem causar graves danos à colheita da batata. (FBCI, sem ano).

A batata multiplica-se a partir de tubérculos que são designados de tubérculos-semente, que devem estar num bom estado fitossanitário para a obtenção de plantas saudáveis. Em países industrializados, usam-se diversas técnicas de multiplicação, entre as quais métodos de multiplicação *in vitro*, para melhorar a qualidade dos tubérculos-semente os agricultores preferem comprar esses tubérculos-semente isentos de doenças e de alta qualidade fitossanitária (FBCI, sem ano).

Uma das doenças mais conhecidas da batata é o míldio tardio, causado pelo fungo *Phytophthora infestans*. Devido ao seu carácter epidémico, esse fungo pode reduzir drasticamente a produtividade dentro dum curto espaço de tempo (FBCI, sem ano).

4.6.1. Condições ambientais favoráveis para a ocorrência de doenças

Segundo (Jones 1986, Martins e Amorim, 1999 citados por Tazzo, 2005) a humidade é o factor ambiental que mais influencia a ocorrência de doenças nas plantas, seguido pela temperatura do ar. Apesar da temperatura do ar ser um factor menos limitante do que a humidade no desenvolvimento de doenças e pragas, é a combinação temperatura-humidade que irá condicionar o processo infeccioso de doenças ou a incidência de ataque de uma praga. O período de duração do regadio, determinado pela humidade, é o factor que estabelece condições para o processo infeccioso e a temperatura determina a rapidez e a extensão da infecção (Tazzo, 2005).

4.7. Cultura de tecidos

A cultura de tecidos vegetais, ou micropropagação, é uma das áreas da Biotecnologia que compreende vários métodos de propagação vegetal em laboratório, sob condições assépticas, esta técnica também é chamado de cultivo *in vitro* (Santos, 2008). A utilização destes métodos permite a produção de mudas com alta qualidade fitossanitária, durante todo o ano, em pequeno espaço físico e sob condições controladas. Também possibilita o armazenamento de material vegetativo, com o estabelecimento de bancos de germoplasma *in vitro*. As culturas *in vitro* não necessitam de irrigação, adubação, pulverização o que os diferencia das técnicas agrícolas e outras práticas que podem danificar o ambiente (Santos, 2008). A produção de plantas de batata reno através da micropropagação envolve altos custos, pois necessita dum laboratório especializado, equipamento, material de consumo de alto valor e pessoal treinado. Porém, o custo é compensado pelas vantagens competitivas em relação aos métodos de produção convencionais, o que pode ser comprovado pelo facto de que, actualmente, o processo produtivo de várias espécies e cultivares de interesse económico utiliza exclusivamente métodos de cultivo *in vitro* para a produção de mudas (Santos, 2008).

A técnica de cultura de tecidos consiste, basicamente, em cultivar segmentos de plantas, em tubos de ensaio contendo meio de cultura adequado. A partir desses segmentos que podem ser gemas, fragmentos de folhas ou raízes, ápices caulinares entre outros, podem ser obtidas centenas á milhares de plantas idênticas. Essas plantas são, posteriormente, retiradas dos tubos de ensaio, aclimatadas, e levadas ao campo, onde se desenvolvem normalmente (Grattapaglia *et al.*, 1990).

Segundo Murashige (1974) a cultura de tecidos basicamente compreende três fases:

1ª Fase: Selecção, colecta e desinfestação dos explantes

A princípio, qualquer tecido é capaz de expressar a totipotencia, ou seja, a capacidade de formação de uma planta inteira, a partir de uma única célula. Geralmente para iniciar-se o cultivo *in vitro* são utilizados explantes de tecidos jovens com tamanhos que podem variar de 0,2 a 20mm ou mais. O tamanho do explante, em geral, está relacionado com o

objectivo do trabalho, devendo ser o menor possível quando se trata de obter a limpeza clonal. Por outro lado, o tamanho do explante determina a probabilidade de sobrevivência e desenvolvimento. A assepsia durante a colecta é um ponto muito importante, deve-se usar instrumentos limpos e esterilizados.

O processo de desinfestação pode começar com os pré-tratamentos aplicados na planta matriz, principalmente para combater microorganismos. Entretanto, a desinfestação do explante é uma etapa essencial, na qual podem ser utilizadas diversas substâncias de acção germicida.

2ª Fase: Isolamento e Inoculação dos explantes.

O isolamento dos explantes consiste na sua extracção, propriamente dita e só deve ser feita em câmara de fluxo laminar, com todos os instrumentos esterilizados. Antes do início dos trabalhos a câmara deve ser limpa com etanol. A manipulação do explante deve ser rápida e precisa para evitar sua desidratação. Alguns explantes, como os meristemas, são muito pequenos para uma boa visualização dos mesmos, sendo necessária a utilização de uma lupa. Os mesmos cuidados de assepsia são recomendados ao colocar-se a lupa na câmara. Os explantes, após isolados, são inoculados em tubos de ensaio ou frascos contendo meio nutritivo, o meio de cultura.

A formulação dos meios de cultura básicos são inúmeras, não existindo um meio padrão, embora o mais amplamente difundido seja o meio idealizado por Murashige e Skoog, em 1962, conhecido mundialmente como meio MS. A composição dos meios nutritivos deve abranger todos os minerais essenciais à nutrição vegetal, além de fornecer uma fonte de carbono, em geral um carboidrato, Reguladores de crescimento, principalmente auxinas e citoquininas, são úteis como indutores do desenvolvimento dos explantes, mas devem ser utilizados com o devido critério.

3ª Fase: Incubação dos explantes

Refere-se as condições artificiais em que serão mantidos os explantes após sua inoculação no meio nutritivo. A temperatura nas salas de incubação ou crescimento, em

geral, é mantida tendo em conta a cultura que se esta a micropropagar. A maioria das culturas desenvolvem-se bem na faixa de 20 a 27°C. As condições de luminosidade podem variar desde o escuro total, especialmente no início do cultivo, até uma faixa de 100 a 110 $\text{mmol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$, com um fotoperíodo de 12 a 16 horas.

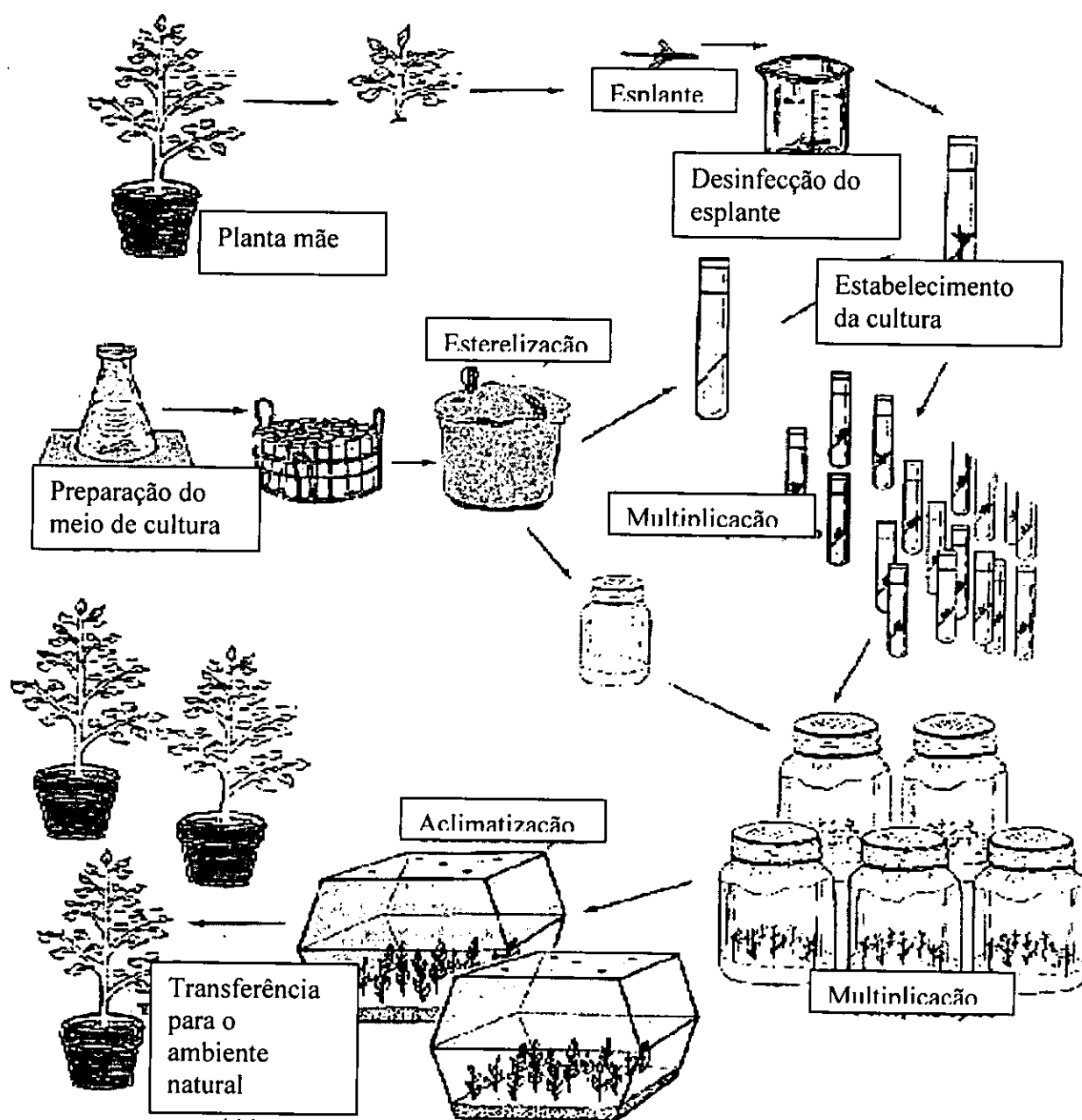


Fig 2- Cultura de tecidos de vegetais. (Grattapaglia *et al.*, 1990).

4.7.1. Aclimatização

A aclimatização de mudas é o processo pelo qual, as plantas produzidas em condições *in vitro* são transferidas para um ambiente com as condições climáticas naturais. Nestas novas condições às plântulas devem ser transferidas progressivamente, de forma que elas sofram menor stress possível, que pode culminar num fraco desenvolvimento ou até mesmo em morte de plântulas (Brainerd e Fuchigami, 1981). Este processo representa uma etapa importante dentro de um programa onde se trabalha com cultura de tecidos, sendo que, em alguns casos, chega a ser o factor limitante no processo de micropropagação (Grattapaglia *et al.*, 1990). O principal obstáculo encontrado na aclimatização é o baixo rendimento encontrado, ou seja, produz-se um número grande de plântulas micropropagadas em sala de crescimento, mas, quando são transferidas para as condições ambientais externas, ocorrem perdas significativas. Desta forma, poucas mudas estarão em condições de serem levadas ao campo, diante disso, cada planta apta e em condições de plantio apresentará um alto custo, que inevitavelmente será repassado para o consumidor final (Pierik, 1988 citado por Pereira *et al.*, 2006).

Embora existam algumas regras gerais como manutenção de alta humidade relativa do ar e temperatura amena, a experiência individual, a familiarização com a cultura, a escala de trabalho e as facilidades disponíveis que são os principais factores que determinam a optimização dessa fase (Grattapaglia *et al.*, 1990).

5.1. Área de estudo

O presente estudo realizou-se na estufa do Instituto de Investigação Agrária de Moçambique (IIAM), situado no Bairro de Mavalane “A” na cidade de Maputo (sul de Moçambique). A estufa caracteriza-se por ser coberta por uma rede plástica que impede a entrada de insectos, permite a entrada de luz e água ver (figura 6 em anexo). Este estudo decorreu entre os meses de Maio a Novembro de 2008.

5.2. Materiais e métodos

5.2.1. Equipamentos e material experimental

1. Balança analítica
2. Baldes
3. Bloco de notas
4. Chapa unitex com formato circular, de 60 cm de diametro
5. Etiquetas
6. Fita gomada
7. Lapis
8. Pás de mão
9. Pinças
10. Saco Plástico (para câmara de humidade) de 1X1.5m
11. Tesoura
12. Pulverizador
13. Régua de 50 cm
14. Marcador de tinta permanente
15. Hydrómetro
16. Frascos contendo plântulas de batata reno das variedades 800946, em três estagios diferentes de desenvolvimento.
17. Hygro-mix
18. Vasos plásticos de 14x7 cm e 15x20 cm.

5.2.2. Preparação das Soluções

20 litros de fungicida chlorothaloni, que foram preparadas dissolvendo 2ml de chlorothaloni em 20 litros de água, para a pulverização da estufa.

1 litro de fungicida chlorothaloni, que foram preparadas dissolvendo 10ml de chlorothaloni em 1 litro de água, para a pulverização das plantas.

5.2.3. Método - princípio

No presente trabalho foram feitos 3 ensaios, o primeiro ensaio decorreu no mês de Maio á Junho (época fresca e seca) o segundo ensaio decorreu no de mês de Julho á Agosto (época fresca e seca), esta epoca possui uma temperatura média de 27°C (80°F). O terceiro e ultimo ensaio decorreu mês de Outubro á Novembro (época quente e chuvosa) com temperatura média de 31°C (INAM, 2008). Usou-se neste trabalho plântulas de batata reno da variedade 800946 produzidas através da técnica de cultura tecidos, em três estágios diferentes de desenvolvimento (ver tabela 1 do anexo). Para este trabalho usou-se um total de 270 plântulas a razão de 90 plântulas por ensaio.

5.3. Procedimentos

5.3.1. Preparação da estufa e de câmaras de humidade.

Para se evitar a o ocorrência de patogenos um dia antes da aclimatização procedeu-se a limpeza e pulverização da estufa com a solução de chlorothaloni (Roca *et al.*, 1984), para proporcionar um ambiente com altos níveis de humidade relativa, ideal na fase inicial de aclimatização (IITA, 2002 citado por Matsimbe, 2006) prepararam-se duas câmaras de humidade, usando 2 (dois) sacos plásticos (1x1,5 m) e uma chapa unitex circular de 60 cm de diametro como base da câmara de humidade.

5.3.2. Transferência e aclimatização das plântulas de Batata reno produzidas *in vitro*

- Após o período de crescimento *in vitro*, para cada ensaio selecionou-se 90 plântulas da variedade 800946 que foram transferidas para estufa e subdivididas em 3 (três) lotes de 30 plântulas, onde cada lote correspondia um estágio de desenvolvimento.
- Seguidamente colocou-se os frascos contendo as plântulas nos baldes contendo água da torneira, para humedecer o substrato de agar e facilitar a sua extracção.
- Com ajuda de uma pinça retirou-se individualmente as plântulas dos frascos e seguidamente lavou-se as raízes com água da torneira contida nos baldes, para retirada do meio de cultura, aderida as raízes (Fortes e Pereira, 2004).
- Após a remoção do meio de cultura, transplantou-se as plântulas nos vasos plásticos (7x14cm) contendo o substrato formado por Hygro-mix, o transplante foi efectuado com cuidado e rapidez para evitar a quebra das raízes e a desidratação das plântulas (Segovia *et al.*, 2002).
- Após o transplante colocou-se nos vasos plásticos, uma etiqueta com indicação do estágio de desenvolvimento que planta apresenta, o nome da cultura e da variedade.
- Após a etiquetagem, colocou-se as plântulas nas câmaras de humidade, em cada câmara colocou-se 45 plântulas a razão de 15 plântulas por estágio de desenvolvimento.
- De seguida usando uma garrafa de spray regou-se devidamente as plântulas e as paredes de cada câmara de humidade com água da torneira.
- Seguidamente selou-se as câmaras com fita cola e cordas de modo a garantir altos níveis de humidade (IITA, 2002 citado por Matsimbe, 2006) e posteriormente suspendeu-se as câmaras dentro da estufa.
- Após 8 DDT efectuou-se a redução gradual da humidade relativa (Tabela 2 do anexo), abrindo-se as câmaras nas manhã (8 horas) e fechando-se a tarde (14 horas) procedimento que se efectuou durante 4 dias totalizando 12 DDT.
- Após o procedimento anterior removeu-se a câmara de humidade, e deixou-se as plântulas descobertas na estufa durante 18 dias totalizando 30 DDT.

- Após este período transplantou-se nos vasos plásticos (15x20 cm) contendo areia grossa, areia fina (argila), e estrume bovino e deixou-se numa sombrite durante 15 dias totalizando 45 DDT.

5.4 Observação e controle das plantas

O ensaio foi controlado diariamente, tendo em atenção a sobrevivência, aparência e vigor no crescimento das plantas. Também efectou-se diariamente três registos da temperatura as 8 horas, as 10 horas e as 15 horas, a partir do Hidrómetro montado no interior da estufa.

5.5. Parâmetros de medição e os métodos aplicados

- Número de folhas - efectou-se por contagem directa nas plantas no fim de cada ensaio, (45 dias após o transplante).
- Peso da matéria fresca (folhas e raízes) - efectou-se usando uma balança analítica, no fim de cada ensaio. (45 dias após o transplante).
- Comprimento das raízes – efectou-se usando uma régua graduada de 50 cm, no fim de cada ensaio. (45 dias após o transplante).
- Taxa de sobrevivência – calculou-se no fim de cada ensaio, usando a seguinte formula.

$\% \text{ de sobrevivencia} = \frac{N^{\circ} \text{ de plantas sobreviventes} \times 100}{N^{\circ} \text{ total de plantulas transferidas}}$

- Temperatura média – Diariamente calculou-se a temperatura média diária, e no fim de cada ensaio, calculou-se a temperatura média do ensaio. Para tal usou-se as seguintes formulas.

Temperatura média diária = Somatório das temperaturas diárias/ N° total de registo.

Temperatura média do ensaio = Somatório das temperaturas médias diárias/ N° total dos dias.

5.5.2. Delineamento experimental

Os ensaios foram montados seguindo o delineamento experimental completamente casualizado (DCC) com seis repetições, com três estágios de desenvolvimento. Colocou-se em cada câmara de humidade 45 plântulas a razão de 15 por cada estágio de desenvolvimento, totalizando 90 plântulas nas duas câmaras de humidade. A unidade experimental considerada será de 3 plântulas por estágio de desenvolvimento que serão expostas as condições ambientais homogêneas (luz, nutrição, temperatura e humidade).

5.8. Análise de dados

Para análise da taxa do crescimento das plântulas os dados foram submetidos à análise de variância – ANOVA 1 e teste de Tukey (HSD) com 5% de significância, para as interações dos factores época do ano, estágio de desenvolvimento, serão feitos empregando-se o pacote estatístico SPSS versão 13 (Flower e Cohen, 1990), para análise da taxa de sobrevivência e efeitos da temperatura os dados foram submetidos ao pacote estatístico Microsoft Excel.

6. Resultados

6.1. Desenvolvimento fenológico

No 2º ensaio realizado entre os meses de Julho a Setembro (época fresca e seca) em relação aos outros dois ensaios, as plantas tiveram uma melhor adaptação ao substrato, um desenvolvimento bastante rápido, eram morfologicamente mais robustas, estruturalmente maiores em termos de tamanho e obteve-se maiores taxas de sobrevivência (Tabela 2).

Tabela 2- Desenvolvimento fenológico das plantas

	1º Ensaio	2º Ensaio	3º Ensaio
Tempo para adaptação ao substrato	Médio	Curto	Longo
Vigor de crescimento	Elevado	Muito elevado	Baixo
Taxa de sobrevivência	Elevada	Muito elevada	Baixa
Cor das folhas	Verde pálido	Verde escuro	Verde pálido e amarelo

6.2. Efeito temperatura

De acordo com os dados obtidos, no primeiro ensaio nos dois primeiros dias da aclimatização as temperatura médias diárias foram altas, depois houve uma queda de temperatura a partir do 3º dia de aclimatização. Neste ensaio as plantas só mostraram sinais de crescimento (surgimento de novas folhas, aumento do comprimento) a partir do 5º dia, a pois este período as temperaturas oscilavam entre os 23°C á 30°C, tendo por isso

apresentado uma temperatura média do ensaio de 27.32°C, (figura 3). No segundo ensaio as temperaturas médias diárias eram baixas no primeiro dia da aclimatização, neste ensaio até 3º dia de aclimatização as plantas já amostravam sinais de crescimento (surgimento de novas folhas, aumento do comprimento) a temperatura média do ensaio foi de 26.68°C. No terceiro ensaio as temperaturas foram muito altas nos primeiros 4 dias de aclimatização, a pois esse período registou-se uma diminuição da temperatura, o vigor de crescimento era bastante baixo, a temperatura média do ensaio foi de 30.33°C.

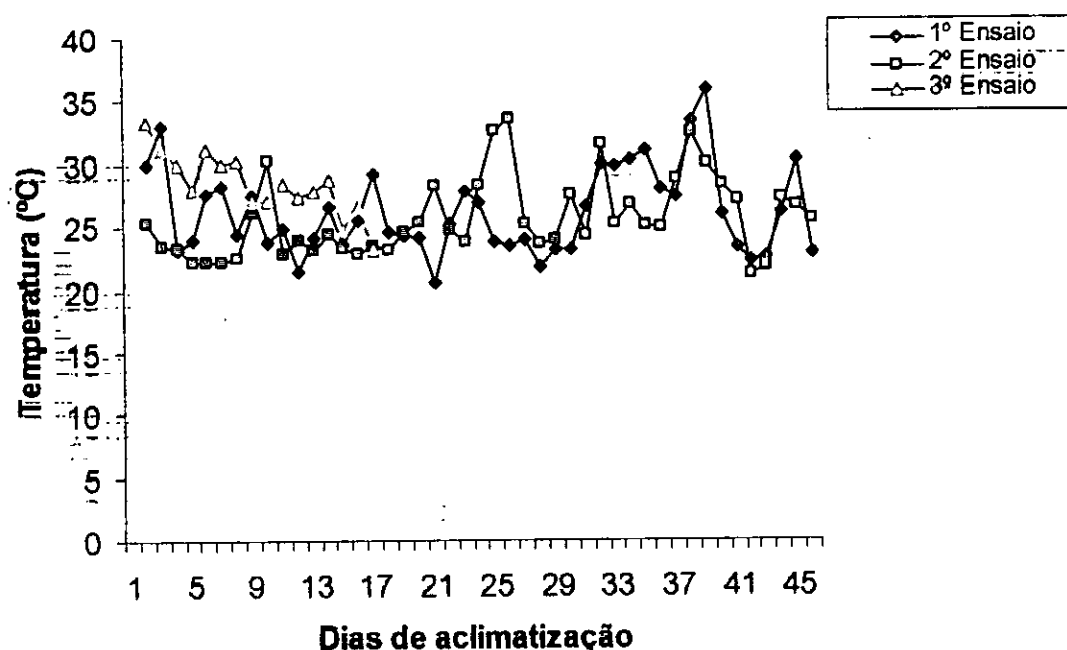


Fig 3- Temperaturas médias diárias dos três ensaios

6.3. Taxa de sobrevivência

No primeiro ensaio a taxa de sobrevivência nos três estágios foi diferente, tendo havido uma diferença bastante acentuada nas taxas de sobrevivência dos estágios de desenvolvimento (tabela 7 do anexo). No segundo ensaio não houve variação na taxa de sobrevivência tendo os três estágios apresentado a mesma taxa (100%). No terceiro

ensaio a taxa de sobrevivência foi de 0%, e a mortalidade das plântulas foi registrada a partir do 4º dia da aclimatização. Comparando os estágios de desenvolvimento as plântula do primeiro ensaio apresentaram menor taxa de sobrevivência e o terceiro estágio apresentou maior taxa de sobrevivência (figura 4).

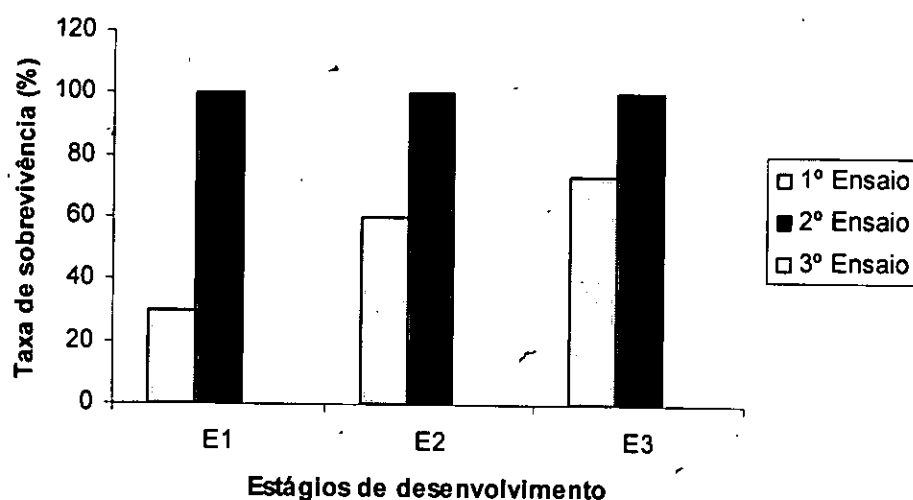


Fig 4- Taxa de sobrevivência dos três estágios de desenvolvimento. Cada barra representa a taxa de sobrevivência de 30 plântulas.

5.3. Parâmetros de crescimento

5.3.1. Peso fresco das raízes

No primeiro ensaio, o maior peso fresco das raízes registou-se no primeiro estágio, contudo comparando os três estágios, os pesos médios das raízes não registraram diferenças significativas (one way ANOVA $P > 0.05$) (tabela 5 do anexo). No segundo ensaio o maior peso fresco das raízes registou-se no terceiro estágio, seguido do segundo estágio e por ultimo o primeiro estágio. Contudo os pesos médios das raízes nos três estágios não mostraram diferenças significativas (one way ANOVA $P > 0.05$) (tabela 5 do anexo).

No terceiro não houve nenhum registo porque as plantas morreram antes do dia previsto para o fim do ensaio, (figura 5)

Comparando os resultados do primeiro e segundo ensaio verifica-se que os maiores pesos frescos das raízes registaram-se no segundo ensaio no entanto as médias dos pesos das raízes mostraram diferenças significativas do primeiro para o segundo ensaio (teste T, $p < 0.05$) (tabela 4 do anexo).

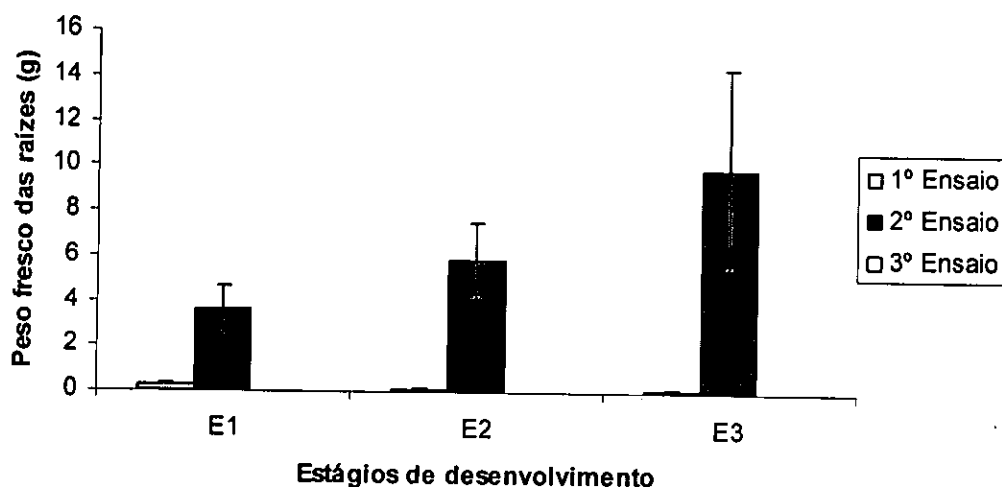


Fig 5: Pesos frescos das raízes dos três estágios de desenvolvimento. Cada barra representa o peso médio de 3 plantas \pm desvio padrão.

5.3.2. Peso fresco das folhas

No primeiro ensaio obteve-se maior peso médio fresco das folhas no terceiro estágio, contudo os pesos médios das folhas dos três estágios não tinham diferenças significativas (one way ANOVA $P > 0.05$) tabela 5 do anexo. No segundo ensaio o maior peso médio fresco das folhas, obteve-se no terceiro estágio, contudo os pesos médios das folhas neste ensaio não mostraram diferenças significativas (one way ANOVA $P > 0.05$) tabela 5 do anexo. No terceiro ensaio não houve nenhum registo porque as plantas morreram antes do dia previsto para o fim do ensaio (figura 6). Comparando os dois ensaios verifica-se que

as plantas tiveram maior desenvolvimento das folhas no segundo ensaio (figuras 3 e 4 do anexo), no entanto as médias dos pesos das folhas mostraram diferenças significativas do primeiro para o segundo ensaio (teste T, $p < 0.05$) (tabela 4 do anexo).

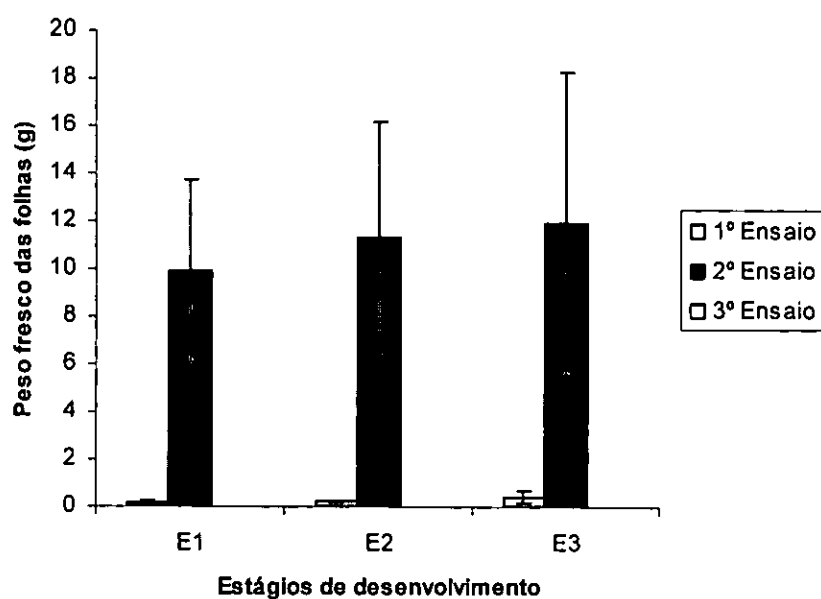


Fig 6: Pesos frescos das folhas dos três estágios de desenvolvimento. Cada barra representa o peso médio de 3 plantas \pm desvio padrão.

5.3.3. Comprimento das raízes

No primeiro ensaio obteve-se maior comprimento médio no terceiro estágio, contudo as médias dos comprimentos das raízes obtidos não mostraram diferenças significativas (one way ANOVA $P > 0.05$) tabela 5 do anexo. No segundo ensaio obteve-se maior comprimento das médio das raízes no segundo estágio, assim como no primeiro ensaio as médias dos comprimentos não mostraram diferenças significativas (one way ANOVA $P > 0.05$) tabela 5 do anexo. Comparando os dois ensaios verifica-se que o maior comprimento das raízes obteve-se no segundo ensaio (figura 7), no entanto os comprimentos médios das raízes não mostraram diferenças significativas do primeiro para o segundo ensaio (teste T, $p > 0.05$) (tabela 4 do anexo).

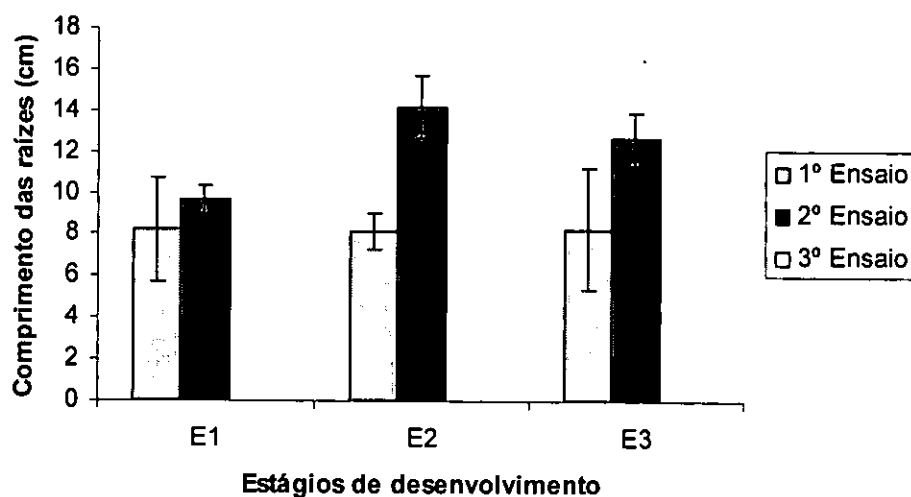


Fig 7: Comprimentos das raízes dos três estágios de desenvolvimento. Cada barra representa o peso médio de 3 plantas \pm desvio padrão.

5.3.4. Comprimento da planta

No primeiro ensaio obteve-se maior comprimento da planta no terceiro estágio, como mostra a (figura 3 em anexo), contudo as médias dos comprimentos da planta obtidas não possuem diferenças significativas (one way ANOVA $P > 0.05$) (tabela 5 do anexo). No segundo ensaio obteve-se maior comprimento da planta no terceiro estágio, assim como no primeiro ensaio as médias do comprimento da planta não mostraram diferenças significantes (one way ANOVA $P > 0.05$) (tabela 5 do anexo). Comparando os dois ensaios verifica-se que os maiores comprimentos foram obtidos no segundo ensaio (figura 8). No entanto os comprimentos médios das planta mostraram diferenças significativas do primeiro para o segundo ensaio (teste T, $p < 0.05$) (tabela 4 do anexo).

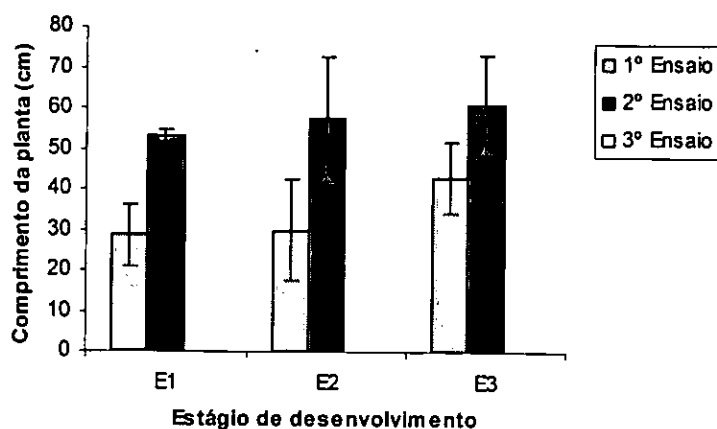


Fig 8: Comprimentos da planta dos três estágios de desenvolvimento. Cada barra representa o peso médio de 3 plantas \pm desvio padrão.

5.3.5. Número de raízes

No primeiro ensaio obteve-se maior número médio de raízes no segundo estágio, contudo as médias de número de raízes nos três estágios não mostraram diferenças significativas (one way ANOVA $P>0.05$) tabela 5 do anexo. No segundo ensaio o maior número médio de folhas obteve-se no terceiro estágio, contudo as médias dos números de folhas nos três estágios não mostraram diferenças significativas (one way ANOVA $P>0.05$) tabela 5 do anexo. Comparando os dois ensaios, o segundo ensaio apresentou número médio de raízes comparado com o primeiro ensaio (figura 9), no entanto os números médios das raízes não mostraram diferenças significativas do primeiro para o segundo ensaio (teste T, $p> 0.05$) (tabela 4 do anexo).

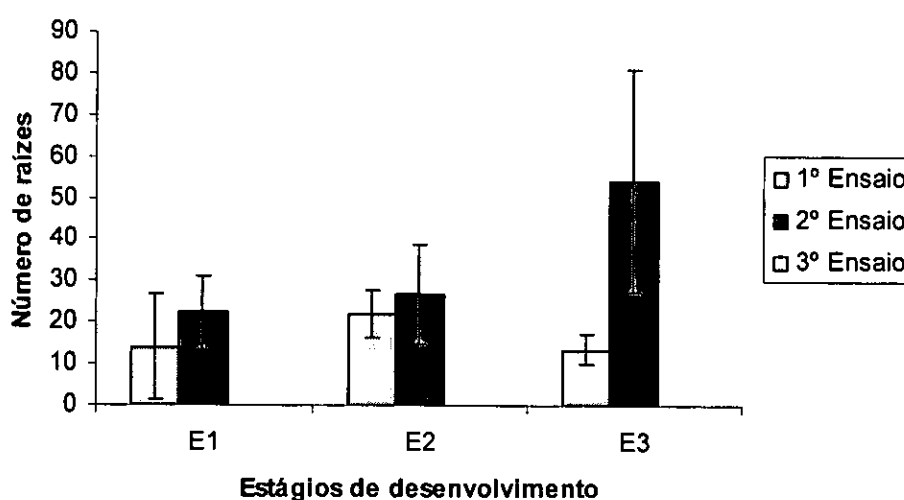


Fig 9: Número de raízes dos três estágios de desenvolvimento. Cada barra representa o número médio de 3 plantas \pm desvio padrão.

5.3.6. Número de folhas

No primeiro ensaio obteve-se maior número médio de folhas no segundo estágio, no entanto o número médio das folhas não mostraram diferenças significativas (one way ANOVA $P > 0.05$) tabela 5 do anexo. No segundo ensaio obteve-se maior número médio das folhas no segundo estágio, contudo o número médio das folhas nos três estágios não mostraram diferenças significativas (one way ANOVA $P > 0.05$) tabela 5 do anexo. Comparando o primeiro e segundo ensaio verifica-se que o segundo ensaio apresentou maiores valores médios de número de folhas em relação ao primeiro ensaio (figura 10). no entanto os números médios das folhas mostraram diferenças significativas do primeiro para o segundo ensaio (teste T, $p < 0.05$) (tabela 4 do anexo).

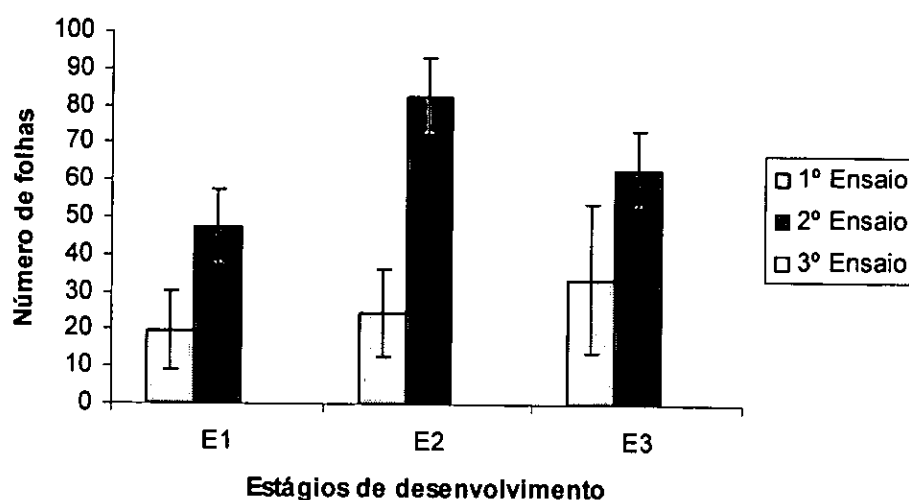


Fig 10 : Numero de folhas dos três estágios de desenvolvimento. Cada barra representa o peso médio de 3 plantas \pm desvio padrão.

6. Discussão

Efeito temperatura

De acordo com os dados, as plântulas de batata reno desenvolveram-se melhor no período de temperaturas mais baixas isto é no segundo ensaio, onde a média da temperatura do ensaio foi de 26,7 °C. No terceiro ensaio onde registou-se temperaturas elevadas nos primeiros 7 dias de aclimatização todas as plântulas morreram antes dos 16 dias de aclimatização, este resultado pode dever-se as altas temperaturas causaram maior evapotranspiração que deve ter provocado a desidratação das plantas, de acordo com Vayda (1994), a batata é especialmente sensível ao calor e à seca, mesmo períodos curtos de stress, se repetidos, podem causar uma queda significativa na produção e na qualidade do tubérculo. Champagnat (1992) e Metivier (1985) relatam que temperaturas mais baixas além de mobilizarem as reservas são responsáveis pelo aumento de níveis endógenos de giberelinas na planta e o aumento desse regulador pode trazer retornos no crescimento da planta, a pois um determinado período de dormência, esta hormona tem efeitos mais pronunciados no alongamento do caule.

A produção de tubérculos ocorreu apenas no primeiro ensaio (tubérculos de 0,2cm a 0,5cm de diâmetro) onde a temperatura média foi de 27,3°C e no segundo ensaio (tubérculos 0,3cm a 2cm de diâmetro) onde a temperatura média foi de 26,6°C, no terceiro ensaio onde a temperatura média rondava aos 30,6°C nos primeiros 7 dias de aclimatização não houve produção de tubérculos provavelmente as altas temperaturas inibiram a produção de tubérculos, segundo Vayda (1994), temperaturas acima de 29°C paralisam efectivamente a produção de tubérculos e reduzem o acumulo de matéria seca na planta da batata reno.

De acordo com os resultados obtidos obteve-se maior número de folhas no segundo ensaio realizado no mês de Junho á Agosto onde as temperaturas médias diárias eram mais baixas, Dellai *et al.*, (2005), relataram que a temperatura média diária é o factor ecológico principal que determina a emissão de folhas na batata e temperatura média diária óptima é de 22,9°C, o que não difere muito dos nossos resultados já que nos primeiros 7 dias de aclimatização (período que ocorreu a emissão das folhas) a temperatura média no segundo ensaio foi de 23,08°C. Este facto explica a razão de ter

ocorrido maior emissão de folhas no segundo ensaio, em relação ao primeiro (T° média nos primeiros 7 dias foi de 24.4°C) e terceiro ensaio (T° média nos primeiros 7 dias foi de 30.3°C).

De acordo com os resultados obteve-se maior comprimento da planta e raízes no segundo ensaio onde as temperaturas foram mais baixas, autores como Arnould e Young (1990), Champagnat, (1992) nas suas experiências comprovaram os efeitos benéficos de temperaturas baixas em plantas micropropagadas, segundo Champagnat, (1992)

As baixas temperaturas além de provocarem mobilização de reservas, são responsáveis pelo aumento endógeno da hormona giberelina que é responsável pelo alongamento da planta.

Analisando os desvios padrões pode-se verificar que houve menor variabilidade da temperatura no segundo ensaio, segundo Aldrufeu (1987), as plantas provenientes da micropropagação quando são submetidas a ambientes com temperaturas adversas apresentam um atraso no crescimento. Este facto explica o facto do crescimento das plantas ter sido menor no primeiro ensaio (desvio padrão das temperaturas médias do ensaio foi de 3.34) em relação ao segundo (desvio padrão das temperaturas médias do ensaio foi de 3.0)

O maior crescimento vegetativo de plantas no segundo ensaio pode ser explicado pelo maior numero de folhas que emergiram nos primeiros dias da aclimatização pois segundo Silva *et al.* (2007) o maior número de folhas proporciona maior número de fotoassimilados que serão translocados para o crescimento em altura da planta e formação de raízes Lionakis (1981) também defende que a presença de folhas nas plantas garantem a sobrevivência das plantas tanto pela síntese de carboidratos através da fotossíntese, como pelo fornecimento de auxinas e outras substâncias que são importantes no processo de formação de raízes e outras partes da planta.

De acordo com os resultados obteve-se maior crescimento vegetativo e sobrevivência no terceiro estágio (plantas com sistema radicular menos desenvolvido comparando os outros dois estágios,) o que contradiz com as observações feitas por Ramos *et al.* (2002) que relata que obtenção de uma plântula com um sistema radicular bem desenvolvido proporciona maior capacidade de sobrevivência e crescimento da planta nas condições ambientais.

7. Conclusão

O terceiro estágio de desenvolvimento é o estagio ideal para retirar as plântulas da sala crescimento para aclimatização nas estufas.

O periodo fresco e seco entre os meses de Junho á Julho é o período ideal para aclimatizar plântulas de batata reno produzidas apartir da tecnica de cultura de tecidos.

As plântulas de Batata reno precisam de temperaturas baixas ($T < 27$) nos primeiros 7 dias de aclimatização.

8. Recomendações

Os resultados obtidos nesta experiência, fornecem as seguintes recomendações:

- Estudos acerca do substrato ideal para aclimatização da batata reno
- Continuação de estudos acerca da influência da radiação solar na aclimatização da batata reno
- Faça-se testes de modo a determinar a estrutura ideal de estufa para aclimatizar a batata reno.

9. Referências bibliográficas

- Arruda, C. R. (2004). *Análise das etapas do processamento da batata chips*. Goiás. 36pp.
- Aldrufeu, A. (1987). *Rotting and acclimatization of pelargonium zonale plantlets*. Acta Horticulture. 5pp.
- Arnould, M. A; Young, E. (1990). *Growth and protein content of apple in response to root and shoot temperature following chilling*. 5pp.
- Burton, W.G. (1989). *The Potato*. New York: Longman. 742p
- CCE (Constat Consultores Estatísticos Ltda). (2003.) *Diagnóstico dos Processos de Produção de Hortaliças, Balsas -MA São Luís*, 4pp.
- Champagnat. P. (1992). *Dormance des bourgeons chez les végétaux ligneux*. Éditeurs des sciences et des arts Paris. 57pp.
- Dellai, J; Tretin, G; Bisognin, D. A; Streck, N. A. (2005). *Fitocromos em diferentes densidades de plantas de batata*. Vol 35. Santa. Maria- Brazil. 6pp
- EMBRAPA. (2003). *O cultivo da batata na região sul do Brasil*. Brasília, EMBRAPA Produção de Informações. 567pp.
- Essers, A. (1998). *Food plant toxicants and safety risk assessment and regulation of inherent toxicants in plant foods*. Environmental Toxicology and Pharmacology . 17pp
- FAO. (1998). *Storage and processing of roots and tubers in the tropics*. Disponível em <http://www.fao.org/docrep/x5415e00htm#contents>. consultado em: 20/07/2008
- Food Biotech Communication Initiative (FBCI). (Sem ano) *Batata: um tubérculo popular no mundo todo*. Comunicação em Biotecnologia de Alimentos. 17pp.

Flower, J. e L. Cohen. (1990). *Practical Statistic for Field Biology*. Open University Press. Philadelphia. New York. 227pp.

Grattapaglia, D. Machado, M.A. Torres, A.C. Caldas, L.S. (1990). *Técnicas e Aplicações da Cultura de Tecidos de Plantas*. Brasília, 1990. 69pp.

Gogoy, M. S; Passos, V. C. F; Campos, T. (1973). *Principais culturas*. Instituto campineiro de ensino agrícola. São Paulo. 511pp

IIAM (Instituto de investigação agrícola de Moçambique). (2006). *Recomendações para o cultivo da Batata Reno no Sector Familiar no Planalto do Niassa*, Serie de Recomendações n.5.

http://macua.blogs.com/moambique_para_todos/2006/11/baixo_limpopo_p.html
consultado á 10 de Abril de 2008.

Instituto Nacional de Meterologia. (2008). Informação climática – Cidade de Maputo. <http://www.inam.gov.mz> consultado em 12-05-2008.

Mielke, M. S; Hoffmann, A; Endres, L; Fachinello, J. C. (1994). *Comparison of laboratory and field methods for the estimation of leaf area of wild fruit species*. São Paulo- Brazil. 15pp.

Matsimbe, S. F. (2006) *Estudo da aclimatização de plântulas variedades locais da mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) produzidas in vitro*. Tese de licenciatura. UEM. Dep. de Ciências Biológicas.

Metivier, J.R. *Dormência e Germinação*. In: FERRI, M.G. (Ed.) *Fisiologia Vegetal* 2. São Paulo: EPU, v.2, 1985. p.343-392

Murashige, T. (1974). *Plant propagation through tissue culture*. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 7pp

Pereira, J.E.S.; Fortes, G.R.L. (2004). *Produção de mudas pré-básicas de batata por estaquia a partir de plantas micropropagadas*. *Horticultura Brasileira*, Brasília, v.22, n.2, 7 pp.

Pereira, M. C. T; Nietsche, M. C. T; França, S; Ferreira, A. C; Lima, C; Gonçalves, C; Salles, V. D; Morais, B. P; Kobayashi, D. L B. (2006). *Aclimatização de mudas micropropagadas de bananeira sob condições diferentes de luminosidade*. revista brasileira de fruticultura. Jaboticabal. Sp. v27. 7pp.

Pereira, J. E.S; Fortes,G.R.L.(2000). *Desfolhamento e baixa temperatura em plantas micropropagadas de Macieira como forma de superar a parada de crescimento durante a aclimatização*. Rev. Bras. Fisiol. Veg. vol.12. 12pp

Roca, W. M; Rodriguez, J. A; Mafla, G. e Roa, J. (1984). *Procedures for recovering cassava clones distributed in vitro*, CIAT, Cali, Colombia, 8 pp.

Ramos, P. R ; Mendonça, L.A.S.; Silva, A. B; Pasqual, M. (2002). *Enraizamento in vitro de brotações do porta enxerto de citros *Tangerina sunki x Trifoliata** English. v. 26, n. 1. 4pp.

Segovia, R. J; Bedoya, A; Trivino, W; Ceballos, G. G e Ospina, B. (2002) *Metodología para el endurecimiento massivo de "vitroplantas" de yuca*, CIAT, Cali, Colombia, 585 pp.

Silva, A. L .L e Bisognin, D.A. (2004). *Resistência a doenças em *Solanum tuberosum* L.* Santa Cruz do Sul. 12pp.

Silva, R. R; Freitas, G. A; Siebeneichler, S.C; Mata, J. F; Chagas, J. R. (2007). *Desenvolvimento inicial de plântulas de *Theobroma grandiflorum* (Willd. ex Spreng.) Schum. sob influência de sombreamento*. VOL 37. 16pp.

Santos, M. R. A (2008). *Cultura de Tecidos Vegetais*. Rondônia. 7pp.

Souza, Z. S. (2003). *O cultivo da batata na região sul do Brasil*. Embrapa.Brasilia, 567pp.

Tazzo, I. F. (2005). Variação de alguns elementos micrometeorológicos no dossiel de plantas de batata. Santa Maria, RS – Brasil.

Vayda, M. E. (1994). *Environmental stress and its impact on potato yield*. Cambridge: CAB International. 22pp.

Vicente, A. M; Cenzano, I.; Vicente, J.M. (1996). *Manual de indústria dos alimentos*. São Paulo.

Walker, T; Pitoro, R; Tomo, A; Siteo, I; Salência, C; Mahanzule, R; Donovan, C; Mazuze, F. (2006). *Estabelecimento de Prioridades para a Investigação Agrária no Sector Público em Moçambique*. Relatório de Pesquisa. 3pp

ANEXOS

Tabela 1- Comparação das plantas nos três estágios de desenvolvimento.

Parâmetros	1 ^o Estagio	2 ^o Estagio	3 ^o Estagio
Idade (dias)	90 à 60 dias	40 à 60 dias	30 à 40 dias
Quantidade de folhas	Elevada	Muito elevada	Média
Estado fisiológico das folhas (vigor das folhas)	Muitas folhas amareladas e no estado de senescencia	Algumas folhas amareladas, estado de vigor não muito boa	Folhas verdes num bom estado de vigor
Quantidade de raízes	Elevada	Média	Pouca
Localização das raízes	Na base da planta e ao longo do caule	Na base da planta e algumas ao longo do caule	Só na base da planta.

Tabela 2 - Plano de experimentação (fases de aclimatização)

	Estufa			Sombrite
Actividade	Câmara de humidade fechada.	Abertura da câmara de manhã e o seu fechamento a tarde.	Remoção da câmara de humidade	Transplante nos vasos (15x20 cm) contendo substrato composto por areia grossa, areia fina (argila), e estrume bovino.
Período	8 DDT	12 DDT	15 DDT	30 DDT
Período total				45 dias DDT

Tabela 3- Estatística descritiva para a igualdade das medias nos dois ensaios.

Report

Ensaio		Comprimento das Raizes	Comprimento da Planta(Cm)	Numero de Raizes	Numero de Folhas	Folhas	Raizes
Primeiro Ensaio	Mean	8,2111	33,9111	16,5000	26,0000	,2546	,1571
	N	9	9	6	9	9	9
	Std. Deviation	1,96179	10,90911	7,71362	14,16863	,17336	,21241
Segundo Ensaio	Mean	9,7111	58,6111	34,3333	64,3333	11,0611	6,4211
	N	9	9	9	9	9	9
	Std. Deviation	2,16936	10,62949	21,40093	22,38303	4,50566	3,67388
Total	Mean	8,9611	46,2611	27,2000	45,1667	5,6578	3,2891
	N	18	18	15	18	18	18
	Std. Deviation	2,14973	16,45200	19,09824	26,81801	6,36242	4,09382

Tabela 4- Teste Para a igualdade de médias ao longo dos estágios de desenvolvimento.

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means		
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)
Comprimento das Raízes	Equal variances assumed	,013	,911	-1,539	16	,143
	Equal variances not assumed			-1,539	15,841	,144
Comprimento da Planta(Cm)	Equal variances assumed	,002	,969	-4,865	16	,000
	Equal variances not assumed			-4,865	15,989	,000
Numero de Raízes	Equal variances assumed	2,178	,164	-1,938	13	,075
	Equal variances not assumed			-2,287	10,767	,043
Numero de Folhas	Equal variances assumed	3,046	,100	-4,341	16	,001
	Equal variances not assumed			-4,341	13,524	,001
Folhas	Equal variances assumed	31,798	,000	-7,190	16	,000
	Equal variances not assumed			-7,190	8,024	,000
Raízes	Equal variances assumed	9,084	,008	-5,107	16	,000
	Equal variances not assumed			-5,107	8,053	,001

Tabela 5- Estatística descritiva para o comprimento, numero e peso de raízes e folhas nos dois ensaios.

ANOVA

Ensaio		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	
Primeiro Ensaio	Comprimento das Raízes	Between Groups	2	,016	,008	,998	
		Within Groups	6	30,773	5,129		
		Total	8	30,789			
	Comprimento da Planta(Cm)	Between Groups	2	379,876	189,938	1,992	,217
		Within Groups	6	572,193	95,366		
		Total	8	952,069			
	Numero de Raize:	Between Groups	2	91,000	45,500	,661	,578
		Within Groups	3	206,500	68,833		
		Total	5	297,500			
	Numero de Folha:	Between Groups	2	302,000	151,000	,695	,535
		Within Groups	6	1304,000	217,333		
		Total	8	1606,000			
	Folhas	Between Groups	2	,092	,046	1,847	,237
		Within Groups	6	,149	,025		
		Total	8	,240			
	Raízes	Between Groups	2	,097	,049	1,106	,390
		Within Groups	6	,264	,044		
		Total	8	,361			
Segundo Ensaio	Comprimento das Raízes	Between Groups	2	12,962	6,481	1,575	,282
		Within Groups	6	24,687	4,114		
		Total	8	37,649			
	Comprimento da Planta(Cm)	Between Groups	2	25,722	12,861	,088	,917
		Within Groups	6	878,167	146,361		
		Total	8	903,889			
	Numero de Raize:	Between Groups	2	1768,667	884,333	2,800	,138
		Within Groups	6	1895,333	315,889		
		Total	8	3664,000			
	Numero de Folha:	Between Groups	2	1880,667	940,333	2,652	,150
		Within Groups	6	2127,333	354,556		
		Total	8	4008,000			
	Folhas	Between Groups	2	6,630	3,315	,128	,882
		Within Groups	6	155,778	25,963		
		Total	8	162,408			
	Raízes	Between Groups	2	60,901	30,450	3,881	,083
		Within Groups	6	47,078	7,846		
		Total	8	107,979			

Tabela 6 - Temperaturas medias diárias nos três ensaios

Dias de aclimatização	1° Ensaio	2° Ensaio	3° Ensaio
1	30	25.4	33.4
2	33.1	23.4	31.2
3	23.1	23.3	30
	24	22.3	28
5	27.6	22.3	31.2
6	28.3	22.3	30
7	24.4	22.6	30.3
T° media	27.21429	23.08571	30.58571
8	27.5	26.1	27
9	23.8	30.2	27
10	24.9	22.8	28.4
11	21.5	23.9	27.3
12	24.1	23.1	27.8
13	26.5	24.4	28.7
14	23.6	23.3	24.7
15	25.5	22.9	26.6
16	29.2	23.5	23.1
T° media	27.76964	25.30536	30.33036
17	24.5	23.1	
18	24.2	24.6	
19	24.1	25.3	
20	20.5	28.3	
21	25.2	24.7	
22	27.8	23.8	

23	26.9	28.3
24	23.8	32.6
25	23.5	33.5
26	24	25.2
27	21.7	23.6
28	23.1	24
29	23.2	27.5
30	26.5	24.3
31	30	31.5
32	29.8	25.1
33	30.3	26.7
34	31.1	25
35	27.9	24.9
36	27.3	28.7
37	33.3	32.5
38	35.8	29.9
39	25.9	28.3
40	23.3	27.1
41	22.3	21.2
42	22.6	21.8
43	26.1	27.2
44	30.2	26.5
45	22.8	25.5

Tº media	27.32853	26.68647	
Desvio padrão	3.34747	3.007677	2.515718

Tabela 7 - Taxa de sobrevivência (%)

1° Ensaio			2° Ensaio			3° Ensaio		
E ₁	E ₂	E ₃	E ₁	E ₂	E ₃	E ₁	E ₂	E ₃
30	60	73.33333	100	100	100	0	0	0



Fig 1 : Plântulas de batata reno na sala crescimento, a direita temos plântulas do primeiro estagio no meio temos do segundo estagio e a esquerda temos plântulas do terceiro estagio.



Fig 2 - Plântulas de Batata reno na sala de crescimento no laboratório de cultura de tecidos.



Fig 3 - plantas de Batata reno após 45 DDT, a direita temos o primeiro estagio, no meio o segundo estagio e a direita temos o terceiro estagio.



Fig 4 -Plantas de Batata reno com 30 DDT, segundo ensaio.



Fig 5 - Plantas de Batata reno do segundo ensaio com 45DDT, a direita o terceiro estagio no meio o segundo e a esquerda o primeiro estagio.



Fig 6 - Estufa do laboratorio de cultura de tecidos.