

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRARIAS  
DEPARTAMENTO DE ZOOTECNIA  
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**

**MÁRCIO JOSÉ ALVES PEIXOTO**

**ACLIMATIZAÇÃO DE PLANTAS MICROPROPAGADAS DE PALMA FORRAGEIRA  
*Opuntia ficus-indica* (L.) Mill., EM DIFERENTES SUBSTRATOS.**

Fortaleza

2004

**ACLIMATIZAÇÃO DE PLANTAS MICROPROPAGADAS DE PALMA FORRAGEIRA**  
***Opuntia ficus-indica* (L.) Mill., EM DIFERENTES SUBSTRATOS.**

**Márcio José Alves Peixoto**

**Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Maria Socorro de Souza Carneiro**

Fortaleza

2004

**MÁRCIO JOSÉ ALVES PEIXOTO**

**ACLIMATIZAÇÃO DE PLANTAS MICROPROPAGADAS DE PALMA FORRAGEIRA  
*Opuntia ficus-indica* (L.) Mill., EM DIFERENTES SUBSTRATOS**

Dissertação submetida à Coordenação do Curso de Pós-Graduação em Zootecnia, da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Zootecnia.

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dra. Maria Socorro de Souza Carneiro

Co-Orientador: Prof. PhD. Francisco de Assis Paiva Campos

FORTALEZA  
CEARÁ – BRASIL  
2004

P431a Peixoto, Márcio José Alves,

Aclimatização de plantas micropropagadas de palma forrageira *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill, em diferentes substratos./ Márcio José Alves Peixoto – Fortaleza: 2004.

Orientadora: Maria Socorro de Souza Carneiro  
Dissertação (Mestrado) em Zootecnia – Universidade Federal do Ceará/Departamento de Zootecnia.

1. Aclimatização. 2. Palma Forrageira.
2. Substratos. I. Título

**C.D.D. 636.08**

Esta dissertação foi submetida a exame como parte dos requisitos necessários à obtenção do Grau de Mestre em Zootecnia, outorgado pela Universidade Federal do Ceará, e encontra-se a disposição dos interessados na Biblioteca Central da Referida Universidade.

A citação de qualquer trecho desta dissertação é permitida, desde que seja feita de acordo com as normas da ética científica.

**Márcio José Alves Peixoto**

**APROVADA: 09 de Julho de 2004**

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof<sup>a</sup>. Dra. Maria Socorro de Souza Carneiro  
Departamento de Zootecnia  
Universidade Federal do Ceará  
Orientadora

---

Dra. Josefa Diva Nogueira Diniz  
Departamento de Fitotecnia  
Universidade Federal do Ceará  
Conselheiro

---

Prof. Dr. Jacob Silva Souto  
Departamento de Engenharia Florestal  
Universidade Federal de Campina Grande – PB  
Conselheiro

Aos meus pais, Mariano Peixoto e Irani Pereira, exemplo de amor, símbolo de honestidade e trabalho.

Aos meus irmãos Miguel, Rose Anne, Mariano Filho e Rosirene, sempre presente com todo o amor que merecem e pela força que nos une. A minha tia Irene Pereira pela amizade incontestável.

Aos meus avôs Miguel Alves (in memória) e José Alves, símbolo de dedicação e vida.

**Dedico.**

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, pelo dom de vida, pela sua luz que ilumina todos os meus passos e pela força para superar os obstáculos no decorrer do curso.

A Universidade Federal do Ceará, por intermédio da Coordenação do Curso de Pós-Graduação em Zootecnia pela oportunidade de realização do Mestrado.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo apoio financeiro.

A Professora Maria Socorro de Souza Carneiro, pelo apoio, cobrança, incentivo, além da amizade, honestidade e compreensão a mim dispensado.

Ao Co-Orientador e Chefe do Laboratório de Bioquímica e Biologia Molecular, Prof. Francisco de Assis Paiva Campos, pela amizade, colaboração e ensinamentos prestados durante a pesquisa, além de ceder todas as instalações do Laboratório e o material necessário à pesquisa.

Aos Professores Ricardo Bozzi da Universidade Di Firenze Itália e Olivardo Facó da Universidade Federal do Ceará pela colaboração nas análises estatísticas.

Aos colegas do Laboratório de Bioquímica e biologia Molecular, pela amizade e ajuda no desenvolvimento da pesquisa.

Aos amigos, Canindé de Sousa, Gleyber Cartaxo, Ernandes, Jalmir, Juliana, Rodrigo Gregório, Wilson Mendonça, Fabio Guedes, Tiago Guedes pela amizade, convívio e incentivo.

Em especial as amigas Eliane Guedes e família, Silvia Guedes e família e minha Madrinha Cely Guedes pela grande amizade, apoio e incentivo.

A todos os Professores do Curso de Pós-Graduação em Zootecnia, pelas contribuições dadas para a formação profissional e humana.

Aos colegas Carlos, Cristiane, Eva, Gysele, Jusci, Luiz, Roberto, Silvana, Vânius colegas de Mestrado em Zootecnia, pelo apoio e cooperação durante o curso.

Aos meus parentes e amigos que direta ou indiretamente se fizeram presentes nesta conquista.

## SUMÁRIO

<b>Lista de Figuras</b> .....	<b>x</b>
<b>Lista de Tabelas</b> .....	<b>xi</b>
<b>Resumo</b> .....	<b>xii</b>
<b>Abstract</b> .....	<b>xiv</b>
<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>1</b>
<b>2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	<b>2</b>
2.1 Considerações Gerais.....	<b>2</b>
2.2 Utilização da palma forrageira.....	<b>3</b>
2.3 Cultura de tecidos e meios nutritivos.....	<b>4</b>
2.4 Micropropagação.....	<b>7</b>
2.5 Solo e adubação.....	<b>8</b>
2.6 Substratos utilizados em casa de vegetação para produção de mudas.....	<b>9</b>
<b>3. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>13</b>
3.1 Preparo dos explantes em laboratório.....	<b>13</b>
3.1.1 Indução de brotos.....	<b>13</b>
3.1.2 Crescimento de brotos.....	<b>14</b>
3.1.3 Multiplicação de brotos .....	<b>15</b>
3.1.4 Enraizamento dos explantes.....	<b>15</b>
3.2 Fase Experimental: aclimatização em casa de vegetação de plantas micropropagadas de palma forrageira.....	<b>15</b>
3.2.1 Solo.....	<b>16</b>
3.2.2 Delineamento experimental.....	<b>16</b>
3.3 Transplântio das plantas aclimatizadas para o local definitivo.....	<b>18</b>

<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>20</b>
4.1 Desenvolvimento das plantas micropropagadas de palma forrageira em diferentes substratos.....	<b>20</b>
4.1.1 Altura das plantas.....	<b>20</b>
4.1.2 Número de brotações da palma forrageira em casa de vegetação.....	<b>25</b>
4.1.3 Mortalidade da palma forrageira em casa de vegetação.....	<b>27</b>
4.2 Número de cladódios por planta após o transplântio para o campo.	<b>29</b>
<b>5 CONCLUSÃO</b> .....	<b>31</b>
<b>6 REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	<b>32</b>
<b>7 ANEXO</b> .....	<b>40</b>

## Lista de Figuras

- Figura 1. Plântulas da palma forrageira (*Opuntia fícus-indica* (L.) Mill) em diferentes substratos no início da aclimatização em casa de vegetação..... 17
- Figura 2. Planta de palma forrageira (*Opuntia fícus-indica* (L.) Mill), aos 120 dias da aclimatização em casa de vegetação no substrato solo não adubado..... 22
- Figura 3. Crescimento de plantas de palma forrageira (*Opuntia fícus-indica* (L.) Mill), em substrato a base de esterco bovino aos 120 dias da aclimatização em casa de vegetação..... 23
- Figura 4. Desenvolvimento de plantas de palma forrageira (*Opuntia fícus-indica* (L.) Mill), no substrato pó de coco + solo (1:1) aos 180 dias da aclimatização em casa de vegetação..... 24
- Figura 5. Planta de palma forrageira (*Opuntia fícus-indica* (L.) Mill), no substrato a base de bioadubo aos 180 dias da aclimatização em casa de vegetação..... 24
- Figura 6. Brotações da palma forrageira (*Opuntia fícus-indica* (L.) Mill), após 180 dias de aclimatização em casa de vegetação..... 27

## Lista de Tabelas

- Tabela 1. Substratos utilizados para a aclimatização de plantas micropropagadas de palma forrageira (*Opuntia fícus-indica* (L.) Mill) em casa de vegetação..... 17
- Tabela 2. Altura média (cm) das plantas de palma forrageira – *Opuntia fícus-indica* (L.) Mill., 180 dias de aclimatização em diferentes substratos em casa de vegetação..... 21
- Tabela 3. Número médio de brotações por planta da palma forrageira (*Opuntia fícus-indica* (L.) Mill) aos seis meses da aclimatização em diferentes substratos..... 26
- Tabela 4. Percentual médio de mortalidade das plantas de palma forrageira (*Opuntia fícus-indica* (L.) Mill) aos 180 dias da aclimatização em casa de vegetação em diferentes substratos..... 28
- Tabela 5. Número médio de cladódio por planta de palma forrageira (*Opuntia fícus-indica* (L.) Mill.), micropropaga e aclimatizada, após seis meses no campo..... 30

## RESUMO

**PEIXOTO, Márcio José Alves. ACLIMATIZAÇÃO DE PLANTAS MICROPROPAGADAS DE PALMA FORRAGEIRA *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill., EM DIFERENTES SUBSTRATOS.** Universidade Federal do Ceará. Fortaleza, CE, 2004, 45p. Dissertação de Mestrado. Professora Orientadora Dra. Maria Socorro de Souza Carneiro. Conselheiros: Dra. Josefa Diva Nogueira Diniz e Prof.<sup>o</sup> Dr. Jacob Silva Souto.

O presente trabalho foi realizado nos Departamentos de Bioquímica e Biologia Molecular e Zootecnia da Universidade Federal do Ceará, Campus do Pici, Fortaleza-CE, com o objetivo de avaliar o desenvolvimento de plantas micropropagadas da palma forrageira *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill., em diferentes substratos em casa de vegetação. As plantas utilizadas no experimento foram produzidas em laboratório, observando-se as seguintes etapas: indução, crescimento, multiplicação e enraizamento os explantes foram incubados no meio de cultivo com sais e vitaminas MS, suplementado com 5% de sacarose, 0,8% de agar e pH 5,85. Para a indução de brotos retirou-se gema axilar de cladódios jovens que estavam acondicionados em casa de vegetação e foram inoculados no meio de cultivo MS completo com a combinação de 6-benzilaminopurina (BAP) 2,00 mg/L + ácidos indolacéticos (AIA) 0,25 mg/L. No crescimento de brotos utilizou-se o meio de cultivo MS completo e os reguladores BAP 0,5 mg/L + AIA 0,25 mg/L, em seguida os brotos oriundos da indução da foram inoculados individualmente em tubos de ensaio. Para proliferação dos brotos, utilizou-se o meio de cultivo MS completo e o regulador BAP 1,00 mg/L, os brotos que estavam em crescimento foram seccionados transversalmente na base e no ápice e me seguida cortados em cilindros com tamanhos entre 0,5-0,8 cm e seccionados longitudinalmente dando origem a dois explantes e inoculados em placa de Petri. Para enraizamento de brotos utilizou-se o meio de cultivo MS acrescido do ácido

indolbutírico 5,00mg/L, os brotos que estavam no meio de crescimento e/ou proliferação foram inoculados individualmente em tubos de ensaio. Os brotos oriundos

xiii

do enraizamento *in vitro*, foram utilizados no experimento de aclimatização. Antes de levar as plântulas enraizadas, os tubos de ensaio foram abertos dois dias antes para ocorrer aclimatação com o ambiente. O delineamento foi inteiramente ao acaso com oito tratamentos e quatro repetições, os tratamentos foram: solo não adubado, solo adubado de acordo com análise de solo, pó de coco + solo (1:1), pó de coco + solo (1:3), esterco bovino + solo (1:1), esterco bovino + solo (1:3), bioadubo + solo (1:1) e bioadubo + solo (1:1). Os resultados indicam diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre os tratamentos pelo teste t. A partir dos 90 dias de permanência da palma forrageira em casa de vegetação observou-se início de brotação. Conclui-se que os tratamentos com esterco bovino devem ser utilizados para produção de mudas da palma forrageira e os tratamentos pó de coco + solo (1:1) e os com bioadubo não devem ser utilizados para produção de mudas da palma forrageira.

Palavras-Chaves: Desenvolvimento, produção, aclimatização.

## ABSTRACT

Peixoto, José Márcio Alves.; **ACCLIMATIZATION OF MICROPROPAGATED PLANTS OF CACTUS *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill., UNDER DIFFERENT SUBSTRATES.** University Federal of Ceará. Fortaleza, CE, 2004, 45p. Dissertation. Advisor Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Maria Socorro de Souza Carneiro. Directors: Dr<sup>a</sup>. Josefa Diva Nogueira Diniz and Prof.<sup>o</sup> Dr. Jacob Silva Souto.

This work was carried out by the Departments of Biochemistry and Molecular Biology and Zoology, University Federal of Ceará, Campus do Pici, Fortaleza-CE, to evaluate the development of micropropagated plants of the cactus pear *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. on different substrates in a greenhouse. Plants used in the experiment were produced in the laboratory, observing the following steps: induction, growth, multiplication and rooting explants were incubated in culture medium with MS salts and vitamins supplemented with 5% sucrose, 0.8% agar and pH 5.85. To induce buds withdrew from axillary buds of young cladodes that were put in a greenhouse and were inoculated on MS medium, complete with a combination of 6-benzylaminopurine (BAP) 2.00 mg / L + acetic acid (IAA) 0.25 mg / L. The growth of shoots used the MS medium, full and regulators BAP 0.5 mg / L IAA + 0.25 mg / L, then shoots coming from the induction were inoculated individually in test tubes. For proliferation of shoots, we used the MS medium, complete and regulator BAP 1.00 mg / L, the buds that were growing were cut across the base and the apex and then I cut into cylinders with sizes between 0.5 -0.8 cm and sectioned longitudinally resulting in two explants were inoculated in Petri dishes. For rooting of shoots used the MS medium, plus butyric acid 5.00 mg / L, the buds that were in the midst of growth and / or proliferation were inoculated individually in test tubes. The shoots derived from the rooted *in vitro* were used in experiment of acclimatization. Before taking the rooting, the vials were opened two

days earlier to occur acclimatization to the environment. A completely randomized design with eight treatments and four replications, the treatments were not fertilized soil,

xv

fertilized soil according to soil analysis, coir dust, soil (1:1), coir dust, soil (1:3), cattle manure + soil (1:1), cattle manure + soil (1:3), bioadubo + soil (1:1) and bioadubo + soil (1:1). The results indicate significant differences ( $p < 0.05$ ) between treatments by test t from the 90-day stay of cactus in a greenhouse showed early sprouting. Conclude that the treatments with manure should be used for seedling production of cactus and coconut powder treatment + soil (1:1) and with bioadubo should not be used for seedling production of cactus pear.

**Key Words:** Development, production, acclimatization.

## 1. - INTRODUÇÃO

A palma forrageira *Opuntia ficus indica* (L) Mill., pertence a família das Cactaceas, e está presente em todos os continentes com diversas finalidades, entre elas na alimentação animal e humana, energia, medicinal e cosmético.

A introdução da palma forrageira no Brasil tem sido assunto de algumas controvérsias. Plantada no Brasil com o objetivo de hospedar a cochonilha, um inseto que produz um corante vermelho (carmim), e quando um dia, por acaso, foi consumida por uma vaca, despertou o interesse dos criadores que a cultivaram como planta forrageira permanecendo até hoje com a finalidade de alimentação dos rebanhos, principalmente no período de estiagem.

No Nordeste semi-árido brasileiro, é desnecessário comentar sobre sua importância que apesar de ser pobre em proteína bruta, contém em média 90% de água, é rica em mucilagem, resíduo mineral e elevado coeficiente de digestibilidade da matéria seca.

Para o desenvolvimento ideal da palma forrageira é preciso observar os aspectos de temperatura, umidade relativa do ar, altitude, além do espaçamento e tratos culturais que são essenciais para uma produção expressiva.

A técnica da multiplicação de plantas *in vitro* já é feita normalmente para diversas culturas, e no intuito de aumentar a produção de propágulos da palma forrageira para época de plantio, lançou-se mão dessa técnica. Atualmente, os estudos de propagação vegetativa visam obter muda de qualidade em sistema de produção que permitam a redução dos custos. Para a aclimatização e o desenvolvimento das plantas utilizam-se materiais que substituam em parte o solo e recipiente adequado à sua formação.

Após a micropropagação em laboratório é necessária a aclimatização das plântulas em casa de vegetação antes de se implantar no local definitivo. Nesse aspecto, este trabalho teve o objetivo de avaliar o desempenho, em casa de vegetação, da palma forrageira *Opuntia ficus indica* (L.) Mill micropropagada *in vitro* e cultivada em diferentes substratos.

## 2. - REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1- Considerações Gerais

A espécie *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill é uma planta nativa do México (TAPIA, 1983) e sua importância econômica não foi percebida durante a colonização espanhola, nem durante o primeiro século da independência do México. Fabrègues (1966) afirmou que por volta de 1880, Herman Lundgren introduziu em Pernambuco cactáceas originárias do Texas, onde já estavam sendo utilizadas como forrageiras. Segundo Pessoa (1967), as palmas cultivadas no Nordeste, *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill e *Nopalea cochenillifera* (L.) Salm-Dyck, são originárias do México e foram introduzidas no Brasil pelos Portugueses, na época da Colônia, provavelmente trazidas das Ilhas Canárias. Duque (1980) relatou que a palma foi introduzida no Nordeste, provavelmente depois de 1900.

A palma forrageira se caracteriza geralmente pela presença de aréolas com pelos e espinhos, caule suculento com casca verde e falta de folhas copadas. Os órgãos tipo caule, conhecidos como cladódios, são suculentos e sua forma é tipicamente oblonga e espatulada-oblonga, com 30 a 40 cm de comprimento e algumas vezes maiores de 70-80 cm e com 18 a 25 cm de largura. As gemas axilares são representadas como aréolas ovadas, com 2 mm abaixo da superfície da pele, e sob condições adequadas aparecerão novos cladódios, flores e raízes a partir do tecido meristemático dessas aréolas (VILLALOBOS 2001).

Essa planta forrageira se caracteriza por possuir um sistema de raízes superficiais e carnosas, com distribuição horizontal, que pode depender do tipo de solo e do manejo da plantação. Sob condições favoráveis de solo essa planta desenvolve uma raiz estendida que penetra quase 30 cm, uma dispersão de 4 a 8 m no solo, e na seca desenvolve raízes laterais carnosas a partir da raiz principal para absorver água em níveis baixos. Para evitar a perda de água em solo seco, as raízes se cobrem com uma camada relativamente impermeável em água, ou então, caem formando uma camada de cicatrização (SUDZUKI HILLS, 2001).

As Cactáceas possuem o metabolismo ácido das crassuláceas (CAM) e suas células fotossintetizantes possuem capacidade de fixar CO<sub>2</sub> no escuro para a realização da fotossíntese, pois seus estômatos permanecem fechados durante o dia e ficam abertos durante a noite, retardando desta maneira a perda de água, o que é vantajoso nas condições de alta intensidade luminosa e de estresse hídrico, ambientes onde vivem a maioria das plantas CAM, as quais são melhores adaptadas às condições áridas e semi-áridas e áridas (TAIZ e ZEIGER, 1998).

As espécies de palma atualmente cultivadas no Brasil são: *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill (palma gigante e palma redonda) e *Nopalea cochenillifera* (L.) Salm Dyck (palma miúda) (SANTOS et al., 1997).

Segundo o IBGE (1996), existem 114.036,277 ha de palma forrageira colhidas no Brasil, sendo 113.385,470 no Nordeste, onde os maiores produtores são os estados de Pernambuco com 48.113,466 ha, Paraíba com 23.708,430 ha, Bahia com 21.231,734 ha e Alagoas com 11.644,921 ha de palma forrageira colhidos.

## **2.2- Utilização da palma forrageira**

A baixa disponibilidade de forragem nas regiões semi-áridas tem sido um problema constante para a pecuária do Nordeste brasileiro. A palma é um alimento volumoso e de emergência durante as épocas críticas do ano, sendo uma alternativa viável, pois é rica em água, carboidratos solúveis, minerais, vitaminas, elevada digestibilidade e baixo teor de matéria seca, fibra bruta, proteína e fósforo, que corrigidos com a adição de alimentos fibrosos e protéicos à dieta, permite produção elevada no período da estação seca (ÁVILA, 1981; MAIA NETO, 2003).

No Nordeste brasileiro a eficiência da produção animal foi incrementada ao combinar pastagens nativas e forrageiras adaptadas em consequência da baixa produtividade das forrageiras nativas, principalmente na época de estiagens,

fazendo com que as limitações nutricionais dos animais fiquem mais visíveis na época da estação seca (LIRA et al., 1989; GUIMARÃES FILHO e SOARES, 1992). Por outro lado, a ministração de palma forrageira na estação seca do ano, além de prevenir os animais do aborto e da falta de cio, melhora a qualidade do sêmen e evita doenças por deficiência de vitaminas (CAMPELLO e SOUZA, 1960).

Por suas características morfofisiológicas, que permitem sua sobrevivência ao rigor do ambiente semi-árido, sua elevada produtividade e qualidade alimentícia para os bovinos, ovinos e caprinos, a palma despontou como um dos mais importantes e estratégicos recursos forrageiros para alimentação dos animais na estação seca do ano, constituindo-se um componente fundamental para sustentabilidade de importantes bacias leiteiras do Nordeste (MORON et al., 1998; CARVALHO FILHO, 1999).

Sob o ponto de vista da nutrição animal, a palma forrageira apresenta vantagens como alto conteúdo de vitamina A e alto teor de água. Na literatura existem poucos dados sobre a concentração dos precursores dos carotenóides para animais domésticos, mas RODRIGUEZ-FÉLIX e CANTWELL (1988) mencionaram 29 µg de carotenóide e 13 mg de ácido ascórbico por 100 g de cladódios não maduros utilizados para consumo humano.

### **2.3- Cultura de Tecidos e Meios Nutritivos**

A capacidade de regeneração de plantas a partir de células selecionadas demonstra o vasto potencial biotecnológico das técnicas de cultura de células ou tecidos vegetais. Em vários tecidos vegetais cultivados em meio de cultura, a utilização de substâncias reguladoras de crescimento tem-se mostrado de importância fundamental para o estabelecimento da competência e determinação, condições estas, necessárias à formação de meristemas caulinares e/ou radiculares (GRATTAPAGLIA e MACHADO, 1990).

Os meios nutritivos utilizados para a cultura de células, tecidos e órgãos de plantas fornecem as substâncias essenciais para o crescimento e controlam, em grande parte, o padrão de desenvolvimento *in vitro*. As substâncias

biossintetizadas pelas células e vários compostos orgânicos são adicionados ao meio para suprir as necessidades metabólicas, energéticas e estruturais das células (CALDAS, 1990).

O meio de cultura mais utilizado mundialmente é o meio MS (MURASHIGE e SKOOG, 1962), composto por água, macronutrientes, micronutrientes, carboidratos, mistura orgânica (vitaminas), reguladores de crescimento ou hormônios, ágar.

A água é o componente de maior quantidade na preparação do meio de cultura, e é uma fonte potencial de impurezas que podem afetar o crescimento de tecidos *in vitro*. Todavia, a água destilada, normalmente, é suficientemente pura para uso nos meios. No entanto, dependendo da fonte do laboratório, podem ser encontrados contaminantes orgânicos voláteis, que permanecem após a destilação e inibem o crescimento das plantas (CALDAS, 1990).

Vale salientar que a quantidade de água disponível nos meios sólidos pode ser um fator limitante em culturas como calo de fumo, onde o meio é essencialmente consumido e transformado em calo ao longo do período de incubação (LINSMAIER & SKOOG, 1965).

Os elementos minerais exigidos para o crescimento de plantas são incluídos nos meios nutritivos na forma de sais inorgânicos, podendo o nitrogênio e o enxofre ser adicionados como componentes de suplementos orgânicos. Os macronutrientes que compõem o meio de MURASHIGE & SKOOG (1962) são: nitrato de amônio, nitrato de potássio, cloreto de cálcio, sulfato de magnésio e fosfato de potássio; e os micronutrientes incluem todos aqueles elementos minerais aceitos como essenciais para plantas clorofiladas (manganês, zinco, boro, cobre, cloro e molibdênio), além do cobalto e iodo (CALDAS, 1990).

Os carboidratos fornecem energia metabólica e esqueletos carbônicos para a biossíntese de polissacarídeos estruturais como celulose, aminoácidos e proteínas, ou seja, todos os compostos orgânicos necessários para o crescimento das células. A sacarose é o carboidrato mais utilizado nos meios nutritivos, por suportar as mais altas taxas de crescimento na maioria das espécies, sendo fator

importante para se obter crescimento ótimo, dependendo do explante (CALDAS, 1990).

Os primeiros estudos com cultura de tecidos definiram a mistura básica de vitaminas constituída de tiamina (vitamina B1), ácido nicotínico (niacina) e piridoxina (vitamina B6). Vale salientar que o aminoácido glicina normalmente é adicionado e que até hoje é a mais utilizada na micropropagação *in vitro* (BONNER 1937; ROBBINS & BARTLEY 1937; WHITE 1943). Essas vitaminas são utilizadas na preparação do meio MS (MURASHIGE & SKOOG, 1962).

A composição e concentração dos hormônios são fatores determinantes no crescimento e no padrão de desenvolvimento na maioria dos sistemas de cultura de tecidos. Assim, certos tecidos demonstraram uma dependência total da presença de reguladores exógenos no meio, enquanto outros sintetizam as quantidades que necessitam. As auxinas e as citocininas são as classes de reguladores de crescimento mais utilizadas na cultura de tecidos, e no desenvolvimento das plantas *in vitro*. A formação de raiz e da parte aérea em cultura de tecidos é regulada pela disponibilidade e interação destes dois reguladores (YEOMAN, 1970).

Os meios sólidos ou semi-sólidos, tradicionalmente, são solidificados com ágar, um polissacarídeo extraído de algas marinhas. O ágar é dissolvido em água fervente e geleificado na presença de cátions quando esfriado. A consistência do meio depende da concentração de ágar utilizada, normalmente na faixa de 0,4 a 1,0% p/v para cultura de tecidos de plantas. A preferência por um outro agente de solidificação depende da espécie de planta e talvez das condições de cultivos (ROMBERGER e TABOR, 1970).

O pH dos meios nutritivos em culturas de células vegetais é normalmente ajustado com HCl ou NaOH, depois de adicionar todos os componentes que compõem o meio de cultura para um valor ligeiramente ácido entre 5 e 6. Os efeitos do pH podem ser diretos ou indiretos, interferindo na utilização do amônio como fonte de nitrogênio em células vegetais, onde valores de pH mais baixos dificultam a utilização do amônio e valores mais altos diminuíram a utilização do

nitrato, dificultando o desenvolvimento das plantas micropropagadas (CALDAS, 1990).

## 2.4 - Micropropagação

A micropropagação baseia-se em um conjunto de técnicas, nas quais um explante, que pode ser constituído de uma célula, um tecido ou um órgão, é isolado e cultivado em condições assépticas sobre um meio nutritivo artificial. O fundamento básico da cultura de tecidos é a totipotência celular, segundo a qual, qualquer célula do organismo vegetal tem a capacidade de se desenvolver em uma planta completa (GRATTAPAGLIA e MACHADO, 1990).

Na década de setenta, quando a micropropagação ganhou grande impulso, MURASHIGE (1974) apresentou um padrão para sistemas de micropropagação *in vitro* e dividido em: Estágio I – Seleção de explantes, desinfestação e cultura em meio nutritivo sob condições assépticas; Estágio II – Multiplicação dos propágulos através de sucessivas subculturas em meio próprio para a multiplicação e; Estágio III – Transferência das partes aéreas produzidas para meio de enraizamento e subsequente transplântio das plantas obtidas para substrato ou solo.

No decorrer dos últimos 15 anos foram desenvolvidas as técnicas de cultivo *in vitro* para mais de mil espécies, incluindo as cactáceas. As *opuntias* se multiplicam por estaquias dos cladódios e a necessidade de grandes quantidades de material demandado por grandes plantações é um sério problema prático. Por essas razões aplicam-se técnicas de cultivo *in vitro* para se obter um sistema eficiente de multiplicação desse gênero em grande escala. Portanto, a eficiência implica numa alta taxa de multiplicação, uniformidade genética, peso e volume reduzido, em comparação com o método convencional (VILLALOBOS, 2001).

Escobar et al. (1986) desenvolveram um método de micropropagação eficiente para *Opuntia amyclaea*, no qual em 100 dias era possível obter 25.000 plantas proveniente de um cladódio de cerca de 5 cm e que o regulador de crescimento usado para obtenção dessa alta taxa de multiplicação foi o benzil-adenina (BA), experimentado em diferentes concentrações.

No entanto, o meio nutritivo mais utilizado para micropropagação da palma forrageira é o meio MS (MURASHIG e SKOOG, 1962). Llamoca-Zàrate et al. (1999) usaram o meio de cultura MS, suplementado com 5% de sacarose e 0,8% de ágar para micropropagar *Opuntia ficus-indica* L. (Mill) cv. Gigante, através da proliferação de gemas axilares, e concluíram que os melhores resultados foram obtidos ao se adicionar ao meio de cultura BAP 2,00 mg/L + IAA 0,25 mg/L, para a brotação; BAP 0,50 mg/L + IAA 0,25 mg/L, para o crescimento; BAP 1,00 mg/L, para a proliferação; e IAA 5,00 mg/L, para o enraizamento.

Frota (2003) avaliando 10 clones de *Opuntia ficus-indica* verificou que o meio de cultura e as vitaminas MS deve ser utilizados para micropropagação dessa cultura forrageira, acrescentado de 5% de sacarose, 0,7% de ágar, num pH igual a 5,85 e utilizar os mesmos reguladores de crescimento nas mesmas proporções adotadas por LLAMOCA-ZÁRATE et al. (1999).

O estado fisiológico e fitossanitário da planta cujos explantes são retirados têm grande influência no posterior comportamento das culturas. A primeira consideração diz respeito ao estado nutricional da planta e à fase de crescimento em que se encontra. Plantas bem nutridas, sem sintomas de deficiência nutricional ou hídrica, em geral, fornecem explantes melhores. Portanto, a retirada de explantes deve ser feita de preferência a partir de brotações novas que são formadas durante a fase ativa de crescimento da planta (GRATTAPAGLIA e MACHADO, 1990).

A utilização dos meristemas para o cultivo *in vitro* e a posterior micropropagação destes, são essenciais para a produtividade em regiões infectadas por viroses e bacterioses, pois disponibiliza grande quantidade de mudas em curto espaço de tempo (ROCA e MROGINSKI, 1991; MABANZA et al., 1994).

## **2.5 - Solo e Adubação**

Uma das bases para o estudo de problemas de fertilidade dos solos e do uso das práticas de adubação é fundamentada na necessidade nutricional de cada

cultura, observado através das curvas de absorção de nutrientes e acumulação de matéria seca, em função da idade da planta (RODRIGUES FILHO et al., 1986).

Segundo Guimarães (1982) um dos fatores que possivelmente explica a menor exigência de uma determinada cultura com relação à textura do solo pode estar relacionado ao desenvolvimento do sistema radicular da planta, que é responsável pela habilidade em explorar maior ou menor volume de solo para satisfazer a demanda nutricional da planta.

A palma forrageira é uma cultura relativamente exigente quanto às características físico-químico do solo, contrariando a opinião de muitos produtores rurais. Neste sentido, Farias et al., (1984) informaram que se o solo for fértil, podem ser indicados solos de textura arenosa e argilosa, porém mais freqüentemente recomendados os argilo-arenosos, sendo fundamental boa drenagem, pois áreas sujeitas a encharcamento não se prestam à cultura da palma forrageira. Afirmam ainda, que há necessidade de adubação e que esta pode ser orgânica ou mineral. No caso de se optar pela adubação orgânica, pode ser utilizado esterco de bovino ou de caprino, na quantidade de 10 a 20 t/ha no plantio e a cada dois anos no período próximo à estação chuvosa. De maneira semelhante Campello e Souza (1960) revelaram que a palma forrageira não dispensa adubação, fato confirmado por Araújo et al. (1974), quando verificaram que a adubação com 20 t/ha de esterco bovino promoveu um aumento de produção na palma forrageira cv. Gigante da ordem de 50%, e que com esterco de caprino houve um incremento de 27%.

Santos et al. (1996) em pesquisa sobre adubação orgânica, mineral e calagem em palma forrageira, verificaram que adubação orgânica com 10 t/ha de esterco de bovinos a cada dois anos foi superior a mineral (50 kg/ha/ano de N, P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> e K<sub>2</sub>O) quanto a produção de matéria seca.

## **2.6 - Substratos utilizados em casa de vegetação para produção de mudas**

A produção de mudas é uma das etapas mais importantes do sistema produtivo, uma vez que delas depende o desempenho final das plantas, tanto do

ponto de vista nutricional, quanto do tempo necessário para produção e, conseqüentemente, do número de ciclos produtivos possíveis por ano (CARMELLO, 1995).

As técnicas gerais para produção de mudas utilizam procedimentos simples como a seleção massal de plântulas saudáveis, fazendo-se necessário a obtenção de substratos capazes de nutrir satisfatoriamente a plântula. Para Franco e Balieiro (2000) a matéria orgânica do solo é a principal fonte de nutrientes minerais para as plantas, e a perda da fertilidade natural dos solos tropicais úmidos tem como principal causa o desaparecimento da matéria orgânica.

O sucesso de uma cultura depende, em grande parte, da utilização de mudas de alta qualidade, e um dos principais fatores envolvidos na sua formação é o substrato, que precisa ser bem escolhido e manejado corretamente para que se obtenha êxito na produção de mudas (MINAMI, 1995).

Abad e Nogueira, (1998) definiram o termo substrato como sendo todo material sólido, natural ou sintético, residual, mineral ou orgânico, distinto do solo que colocado em um recipiente em forma pura ou em mistura, permite o desenvolvimento do sistema radicular, desempenhando, portanto, um papel de suporte para a planta. De acordo com Bezerra e Rosa, (2002) o substrato exerce a função do solo, fornecendo à planta sustentação, nutrientes, água e oxigênio, e que estes substratos podem ter diversas origens, ou seja, animal (esterco e húmus), vegetal (tortas, bagaços, xaxim e serragem), mineral (vermiculita, perlita e areia) e artificial (espuma fenólica e isopor).

O cultivo de plantas utilizando substrato é uma técnica amplamente empregada na maioria dos países de horticultura avançada, e apresenta vantagens, como o manejo mais adequado da água, evitando a umidade excessiva em torno das raízes. Além do mais, o substrato a ser utilizado deve ser capaz de favorecer a atividade fisiológica das raízes (ROSA et al 2002). Segundo Gonçalves (1995), as características desejáveis nos substratos, são o custo, disponibilidade, teor de nutrientes, capacidade de troca de cátions, esterilidade biológica, aeração, retenção de umidade e uniformidade.

Existem substratos comerciais empregados nesta atividade que são de boa qualidade (Vermiculita, Plugmax, Bioadubo, etc.), porém seu custo é elevado. Uma medida adequada consiste em utilizar substratos regionais que possam ser obtidos facilmente, tal como o pó de coco, esterco bovino, casca de arroz carbonizado, bagana de carnaúba etc. Estes resíduos orgânicos têm sido utilizados como uma alternativa para a redução dos custos, com resultados positivos no desenvolvimento de plântulas de diversas culturas (BEZERRA e ROSA, 2002).

Inúmeras publicações do CNPAT-EMBRAPA referem-se ao esterco bovino como sendo de boa qualidade para a produção de mudas. Apesar do esterco de curral ser relativamente rico em nutrientes vegetais, existem algumas limitações para a produção de mudas impostas pelas cadeias alimentares presentes no solo. Sabe-se que a pronta disponibilidade de nutrientes depende da mineralização da matéria orgânica, que é lenta, dificultando a nutrição das mudas em substratos formados a partir do esterco curtido. Inúmeros trabalhos comprovam que adubações com esterco de gado curado não respondem agronomicamente nos primeiros trinta dias, pois os resultados positivos, quanto à absorção de nutrientes só são esperados, após o ataque da matéria orgânica pelos microorganismos do solo. Esse fato se deve ao precário processo de digestão dos grandes ruminantes cujo esterco ainda exhibe grande quantidade de tecidos vegetais que imobilizam temporariamente os elementos essenciais ao desenvolvimento dos vegetais (LOPES, 1997).

O pó de coco é um material bastante variável quanto ao nível de salinidade e nutrientes e, como tal, deve ser caracterizado, principalmente em termos de condutividade elétrica, pois, dependendo do tipo de cultivo a ser utilizado, deverá ser procedida uma etapa de lavagem (ROSA, 2001), pois existem casos em que o pó da casca de coco apresenta níveis tóxicos de cloreto de potássio (nem sempre sódio, como se pressupõe) (KÄMPF & FERMINO, 2000). Portanto, a lavagem deverá ser conduzida de forma a lixiviar os sais que conferem ao material alto valor de salinidade.

A composição química da casca de coco varia conforme a fonte, a época do ano e a quantidade de chuvas (KÄMPF & FERMINO, 2000). Segundo Rosa et al. (2001) analisaram o pó da casca do coco verde usado como substrato agrícola, e observaram a seguinte composição química: N – 6,52 g/kg; P – 1,42 g/kg; K – 11,5 g/kg; Ca – 6,80 g/kg; Mg – 1,79 g/kg; Na – 12,5 g/kg; Fe – 1973,0 mg/kg; Cu – 6,6 mg/kg; Zn – 31,8 mg/kg, Mn – 23,3 mg/kg e M.O – 72,58 mg/kg, evidenciando uma alta concentração de sódio, correspondendo a uma condutividade elétrica igual a 4,74 dS/m. Foi verificado ainda o teor de taninos presente no material, uma concentração de 42 ppm que poderá ser reduzido com lavagem do material. Isso é importante, pois taninos solúveis muito concentrados são fitotóxicos e inibem o crescimento da ponta das raízes (KÄMPF e FERMINO, 2000).

Os substratos comerciais estimulam vigoroso desenvolvimento vegetativo, floração intensa, induz precocidade, permitindo às plantas atingirem elevados índices do seu potencial genético, acarretando a uma maior produtividade e qualidade (BEZERRA e ROSA, 2002).

### **3. – MATERIAL E MÉTODOS**

#### **3.1 Preparo dos explantes em laboratório**

A palma foi micropropagada no Laboratório de cultura de Tecido do Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular da Universidade Federal do Ceará, Campus do Pici. O material utilizado para micropropagação da palma forrageira (*Opuntia ficus-indica* (L) Mill) cultivar gigante, foi obtido no mostruário do Setor de Forragicultura do Departamento de Zootecnia do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Ceará e conduzido na seguinte seqüência: indução de brotos, crescimento de brotos, proliferação de brotos e enraizamento de brotos.

##### **3.1.1 Indução de brotos**

Para a indução de brotos utilizou-se o meio de cultura contendo a mistura basal de sais e vitaminas MS modificado (MURASHIGE e SKOOG, 1962), suplementado com sacarose a 5%, solidificado com ágar a 0,8% e pH de 5,85 (Tabela 1A em anexo).

Tanto a vidraria como a água destilada e o meio de cultura utilizados foram autoclavados a 121°C por 15 minutos. A vidraria foi seca em estufa à temperatura aproximada de 80°C, por 12 horas.

As soluções contendo macronutrientes e micronutrientes foram preparados e separados em bécker distintos com capacidade para 1L dissolvidos em 500 mL de água destilada, em seguida, completou-se o volume para 1000 mL e armazenou-se na geladeira. O meio foi preparado numa concentração 10 vezes a concentração final. As misturas orgânicas foram colocadas em bécker com capacidade para 1L, dissolvidas em 300 mL de água destilada, em seguida, completou-se o volume para 1000 mL e armazenou-se na geladeira. A mistura orgânica foi preparada numa concentração 1000 vezes a concentração final.

Para a indução de brotos foram coletados cladódios jovens de plantas de palma forrageira, com tamanho variado entre 8-12 cm, e no laboratório, foram lavados com água corrente e sabão líquido neutro. Em seguida, foram levados para a câmara de fluxo laminar e imersos em uma solução de hipoclorito de sódio a 2% (p.a) e água destilada autoclavada durante três minutos sob constante agitação, depois lavados três vezes com água destilada autoclavada para retirar o excesso de hipoclorito, seccionados transversalmente e acondicionados em placas de Petri. A seguir, foram retiradas as aréolas (gemas axilares) com área variando de 0,50-0,80 cm<sup>2</sup> na forma de retângulo. As gemas axilares foram inoculadas em placas de Petri contendo o meio de cultura com os sais e vitaminas MS completos com a combinação de BAP 2,00 mg/L + IAA 0,25 mg/L fechando-se as placas com papel alumínio e filme plástico do tipo PVC. Após a inoculação foram mantidos em sala de crescimento, por 15 a 18 dias em uma temperatura de 28 ± 2°C, fotoperíodo de 16 horas e intensidade luminosa de 25,3 μmol.m<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup>. Devido ao excesso de calo, e/ou oxidação dos tecidos, e/ou suberização dos ferimentos, os explantes foram transferidos para o mesmo meio de indução de brotação e retornaram à câmara de crescimento por mais 12 a 15 dias (Figura 1A em anexo), quando foram transferidos para o meio de crescimento.

### **3.1.2 Crescimento de brotos**

Após 12 a 15 dias em meio de brotação os explantes foram transferidos para meio de crescimento, seccionando-se transversalmente na base para eliminação dos tecidos oxidados e do excesso de calo. A seguir, foram inoculados individualmente em tubos de ensaio contendo o meio de cultura MS completo com 0,50 mg/L de BAP e 0,25 mg/L de AIA, fechados com papel alumínio e filme plástico do tipo PVC e inoculados na câmara de crescimento, onde ficaram por 30 dias em uma temperatura de 28 ± 2°C, fotoperíodo de 16 horas e intensidade luminosa de 25,3 μmol.m<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup> (Figura 2A em anexo).

### **3.1.3 Multiplicação de brotos**

Após 30 dias em meio de crescimento, os brotos com tamanhos entre 1,5 e 4,0 cm foram seccionados transversalmente na base, para retirada de calos ou tecidos suberizados, e no ápice para a quebra da dominância apical, e depois novamente seccionados em cilindros com tamanho entre 0,5-0,8 cm. Estes cilindros foram seccionados longitudinalmente dando origem a dois explantes, e depois inoculados individualmente em tubos de ensaio contendo o meio de cultivo MS com 1,00 mg/L de BAP, fechados com papel alumínio e filme plástico do tipo PVC e mantidos em sala de crescimento por 20 dias (Figura 3A em anexo), a uma temperatura de  $28 \pm 2^{\circ}\text{C}$ , fotoperíodo de 16 horas e intensidade luminosa de  $25,3 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ .

### **3.1.4 Enraizamento dos explantes**

Os brotos oriundos do crescimento e proliferação com tamanho entre 1,0-2,0 cm foram seccionados transversalmente na base para a retirada de calos e/ou tecidos suberizados, e distribuídos individualmente em tubos de ensaio contendo meio de cultura MS com 5,0 mg/L de AIB para enraizamento, fechados com papel alumínio e filme plástico do tipo PVC e levados para sala de crescimento. Nesse meio, foram mantidos por 30 dias (Figura 4A em anexo), nas mesmas condições ambientais dos cultivos anteriores.

## **3.2 Fase Experimental: Aclimatização em casa de vegetação de plantas micropropagadas de palma forrageira.**

Antes de levar as plântulas enraizadas para a casa de vegetação, os tubos de ensaio ficaram abertos por dois dias no laboratório, para iniciar a adaptação ao ambiente. Após esse período, as plântulas foram levadas dos tubos de ensaio, lavadas com água corrente para a retirada do excesso do meio de cultura das

raízes e plantadas em saco de polietileno preto com capacidade de 01 (um) quilo, contendo substrato de acordo com os tratamentos.

### **3.2.1 Solo**

O solo utilizado para o plantio das mudas foi coletado no Setor de Cunicultura pertencente ao DZ/CCA/UFC e remetido ao Laboratório de Solos/UFC para análises química e física.

O solo foi coletado na camada arável, a uma profundidade de 0-20 cm, seco ao ar, destorroado, passado em peneira de malha de 5 mm e em seguida foi retirada uma amostra para análises química e física do mesmo (Tabela 2A em anexo).

### **3.2.2 Delineamento experimental**

O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso com oito tratamentos (Tabela 1) e quatro repetições. Inicialmente, cada unidade experimental foi composta por sete plântulas, perfazendo um total de 224 plântulas, e devido à mortalidade destas nos dois primeiros meses em casa de vegetação, ficou estabelecido que a unidade experimental seria representada por quatro plântulas perfazendo um total de 128 plântulas.

As plantas provenientes do laboratório tinham tamanho variando de 1 a 2 cm e foram imersas dois terços no solo conforme a Figura 1. Essa variação de tamanho ocorreu em virtude de, ao se passar da fase de proliferação para a fase de crescimento de brotos, algumas aréolas, nesta primeira fase, emergiram mais rápido impedindo o desenvolvimento das restantes, em consequência da produção de auxina nos brotos maiores, e quando transferidos para o meio de cultura para crescimento, as plantas menores não acompanharam o crescimento das maiores, ocasionando diferença de tamanhos dos brotos.

TABELA 1 Substratos utilizados para a aclimatização de plantas micropropagadas de palma forrageira (*Opuntia ficus-indica* (L.) Mill) em casa de vegetação.

TRATAMENTOS	SUBSTRATOS
01	Solo Não Adubado
02	Solo Adubado
03	Pó de Coco 50% + Solo 50%
04	Pó de Coco 25% + Solo 75%
05	Esterco Bovino 50% + Solo 50%
06	Esterco Bovino 25% + Solo 75%
07	Bioadubo 50% + Solo 50%
08	Bioadubo 25% + Solo 75%



**FIGURA 1** Plântulas da palma forrageira (*Opuntia ficus-indica* (L.) Mill) em diferentes substratos no início da aclimatização em casa de vegetação.

As plantas foram irrigadas duas vezes por semana e após aproximadamente três meses do início da pesquisa até os oito meses (final do experimento) as plantas foram irrigadas uma vez por semana, colocando-se aproximadamente 50 mL de água/planta, no intuito de molhar a superfície do solo.

Diariamente eram anotadas as temperaturas mínima e máxima (Tabela 3A em anexo) e semanalmente eram realizadas as medidas de altura das plantas, e anotados o índice de mortalidade e número de brotações, até seis meses em casa de vegetação. Dois meses depois, com o final do período chuvoso, as plantas foram transferidas para o campo, época em que foi realizado o preparo da área.

Para os dados de altura das plantas foram realizadas análises estatísticas através do programa SAS (2001) e as médias comparadas pelo teste t a 5% de probabilidade.

### **3.3 Transplântio das plantas aclimatizadas para o local definitivo.**

Após o período de oito meses das plantas em casa de vegetação, foi realizado o transplante para área pertencente ao Setor de Forragicultura do Departamento de Zootecnia do Centro de Ciências agrárias da Universidade Federal do Ceará, ocorrido no mês de agosto de 2003.

O delineamento utilizado foi em blocos completos casualizados com três tratamentos e quatro repetições. Os tratamentos foram assim distribuídos: A – plântulas com 10 a 20 cm; B – plântulas com 21 a 30 cm e; C – plântulas com mais de 30 cm de altura.

Antes do plantio a área foi arada, gradeada, demarcada as parcelas e feito a abertura das covas. O plantio foi realizado em covas espaçadas de 1,0 m entre linhas e 0,5 m entre plantas em parcelas medindo 3,0 m X 1,5 m, com área útil de 0,5 m<sup>2</sup>, correspondendo a 4 plantas úteis/parcela. No plantio foi colocado 850g de esterco bovino curtido por cova, correspondendo a 20t/ha. As plantas tiveram dois terços do seu tamanho imerso no solo.

Por ter sido feito o transplântio no mês de agosto, as plantas foram irrigadas duas vezes por semana até o início das chuvas que começaram em dezembro.

Neste experimento foi avaliado o número de cladódio/planta de palma forrageira durante os seis meses em campo.

As análises estatísticas foram realizadas através do Programa SAS (2001) e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

## **4. - RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **4.1 – Desenvolvimento das plantas micropropagadas de palma forrageira em diferentes substratos.**

#### **4.1.1 Altura das plantas**

Para o crescimento em altura, aos 180 dias verificou-se diferença significativa a 5% de probabilidade pelo teste t quando comparados os efeitos dos diferentes substratos (Tabela 2).

Aos 150 dias de permanência da palma forrageira em casa de vegetação os tratamentos a base de esterco bovino e solo não adubado foram semelhantes entre si ( $p>0,05$ ) apresentando superioridade em relação aos demais pelo teste t a 5% de probabilidade.

No substrato solo não adubado, as plantas apresentaram um crescimento acentuado até aos 120 dias. Após 150 dias, o crescimento permaneceu praticamente estável, talvez devido ao esgotamento dos nutrientes. A Figura 2 mostra o desenvolvimento de uma planta de palma forrageira no substrato solo não adubado aos 120 dias de aclimatização.

Os substratos com a mistura de solo e esterco bovino 1:1 e 2:1 apresentaram os melhores resultados para o crescimento das plantas durante os seis meses na casa de vegetação com 27,82 e 25,49 cm de altura respectiva, seguidos dos substratos solo não adubado e solo adubado com 19,68 e 16,62 cm de altura, respectivamente. Já os tratamentos com pó de coco e bioadubo (adubo comercial) proporcionaram menor crescimento em altura das plantas, podendo ser explicado pelo fato desses substratos apresentarem maior teor de umidade diminuindo a aeração.

O maior crescimento em altura das plantas nos substratos a base de esterco bovino, estão de acordo com informações obtidas em estudos feitos com outras culturas perenes e semiperenes por ALMEIDA et al., 1982 e Ricci et al. (1994). A

mistura do esterco bovino com o solo permitiu uma boa estruturação, provavelmente, por melhorar as características do solo, fornecendo matéria orgânica para o bom desenvolvimento das mudas.

TABELA 2 – Altura média (cm) das plantas de palma forrageira – *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill., 180 dias de aclimatização em diferentes substratos em casa de vegetação.

Tratamento	Idade (dias)						
	0	30	60	90	120	150	180
Solo não adubado	0,47A*	1,89A	5,36A	10,56A	15,46A	18,07A	19,68B
Solo adubado	0,49A	1,88A	4,29AB	10,32A	11,70B	14,46B	16,62B
Solo + Pó de coco (1:1)	0,53A	1,43A	1,70B	1,79D	1,85D	1,85D	1,85D
Solo + Pó de coco (2:1)	0,46A	1,84A	4,20AB	7,52B	8,95C	9,59C	9,93C
Solo + Esterco bovino (1:1)	0,30A	1,36A	3,85AB	7,70AB	12,64AB	19,03A	27,82 <sup>a</sup>
Solo + Esterco bovino (2:1)	0,60A	2,17A	5,46A	9,88AB	15,60A	20,29A	25,49 <sup>a</sup>
Solo + Bioadubo (1:1)	0,43A	1,13A	1,97B	2,11D	2,12D	2,42D	2,72D
Solo + Bioadubo (2:1)	0,69A	1,47A	2,18B	2,43C	2,58D	2,90D	3,40D

\*Médias seguidas da mesma letra maiúscula (na coluna) não diferem estatisticamente pelo teste t de 5% de probabilidade.



FIGURA 2 Planta de palma forrageira (*Opuntia ficus-indica* (L.) Mill), aos 120 dias da aclimatização em casa de vegetação no substrato solo não adubado.

Segundo Fernandes e Cora (2000) várias são as misturas utilizadas na composição de substratos para plantas, devendo-se levar em consideração as propriedades químicas e físico-hídricas, pois estas influenciam na relação água/ar do substrato e na disponibilidade e absorção de nutrientes. Trabalhando com mudas de mamoeiro colonizadas com fungos micorrizos, Trindade et al. (2000) utilizaram solo de textura franco-argilo-arenosa misturado com esterco bovino de curral nas proporções de 0, 5, 10, 20 e 30%, e observaram que aos 45 dias os melhores resultados foram obtidos nas proporções de 20 e 30% de esterco.

A Figura 3 mostra o desenvolvimento da palma forrageira no substrato a base de esterco bovino aos 120 dias da aclimatização em casa de vegetação.



**FIGURA 3** – Crescimento de plantas de palma forrageira (*Opuntia ficus-indica* (L.) Mill) em substrato a base de esterco bovino aos 120 dias da aclimatização em casa de vegetação.

As plântulas oriundas do tratamento pó de coco + solo (1:1) apresentaram aos 180 dias o menor crescimento, com 1,85 cm de altura (Figura 4), não havendo diferença significativa entre os tratamentos bioadubo + solo (1:1) e bioadubo + solo (1:2) com 2,72 e 3,40 cm de altura, respectivamente (Figura 5).



FIGURA 4 Desenvolvimento de plantas de palma forrageira (*Opuntia ficus-indica* (L.) Mill) no substrato pó de coco + solo (1:1) aos 180 dias da aclimatização em casa de vegetação.



FIGURA 5 Planta de palma forrageira (*Opuntia ficus-indica* (L.) Mill), no substrato a base de bioadubo aos 180 dias da aclimatização em casa de vegetação

Uma das razões para o baixo desenvolvimento das plantas é que a casca de coco pode apresentar níveis tóxicos de tanino, de cloreto de potássio e de sódio, cujos teores podem ser reduzidos com lavagem em água corrente de boa qualidade, livre de substâncias químicas e patógenos. O tanino, o cloreto de potássio e de sódio interferem negativamente no desenvolvimento das raízes e a casca do coco não possui os nutrientes essenciais para as plantas. Portanto para utiliza-la é necessário adicionar adubos em pré-plantio ou, principalmente fertirrigação, de acordo com a necessidade da espécie a ser plantada (CARRIJO et al., 2002).

Silveira et al. (2002) utilizaram o pó de coco (resíduo derivado do mesocarpo fibroso do coco); Plantmax (constituído da mistura de matéria orgânica de origem vegetal e vermiculita expandida); húmus de minhoca (resíduo de esterco bovino, obtido por processo de digestão das minhocas) e as misturas Plantmax + pó de coco; húmus de minhoca + pó de coco; Plantmax + pó de coco + húmus de minhoca e Plantmax + húmus de minhoca, em iguais proporções (v/v) como substrato para produção do tomateiro. Detectaram uma boa germinação em todos os tratamentos onde o pó de coco estava presente. No entanto, apesar de uma excelente emergência do tomateiro no pó de coco puro (90,63%), este não se revelou bom substrato, pois nele as plântulas aos 45 dias não apresentaram bom desenvolvimento em relação à altura das outras planta, indicando que para ser eficiente como substrato esse material deverá ser empregado em mistura com outros materiais mais ricos em nutrientes.

Segundo Noguera et al. (1998) a grande percentagem de lignina (35-45%) e de celulose (23-43%) e a pequena quantidade de hemicelulose (3-12%), que é a fração prontamente atacada por microorganismos, conferem ao substrato de fibra de coco uma grande durabilidade, sendo desta maneira, recomendável para cultivos de ciclo longo como as ornamentais.

#### **4.1.2. Número de brotações da palma forrageira em casa de vegetação**

O início da emissão de brotações nas plantas de palma forrageira ocorreu a partir dos 90 dias de permanência em casa de vegetação (Tabela 3). Vale

salientar que nos tratamentos onde houve a emissão de brotações, estas sempre ocorreram na parte apical das mudas como mostra a Figura 6.

TABELA 3 – Número médio de brotações por planta da palma forrageira (*Opuntia fícus-indica* (L.) Mill) aos seis meses da aclimatização em diferentes substratos.

Tratamento	Número de brotações após seis meses em casa de vegetação						
	0	30	60	90	120	150	180
Solo não adubado	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,50	0,50
Solo adubado	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,25
Solo + Pó de coco (1:1)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Solo + Pó de coco (2:1)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Solo + Esterco bovino (1:1)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,75	2,25	2,25
Solo + Esterco bovino (2:1)	0,00	0,00	0,00	0,25	1,00	2,25	2,50
Solo + Bioadubo (1:1)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Solo + Bioadubo (2:1)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

Os substratos solo adubado e solo não adubado apresentaram aos 180 dias 0,25 e 0,50 brotações por planta, respectivamente. Nos substratos a base de pó de coco e bioadubo não foi verificado a emissão de brotos durante os 180 dias de permanência em casa de vegetação.

No entanto, os substratos a base de esterco bovino, apresentaram o maior número médio de brotações com 2,25 e 2,50 por planta, respectivamente, após seis meses em casa de vegetação. Carneiro e Viana (1992) avaliando métodos de aplicação de esterco bovino em *Opuntia fícus-indica* (L.) Mill., (esterco bovino aplicado na cova, aplicando no sulco, aplicando na linha em cobertura e sem aplicação), verificaram o maior número de brotações quando o esterco foi aplicado

na cova, provavelmente devido o maior contato das raízes com o esterco permitindo um melhor desenvolvimento destas.

Segundo Wraight e Wraight (1998) a porosidade, a capacidade de retenção de água e a aeração melhoram a arquitetura do sistema radicular, o crescimento da plântula e sua adaptação às condições *ex vitro*.



**FIGURA 6** Brotações da palma forrageira (*Opuntia ficus-indica* (L.) Mill) aos 180 dias da aclimatização em casa de vegetação.

#### **4.1.3. Mortalidade da palma forrageira em casa de vegetação**

O maior percentual de mortalidade da palma forrageira ocorreu nos primeiros 30 dias de aclimatização em casa de vegetação (Tabela 4)

Observa-se que a mortalidade da palma forrageira durante aclimatização em casa de vegetação ocorreu até aos 60 dias. Nesse período de transição do laboratório para casa de vegetação, ocorre mortalidade devido às mudas saírem de um ambiente com temperatura, fotoperíodo e umidade controlada para um ambiente com características adversas. Durante a aclimatização somente os tratamentos solo adubado, solo não adubado, substrato a base de esterco bovino e a base de bioadubo apresentaram mortalidade até aos 60 dias.

TABELA 4 – Percentual médio de mortalidade das plantas de palma forrageira (*Opuntia fícus-indica* (L.) Mill) aos 180 dias da aclimatização em casa de vegetação em diferentes substratos.

Tratamento	% mortalidade						
	Idade (dias)						
	30	60	90	120	150	180	Total
Solo não adubado	28,57	14,28	0,00	0,00	0,00	0,00	42,85
Solo adubado	14,28	14,28	0,00	0,00	0,00	0,00	28,56
Solo + Pó de coco (1:1)	14,28	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	14,28
Solo + Pó de coco (2:1)	28,57	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	28,57
Solo + Esterco bovino (1:1)	14,28	14,28	0,00	0,00	0,00	0,00	28,56
Solo + Esterco bovino (2:1)	14,28	14,28	0,00	0,00	0,00	0,00	28,56
Solo + Bioadubo (1:1)	28,57	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	28,57
Solo + Bioadubo (2:1)	28,57	14,28	0,00	0,00	0,00	0,00	42,85

Os tratamentos com substratos a base de pó de coco apresentaram mortalidade apenas nos primeiros 30 dias de aclimatização e o tratamento pó de

coco + solo (1:1) proporcionou o maior percentual de sobrevivência com 85,72% durante seis meses de permanência em casa de vegetação. Os substratos solo adubado a base de esterco bovino nas proporções de 1:1 e 2:1, solo + bioadubo (1:1) e solo + pó de coco (2:1) apresentaram 71,44%, de sobrevivência das plântulas. Já o substrato solo não adubado e solo + bioadubo (2:1) apresentaram o menor percentual de sobrevivência com 57,15%, provavelmente devido às propriedades químicas e físicas do substrato, pois o bioadubo concentra maior umidade e solo não adubado não contém todos os nutrientes necessários ao desenvolvimento das plantas.

Silveira et al. (2002) utilizaram o pó de coco puro (resíduo derivado do mesocarpo fibroso do coco) como substrato para produção do tomateiro e esse proporcionou 90,63% de sobrevivência, resultado superior ao encontrado nesta pesquisa ao se utilizar pó de coco + solo na concentração de 1:1 em volume, com 85,72% de sobrevivência da palma forrageira. Observou-se que esse substrato tem facilidade de retenção de água e pobre em nutrientes prejudicando o desenvolvimento das mudas.

#### **4.2 Número de cladódios por planta após o transplântio para o campo**

Verificou-se diferença significativa a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey quando foram comparados os tratamentos (Tabela 5).

As plantas de palma forrageira maior que 30 cm de altura no ato do transplântio da casa de vegetação para o campo, apresentaram aos seis meses de estabelecimento média de 5,75 cladódios por planta, respectivamente. Viana e Carneiro (1987) avaliando a energia de brotação da palma, *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill., em diferentes posições das mudas no plantio utilizando espaçamento de 1,00 x 1,00 m, verificaram uma brotação média de 9,8 artículos, após dois meses de plantio, dados bastante superiores aos encontrados nesta pesquisa. Vale salientar que no experimento desses autores, as mudas (raquetes) utilizadas no plantio foram multiplicadas pelo método convencional e neste experimento embora as raquetes estivesse com 30 cm de altura estas se apresentaram com largura de

aproximadamente 5 cm, mostrando-se com bem menor reservas que aquelas provenientes da planta mãe.

TABELA 5 - Número médio de cladódio por planta de palma forrageira *Opuntia fícus-indica* (L.) Mill., micropropaga e aclimatizada, após seis meses no campo.

Tratamentos	N <sup>o</sup> médio de cladódios
10 a 20 cm de altura	3,70B
21 a 30 cm de altura	4,19B
> 30 cm de altura	5,75A

Médias seguidas de mesma letra na coluna, não diferem ( $P>0,05$ ) pelo teste Tukey

## 5. - CONCLUSÃO

Os resultados obtidos no presente estudo permitem concluir que:

- a) Deve-se utilizar o substrato a base de esterco bovino na aclimatização da palma forrageira.
- b) Plantas de palma forrageira maior que 30 cm de altura após aclimatização estão aptas para o transplante definitivo.
- c) Os substratos a base de pó de coco e bioadubo interferem negativamente no desenvolvimento da palma forrageira.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABAD, M.; NOGUERA, P. Substrato para el cultivo sin suelo y fertirrigación. In: CADAHIA, C. (Coord.) **Fertirrigación: Cultivos hortícolas y ornamentales**. Madrid: Mundi-Prensa, 1998. p. 287-342.

ALMEIDA, D. L. de; SALEK, R. C.; RIBEIRO, M. I. S. D.; SANTOS, G. de. A. **Efeitos de adubos orgânicos em cultura de tomateiro no município de Vassouras-RJ**. Rio de Janeiro: Pesagro-Rio, 1982. 4 p. (Pesagro-Rio. Comunicado Técnico, 114).

ARAÚJO, P. E. S.; FARIAS, I.; FERNANDES, A. P. M. Efeito de esterco bovino e caprino na produção de palma "Gigante" – *Opuntia fícus-indica* Mill. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA. v. 11, 1974, Fortaleza. **Anais...** Fortaleza: SBZ, 1974.p. 265-266.

ÁVILA, A. de A. Productividad Del nopal inerme (*Opuntia fícus indica* var.) bajo condiciones naturales en el Bolson de Mapini; estabelecimentos de experimentos. In: **REUNIÓN NACIONAL SOBRE ECOLOGIA, MANEJO Y DOMESTICACIÓN DE LAS PLANTAS UTILES DEL DESERTO**, 1, Monterey, 1980. Memórias... México, INIF/SARH, 1981. P. 191-5 (INIF. Publicación especial, 31).

BEZERRA, F. C.; ROSA, M. F. **Utilização do pó da casca de coco-verde como substrato para produção de mudas de alface**. Fortaleza. EMBRAPA-AGROINDÚSTRIA TROPICAL, 2002. 4p. (Comunicado Técnico, 71).

BENNER, J. Vitamina B1 a growth factor for higher plants. **Science**. v. 85 p. 183-184, 1937.

CALDAS L. S.; HARIDASAN, P.; FERREIRA, M. E. Meios nutritivos. **Técnicas e aplicação da cultura de tecidos de plantas**. Editores Antonio Carlos Torres e Linda Styer Caldas. Brasília, ABCTP/EMBRAPA-CNPH, 1990, 433p, p 41-69.

CAMPELLO, E. B. e SOUZA, A. C. de. **Emprego das cactáceas forrageiras no polígono das secas**. Rio de Janeiro, Min. da Agricultura. Serviços de Informação Agrícola, 1960. 30p.

CARMELLO, Q. A. C. **Nutrição e adubação de mudas hortícolas**. In: MINAMI, K. Produção de mudas de alta qualidade em horticultura. São Paulo: T.A. Queiroz, 1995. p. 33-37.

CARNEIRO, M. S. de.; VIANA, O. J. Métodos de aplicação de esterco bovino como adubo orgânico em palma gigante – *Opuntia fícus-indica* (L.) Mill. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**. v. 21, n. 05, p. 906-911, 1992.

CARRIJO, O. A.; LIZ, R. S. de.; MAKISHIMA, N. Fibra da casca do coco verde como substrato agrícola. **Horticultura Brasileira**, v. 20, n.4, p.5, 2002.

CARVALHO FILHO, O. M. de. **Silagem de leucena e da gliricídia como fontes protéicas em dietas para vacas em lactação tendo como volumoso a palma forrageira semi-desidratada**. Petrolina: EMBRAPA-CPATSA, 1999. 6p. (Comunicado Técnico, 82).

DUQUE, J. G. **O Nordeste e as Lavouras Xerófilas**. 3ª ed. Mossoró, ESAM/FUNDAÇÃO GUIMARÃES. Coleção Mossoroense, v 143, 1980. 316p.

ESCOBAR, H. A.; VILLALOBOS, V. M. A. e VILLEGAS, A. M. *Opuntia* micropropagation by axillary proliferation. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**. v. 7, p. 269-277, 1986.

FABRÈGUES, B. P. de. **Les cactées fourragères dans le Nord-Est Brésilien (Etude écologique)**. Paris, Ministère des Affaires Étrangères, 1996.

FARIAS, I.; FERNANDES, A. De. P. M.; LIMA, M. de. A.; SANTOS, D. C. **Cultivo da palma forrageira em Pernambuco**. Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária, Recife-PE. Instruções Técnicas do IPA. Documento n. 21, p. 1-5, 1984.

FERNANDES, C.; CORÁ, J. E. Caracterização físico-hídrico de substratos utilizados na produção de mudas de espécies olerícolas e florestais. **Horticultura Brasileira**, v. 18, p. 469-471. suplemento. Edição de Trabalhos Apresentados e Palestras do XL Congresso Brasileiro de Olericultura, São Pedro, SP, 2000.

FRANCO, A. A.; BALIEIRO, F. C. The role of biological nitrogen fixation in land reclamation, agroecology and sustainability of tropical agriculture. In: Rocha-Miranda, C. E (Ed.). **Transition to global sustainability: the contribution of brazilian science**. Rio de Janeiro: Academia Brasileira de Ciências, 2000.

FROTA, H. M. **Micropropagação *in vitro* de clones de palma forrageira - *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill.** Fortaleza, UFC, 2003. 35p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal do Ceará, 2003.

GONÇALVES, A. L. Substratos para produção de mudas ornamentais. In: MINAMI, K.; TESSARIOLI NETO, J.; PENTEADO, S. R.; SCARPARE FILHO, J. A. (Ed.) **Produção de mudas hortícolas de alta qualidade**. Piracicaba: ESALQ/SEBRAE, 1995. 156P.

GRATTAPAGLIA, D. e MACHADO, M. A. micropropagação. **Técnicas e aplicação da cultura de tecidos de plantas**. Editores Antonio Carlos Torres e Linda Styer Caldas. Brasília, ABCTP/EMBRAPA-CNPH, 1990, 433p, p. 98-169.

GUIMARÃES, P. T. G. Nutrição e adubação da mangueira. **Informe Agropecuário**. Belo Horizonte, 8 (86): 28-35, 1982.

GUIMARÃES FILHO, C.; SOARES, J. G. G. Sistema Caatinga – Buffel – Leucena para recria e engorda de bovinos no semi-árido. In: SIMPÓSIO NORDESTINO DE ALIMENTAÇÃO DE RUMINANTES, 4, RECIFE-PE. **Anais**: UFRPE, p. 173-191, 1992.

IBGE: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – **Censo Agropecuário**, 1996.

KÄMPF, A. N.; FERMINO, M. H. Substratos para plantas: a base da produção vegetal em recipientes. In: ENCONTRO NACIONAL SOBRE SUBSTRATOS PARA PLANTAS, 2000, Porto Alegre. **Anais...** Porto Alegre: Gênese, 2000. 312p.

LINSMAIER, E. M. e SKOOG, F. Organic growth factor requirements of tobacco tissue cultures. **Physiol. Plant.**, 18:100-127, 1965.

LIRA, M. A.; FARIAS, I.; SANTOS, M.V.F.; TAVARES FILHO, J. J. Introdução, geração e avaliação de clones de palma forrageira (*Opuntia ficus-indica* Mill). In: SIMPÓSIO NORDESTINO DE ALIMENTAÇÃO DE RUMINANTES, 2. Natal. **Anais**: EMPARN, p. 241, 1989.

LOPES, R. O. de M. “**Comportamento de mudas de cajueiro anão precoce cultivadas em diferentes substratos adubados com coprólito de minhoca**”. Dissertação-UFC, 1997.

LLAMOCA-ZÁRATE, R. M.; AGULAR, L. F.; LANDSMANN, J.; CAMPOS, F. A. P. wlole Plant Regeneration from the Shoot Apical Meristem of *Opuntia ficus-indica* Mill. (Cactaceae). **Journal of Applid Botany-Angewandte Botanik**. v. 73 p.83-85, 1999.

MABANZA, J.; RODRIGUEZ-ANDRIYAMASI, A. V.; MAHOUKA, J.; BOUMBA, B. Evaluation of cleaned cassava varieties in congo. In: **INTERNATIONAL SCIENTIFIC MEETING ON CASSAVA BIOTECHNOLOGY NETWORK**. 2. 1994, Bogor. Proceedings. Bogor: Cassava Biotechnology Network, 1994. 194-201 p.

MAIA NETO, A. L. **Utilização da palma forrageira para produção de leite no semi-árido nordestino**. Bahia Agrícola, v.5, n.3, 2003.

MINAMI, K. **Produção de mudas de alta qualidade em horticultura**. São Paulo: T.A. Queiroz, 1995. 128p.

MORON, I. R. et al. Cinética da digestão ruminal in situ da palma forrageira cv. Miúda (*Nopalea cochenillifera* Salm Dyck) em bovinos e caprinos. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE DE ZOOTECNIA. 1998. Botucatu. **Anais...** Botucatu: SBZ. p. 485-7.

MURASHIGE, T. Plant propagation through tissue culture. **Ann. Rev. Plant. Physiol.**, v.25, p.135-166, 1974.

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

NOGUERA, P.; ABAD, M.; NOGUEIRA, V.; PURCHADES, R.; MAQUEIRA, A. Coconut coir waste, anew and viable ecologically-friendly peat substitute. **Acta Hortic.**, Wageningen. v. 517, p. 279-286. 1998.

PESSOA, A. S. **Cultura da Palma Forrageira**. 1ª ed. Recife-SUDENE. Divisão de Documentação. Brasil – SUDENE, Agricultura 5, 1967. 98p.

RICCI, M. Dos, S. ; CASALI, V. W. D.; CARDOSO, A. A.; RUIZ, H. A. Produção de alface adubada com composto orgânico. **Hortic. Bras.**, Brasília. v. 12, n. 1, p. 56-58, 1994.

ROBBINS, W. M. e BARTLEY, M. A. Vitamin B1 and the growth of excised tomato roots. **Science**, 85:246-247, 1937.

ROCA, W. M.; MROGINSKI, L. A. **Cultivo de tejidos em la agricultura: fundamentos y aplicaciones**. Cali: CIAT, 1991, 969 p.

RODRIGUEZ-FÉLIX, A. e CANTWELL, M. Developmental changes in the composition and quality of prickly pear cactus cladodes (nopalitos). **Plants Food for Human Nutrition**. 1988. v.38 p.83-93.

RODRIGUES FILHO, F.S.O.; GODOY, I. J. de.; FEITOSA, C. T. Acúmulo de matéria seca e nutrientes em planta de amendoim cultivar Tatuí – 76. **Rev. Bras. Ciên. Solo**, v.10 p.61-66, 1986.

ROMBERGER, J. A.; e TABOR, C. A. The *Picea abies* shoot apical meristem in culture. **Amer. J. Bot.**, 58:131-140, 1971.

ROSA, M. F.; BEZERRA, F. C.; ARAÚJO, F. B. S.; NORÕES, E. R. V. Utilização do pó da casca de coco verde na germinação de alface hidropônico. **Horticultura Brasileira**, v.19, n.2, p.294, 2001. Suplemento CD. Rom. Edição de Anais do 41<sup>a</sup> Congresso Brasileiro de Olericultura, Brasília-DF, 2001.

ROSA, M. de. F.; BESERRA, F. C.; CORREIA, D.; SANTOS, F. J. de. S. ABREU, F. A. P. de.; FURTADO, A. A. L.; BRÍGIDO, A. K. L.; NORÕES, E. R. de. V. **Utilização da casca de coco como substrato agrícola**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2002, 24p. (Embrapa Agroindústria Tropical. Documentos, 52).

SANTOS, D. C. dos.; FARIAS, I.; LIRA, M. de. et al. **Produção e composição química da palma forrageira cultivar gigante (*Opuntia fícus-indica* Mill.) sob adubação e calagem, no Agreste Semi-árido de Pernambuco.** Pesquisa Agropecuária Pernambucana, 1996. 9. (Nº especial). p. 669-678.

SANTOS, D. C. dos.; FARIAS, I.; LIRA, M. de A.; TAVARES FILHO, J.J.; SANTOS, M. V. F. dos.; ARRUDA, G. P. de. **A palma forrageira (*Opuntia fícus-indica* Mill. E *Nopallea cochennillifera* Salm Dyck) em Pernambuco: cultivo e utilização.** Recife: IPA, 1997. 23p. (IPA. Documento, 25).

SILVEIRA, E. B.; RODRIGUES, V. J. L. B.; GOMES, A. M. A.; MARIANO, R. L. R.; MESQUITA, J. C. P. **Pó de coco substrato para produção de mudas de tomateiro.** *Horticultura Brasileira*. v.20, n.2, Brasília, 2002.

SEDZUKI HILLS, F. Anatomia e Morfologia p.28-35. **Agoecologia cultivo e usos da palma forrageira.** Roma: FAO, 1995 versão em língua Inglesa. Tradução SEBRAE/PB, 2001, versão em língua Portuguesa, p. 216.

TAPIA, C. C. Cultivo **da Palma Forrageira e Figo-da-Índia.** EMPARN – Empresa de Pesquisa Agropecuária do Rio Grande do Norte S/A, vinculada a Secretária de Agricultura. Boletim Técnico n. 14, 1983. 41p.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Plant Physiology.** Massachusetts: Sinauer, 1998.

TRINDADE, A. V.; FARIA, N. G.; ALMEIDA, F. P. de. Uso de esterco no desenvolvimento de mudas de mamoeiros colonizados com fungos micorrízicos. **Pesquisa agropecuária Brasileira**, Brasília. v.37, n.7. p.1389-1394, 2000.

SAS-STATISTICAL **ANALYSES SYSTEM.** System for Microsoft Windows, Release 8.2, Cary: 2001. CD ROM.

VILLALOBOS, A.V.M. Aplicação do cultivo de tecidos para a micropropagação de *Opuntia* sp. **Agroecologia, cultivo e usos da palma forrageira**. Roma: FAO Produção e Proteção vegetal, 1995. Tradução (Sebrae/PB), 2001. Paper 132, p. 216, p. 72-78.

WHITE, P. R. Further evidence on the significance of glycine, pyridoxine and nicotinic acid in the nutrition of excised tomato roots. **Amer. J. Bot.**, 30:33-36, 1943.

WRAIGHT, J.M.; WRAIGHT, K.C. Soil water and root growth. **Hortscience**, Alexandria, v. 33, n. 6, p. 951-959, 1998.

YEOMAN, M. M. Early development in callus culture. **Intl. Revi. Cytol.**, v.29, p.383-409, 1970.

## **ANEXO**

TABELA 1A. Preparação de soluções estoques para o meio de Murashige e Skoog (1962).

<b>Componentes</b>	<b>Concentração (g/L)*</b>
<b>Macronutrientes</b>	
Nitrato de amônia ( $\text{NH}_4\text{NO}_3$ )	165
Nitrato de potássio ( $\text{KNO}_3$ )	190
Cloreto de cálcio ( $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ )	44
Sulfato de magnésio ( $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ )	37
Fosfato de potássio ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ )	17
<b>Micronutrientes</b>	
Sulfato de manganês ( $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ )	1,690
Ácido bórico ( $\text{H}_3\text{BO}_3$ )	0,620
Sulfato de zinco ( $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ )	0,860
Iodeto de potássio (KI)	0,083
Molibdato de sódio ( $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ )	0,025
Sulfato de cobre ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ )	0,0025
Cloreto de Cobalto ( $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ )	0,0025
<b>Mistura Orgânica (Vitaminas)</b>	
Tiamina. HCl	0,01
Ácido nicotínico	0,05
Piridoxina.HCl	0,05
Glicina	0,20

FONTE: Modificado por TORRES (1990)

\* As soluções foram preparadas na concentração de 10 vezes a concentração final.

TABELA 2A. Análises química e física do solo utilizado na aclimatização de plantas de palma forrageira em casa de vegetação.

<b>Características</b>	<b>Valores*</b>
pH (H <sub>2</sub> O)	6,60
P (mg kg <sup>-1</sup> )	26,00
K <sup>+</sup> (cmol <sub>c</sub> kg <sup>-1</sup> )	0,22
Ca <sup>++</sup> (cmol <sub>c</sub> kg <sup>-1</sup> )	0,85
Mg <sup>+</sup> (cmol <sub>c</sub> kg <sup>-1</sup> )	0,80
Na <sup>+</sup> (cmol <sub>c</sub> kg <sup>-1</sup> )	0,05
Al <sup>+++</sup> (cmol <sub>c</sub> kg <sup>-1</sup> )	0,00
MO (g kg <sup>-1</sup> )	8,69
Areia grossa (g kg <sup>-1</sup> )	630,00
Areia fina (g kg <sup>-1</sup> )	300,00
Silte (g kg <sup>-1</sup> )	50,00
Argila (g kg <sup>-1</sup> )	20,00

\* Análises realizadas no Laboratório de Análise Química e Física do Solo – DCS/UFC.

TABELA 3A. Temperatura media em casa de vegetação, no período de novembro de 2002 a maio de 2003.

<b>TEMPERATURAS (°C)</b>				
<b>MESES</b>	<b>MANHA</b>		<b>TARDE</b>	
	<b>MÍNIMA</b>	<b>MÁXIMA</b>	<b>MÍNIMA</b>	<b>MÁXIMA</b>
NOVEMBRO/2002	28	30	29	31
DEZEMBRO/2002	28	30	29	33
JANEIRO/2003	27	32	29	34
FEVEREIRO/2003	26	31	28	33
MARÇO/2003	25	29	27	33
ABRIL/2003	26	32	28	33
MAIO/2003	26	31	27	35

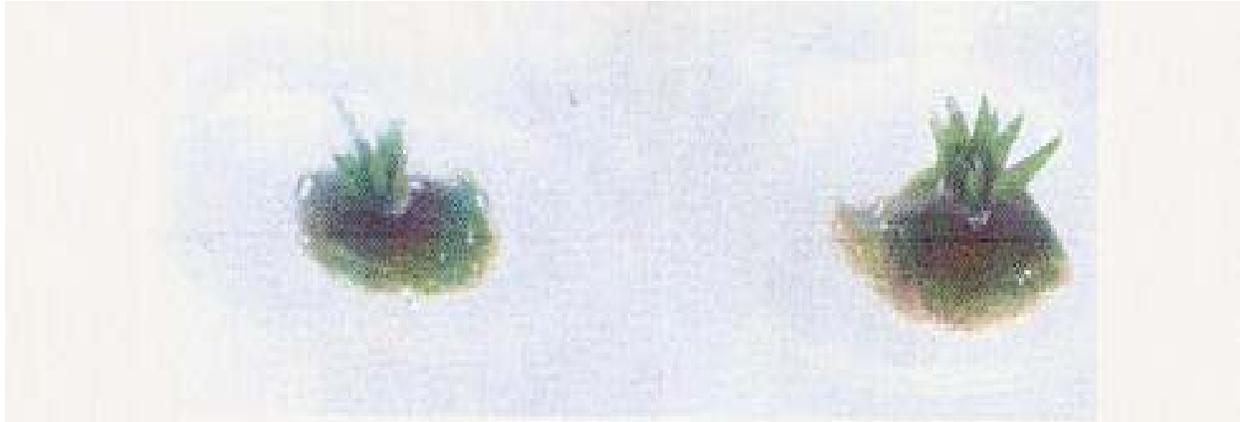


FIGURA 1A Desenvolvimento de brotos a partir de aréolas da palma forrageira (*Opuntia ficus-indica* (L.) Mill), aos 15 dias de cultivo *in vitro* em meio MS completo com 2,00 mg/L de BAP e 0,25 mg/L de AIA.

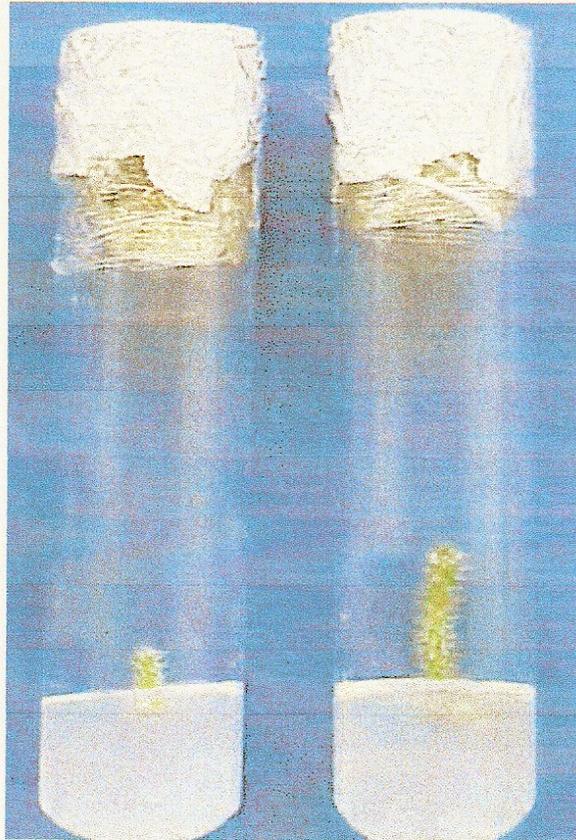


FIGURA 2A Crescimento *in vitro* de brotos da palma forrageira (*Opuntia ficus-indica* (L.) Mill) oriundos da indução, após 30 dias em meio MS com 0,50 mg/L de BAP e 0,25 mg/L de AIA.



FIGURA 3A Multiplicação de brotos de palma forrageira (*Opuntia ficus-indica* (L.) Mill) aos 20 dias de cultivo *in vitro* em meio MS completo com 1,00 mg/L de BAP.



FIGURA 4A Enraizamento de explantes da palma forrageira (*Opuntia ficus-indica* (L.) Mill), aos 30 dias de cultivo *in vitro* em meio MS completo com 5,00 mg/L de AIB.