



## FORMULÁRIO PARA SUBMISSÃO DE PROJETO DE EXTENSÃO 2017

### 3. ROTEIRO DO PROJETO

#### 3.1. Título

Micropropagação e enxertia in vitro de nogueira-pecã (*Carya illinoensis* (Wangenh) K. Koch) na produção de mudas com reduzido período de juvenilidade para abastecimento do Grupo de Produtores de Nogueira-Pecã do Alto Vale do Itajaí.

#### 3.2. Resumo do Trabalho

A Nogueira-pecã (*Carya illinoensis* (Wangenh) K. Koch) é uma espécie originária dos Estados Unidos e México, introduzida no Brasil em 1915. A produção no país concentra-se principalmente nos Estados do Rio Grande do Sul e São Paulo, contabilizando cerca de 5,2 mil toneladas da fruta na safra de 2013. Em Santa Catarina, na região do Alto Vale do Itajaí, cerca de 12 municípios concentram uma área de 60 ha de nogueira-pecã. A principal dificuldade encontrada é o seu processo de propagação. Hoje, a produção de mudas é realizada de forma sexuada (por semente), que é utilizada para produção de porta-enxertos; e a assexuada, que consiste na enxertia. Essa última oferece vantagens visto que permite a seleção genética de acordo com as necessidades do produtor e antecipa a produção porque reduz o período de juvenilidade da cultura. Em vista disso, o objetivo deste trabalho foi estabelecer um protocolo de micropropagação e enxertia in vitro eficientes para a cultura da nogueira-pecã com intuito de produzir mudas em média escala com elevada qualidade fitossanitária e reduzido tempo de juvenilidade a fim de abastecer as necessidades dos produtores vinculados ao Grupo de Produtores de Nogueira Pecã do Alto Vale o Itajaí. As análises e demais processos serão conduzidos em laboratório e casa de vegetação. As cultivares selecionadas para a enxertia in vitro serão obtidas de reuniões com o Grupo de Produtores, com base na demanda e adaptabilidade das mesmas para a região. A enxertia será conduzida conforme Fronza et al. (2015). As cultivares elencadas para as produções de novas mudas e relacionadas a porção enxerto serão coletadas de exemplares com alta produtividade e visualmente sadias para serem introduzidas in vitro e seguirem para a produção clonal de ramos para a enxertia in vitro. Os ramos selecionados para enxertia serão desinfestados conforme a recomendação, para a produção dos portas-enxertos. A micropropagação será conduzida conforme Renukdas et al., 2010. Sementes maduras com casca das cultivares selecionadas para fazer parte do porta-enxerto serão lavadas com água esterilizada para 10 min e, em seguida, esterilizadas por imersão em solução composta por antifúngicos e antibióticos durante a noite. Os embriões serão cultivados meio de cultivo in vitro para plantas lenhosas WPM. Feito isso, será feita a enxertia propriamente dita. Após todos os processos, será avaliado o percentual de pegamento do enxerto e a quantidade final de mudas produzidas, aclimatando as mesmas em substratos na casa de vegetação.

#### 3.3. Introdução

A Nogueira-pecã (*Carya illinoensis* (Wangenh) K. Koch) é uma espécie originária dos Estados Unidos e México, sendo introduzida no Brasil por volta do ano de 1915. Hoje seu plantio se estende desde a região Sul até o estado de Minas Gerais (DUARTE; ORTIZ, 2001). A introdução da nogueira-pecã no Brasil ocorreu, por volta de 1870 quando os primeiros imigrantes norte-americanos trouxeram nozes pecã e as plantaram nos municípios de Santa Barbara D'Oeste e Americana, interior de São Paulo. Porém seus objetivos não eram comerciais, mas sim para manter o ingrediente típico de suas receitas (FRONZA et al., 2015).

A produção mundial de noz-pecã vem sofrendo um grande aumento em área plantada nos últimos 10 anos. Os Estados Unidos produz cerca de 80% de toda demanda mundial, seguido de México, Chile, Argentina, Austrália, Israel e Brasil. A de se destacar o chamado "Cinturão da



nogueira-pecã” que compreende aos estados da região Sul e Sudeste dos Estados Unidos (FRONZA et al., 2015).

No Brasil a produção da noqueira-pecã situa-se na região entre Rio Grande do Sul e São Paulo, contabilizando uma produção de 5,2 mil toneladas da fruta na safra de 2013 (IBGE, 2014).

Em Santa Catarina, na região do Alto Vale do Itajaí, cerca de 12 municípios concentram uma área da 60 ha. de pomares de noqueira pecã cultivadas. Atualmente o Grupo de Produtores de Nogueira pecã estuda a possibilidade de dobrar a área cultivada.

Essa cultura apresenta grande importância econômica para a região Sul do Brasil, devido ao alto valor pago em seus frutos (POLETTO et al., 2015). Este fruto teve grande aceitação do mercado, devido diversos nutrientes com capacidade antioxidante que reduzem a incidência de doenças crônicas como Alzheimer, Mal de Parkinson e alguns tipos de câncer (VILLARREAL-LOZOYA et al., 2007).

Por um longo período a produção de noqueiras-pecã sofreu desestímulos, devido às poucas pesquisas realizadas sobre o assunto e as dificuldades de cultivo frente condições climáticas das regiões brasileiras, predispondo as plantas a doenças e pragas (ORTIZ e CAMARGO, 2005).

A principal dificuldade encontrada para essa cultura ocorre no seu processo de propagação e germinação de sementes (SILVA, 2013). Outro impasse está na polinização entre variedades. Segundo Fronza et al. (2015), a maioria das variedades de noqueira-pecã apresentam um certo grau de dicogamia ou até mesmo dicogamia completa, o que evita a autopolinização e privilegiando a polinização cruzada. Uma questão importante no cultivo da noqueira-pecã é justamente saber qual o grau de polinização entre as variedades plantadas.

Embora o Brasil seja um grande produtor e consumidor de nozes, ainda há poucas pesquisas sobre o seu cultivo, principalmente quanto à produção de mudas. Atualmente a produção de mudas é realizada em duas fases, a sexuada (por semente), que é utilizada para produção de porta-enxertos; e a assexuada, que consiste na enxertia. O processo de enxertia tem a vantagem de antecipar a produção, que se inicia a partir do terceiro ou quarto ano, após o plantio. O grande entrave é o tempo requerido para produção da muda e assim também resultando no alto custo da muda (FRONZA et al., 2015).

A micropropagação ou propagação clonal entraria como subsídio para a obtenção de maior número de porta-enxertos e enxertos. Este método permite a obtenção de um grande número de plantas saudáveis e geneticamente uniformes, em um curto período de tempo (CARVALHO & VIDAL, 2003). A micropropagação é caracterizada como o uso da cultura de tecidos para propagação de plantas, sendo esta largamente utilizada e bem sucedida em todas as classes de plantas (GEORGE et al., 2008).

As vantagens da micropropagação ainda incluem a uniformidade no desenvolvimento das mudas, o que permite uniformização do plantio e sincronização da colheita, obtenção de plantas com características genéticas idênticas à matriz e saudáveis quanto a doenças bacterianas e vírus, o que resulta em acréscimos na produção na ordem de 30%; devido a estas plantas serem obtidas a partir de matrizes selecionadas e estar isentas de doenças sistêmicas, ou ainda a técnica utilizada in vitro ser capaz de realizar a limpeza clonal dos explantes coletados.

Dentro da micropropagação temos a técnica da microenxertia in vitro. Tal processo consiste em excisar de uma planta matriz uma gema apical ou meristema propriamente dito, que é enxertado sobre uma plântula porta-enxerto que foi obtida em condições assépticas. Sua principal aplicação é na eliminação de viroses e de outros microrganismos de natureza sistêmica que tendem a se acumular em plantas propagadas vegetativamente (GUERRA e NODARI, 2006). Porém esta técnica também pode ser aplicada na produção massal de mudas enxertadas, ou ainda na necessidade de solucionar barreiras anatômicas da enxertia convencional.

A propagação in vitro oferece um grande potencial para a multiplicação em larga escala de clones selecionados e permite a produção de uma elevada quantidade de brotos de qualidade dentro de um curto período de tempo (RENUKDas et al., 2010). Devido à sua natureza juvenil, os embriões tem grande potencial de regeneração e por consequência podem ser utilizados para a propagação in vitro (KAUR et al., 2006). Essa propagação de origem de embriões pode resultar na produção massiva de porta-enxertos e meristemas de plantas



adultas podem resultar na produção de enxertos selecionados e livres de doenças.

Ao ocorrer via micropropagação as produções de porta-enxerto e enxerto, reduz-se a incompatibilidade de desenvolvimento e a enxertia realizada *in vitro* favorece a proliferação dos tecidos e a cicatrização devido a presença de um ambiente com umidade, nutrientes e fitohormônios controlados.

Neste contexto o presente projeto propõe utilizar a técnica de micropropagação *in vitro* e enxertia *in vitro* para a produção massal de mudas de noqueira-pecã com elevada qualidade fitossanitária e genótipos já identificados como bons produtores no Alto Vale do Itajaí auxiliando na expansão da área cultivada e manutenção dos pomares.

### 3.4. Objetivos

#### 3.4.1 Geral

#### 3.4.2. Específicos

##### Objetivo Geral

Estabelecer um protocolo de micropropagação e enxertia *in vitro* eficientes para a cultura da noqueira-pecã com intuito de produzir mudas em média escala com elevada qualidade fitossanitária e reduzido tempo de juvenilidade a fim de abastecer as necessidades dos produtores vinculados ao Grupo de Produtores de Nogueira Pecã do Alto Vale o Itajaí.

##### Objetivos específicos:

- Identificar com os produtores quais as cultivares melhores adaptadas a região;
- Identificar as melhores combinações de porta-enxerto e enxerto para o plantio dos pomares na região;
- Identificar com os produtores a demanda anual de mudas para estabelecimento dos novos pomares e manutenção dos pomares existentes;
- Identificar com os produtores as dificuldades na produção de mudas via assexuada;
- Apresentar a metodologia de micropropagação e enxertia *in vitro* aos produtores do Grupo de produtores de Nogueira pecã do Alto Vale do Itajaí.
- Iniciar as atividades em laboratório:
- Desinfestar e introduzir *in vitro* cultivares de *Carya illinoensis*;
- Induzir eventos de organogênese de cultivares de *Carya illinoensis in vitro* para a produção de porta-enxertos e enxertos;
- Realizar técnicas de enxertia *in vitro*;
- Comparar o rendimento na produção de mudas enxertadas *in vitro* e *ex vitro*;
- Fornecer as mudas produzidas ao Grupo de produtores de Nogueira pecã do Alto Vale o Itajaí.

### 3.5. Fundamentação Teórica/Justificativa

A noqueira-pecã (*Carya illinoensis* (Wangenh.) C. Koch) pertence à família das Juglandaceae, é originária dos Estados Unidos, e das nozes conhecidas é a mais antiga (ORO, 2007). O nome “Pecã” tem origem indígena e quer dizer “noz de pedra” ou “noz muito difícil de rachar a mão” (FRONZA et al, 2015). Planta nativa da América do Norte, desde Nebraska até Iowa nos Estados Unidos, e Oaxaca no sul do México (VENKATACHALAN, 2004).

É considerada uma planta longeva, podendo superar os 200 anos. A árvore pode atingir grande porte, superando os 60 metros de altura, 40 metros de diâmetro de copa e 2 metros de circunferência de tronco (FRONZA et al., 2015). A planta é monóica, decídua, o tronco é retilíneo e a casca cinzenta e lisa nos indivíduos jovens, tornando-se sulcada, áspera e marrom avermelhada com passar dos anos. A polinização é feita pelo vento. O fruto é uma drupa, agrupando-se em cachos de três a sete unidades, e consiste de uma noz que se torna marrom e se abre quando madura (MOKOCHINSKI, 2015).

Nos últimos anos essa frutífera vem sendo considerada como uma fonte alternativa de diversificação de renda ou investimento para produtores rurais, isso ocorre pela facilidade de manejo e rusticidade da cultura,



além da grande demanda pelo mercado interno e externo (MOKOCHINSKI, 2015). Esse mercado promissor foi estimulado pelas veiculações da imprensa sobre seus benefícios a saúde, aliado ao alto preço pago pela fruta, possibilitando ótima fonte de renda para os produtores rurais (POLETTTO et al., 2015).

Essa cultura desenvolve-se bem em climas que vão desde o árido até o úmido, porém, em condições de umidade elevada à ocorrência de doenças fúngicas pode ser maior. Em áreas com mais de 100 horas de frio há maior adaptação dessa cultura (FRONZA et al., 2015).

Existem no mundo mais de 1000 variedades de noqueiras-pecã conhecidas, mas apenas 33 delas são exploradas comercialmente (VENKATACHALAN, 2004). No Brasil são utilizadas principalmente as variedades: Barton, Mahan, Moneymaker, Importada, Desirable, Melhorada, Sucess e Imperial. Sendo que essas cultivares apresentam características como alta produtividade, qualidade e tamanho dos frutos, rendimento de amêndoas, porte das plantas, resistência a doenças e características fenológicas (FRONZA et al., 2015). Além destas, temos ainda as cultivares Frotscher, Schley, Shawnee, Cape Fear, Chickasaw, Choktaw, Burkett, Chpecear e Shoshone (POLETTTO, 2012).

O êxito de um pomar depende de muitos fatores, entre eles a qualidade da muda a ser produzida. A meta dos viveiristas é produzir mudas saudáveis de crescimento rápido, visando o aumento de produtividade. Por tratar-se de um investimento em longo prazo, o rigor torna-se ainda maior, justificando a necessidade de produção de mudas de excelente qualidade (LOPES, 2005).

Embora o Brasil seja um grande produtor e consumidor de nozes, ainda há poucas pesquisas sobre o seu cultivo, principalmente quanto à produção de mudas. Atualmente a produção de mudas é realizada em duas fases, a sexuada (por semente), que é utilizada para produção de porta-enxertos; e a assexuada, que consiste na enxertia (POLETTTO et al., 2015). A propagação por via sexuada é um método viável, prático e com bom índice de germinação de sementes. No entanto, é pouco utilizado devido às baixas garantias de uma produção satisfatória devido aos resultados não conhecidos do cruzamento. Além disso, sua produção de nozes pode demorar muito para se iniciar, cerca de 8 a 12 anos (FRONZA et al., 2015).

Já a propagação assexuada é a prática mais utilizada para produção de mudas, porque permite a seleção genética de acordo com as necessidades do produtor e tem a vantagem de antecipar a produção devido a muda passar pelo período de juvenilidade em menor tempo do que na forma sexuada e a produção de nozes geralmente se inicia ao terceiro ou quarto ano após o plantio definitivo a campo. O grande entrave é o tempo requerido para produção da muda e assim também resultando no alto custo da muda (RENUKDAS et al., 2010; FRONZA et al., 2015).

Esse período de juvenilidade pode ser conceituado como período que compreende desde a germinação até o início da produção, o que pode durar 12 anos ou mais para algumas espécies. Durante a juvenilidade não há produção de frutos, o que acarreta um prolongamento do período improdutivo do pomar (EMBRAPA, 2010).

A propagação in vitro oferece um grande potencial para a multiplicação em larga escala de clones selecionados e permite a produção de uma elevada quantidade de brotos de qualidade dentro de um curto período de tempo (RENUKDAS et al., 2010). Devido à sua natureza juvenil, os embriões tem grande potencial de regeneração e por consequência podem ser utilizados para a propagação in vitro (KAUR et al., 2006).

A micropropagação pode resultar na produção massiva de porta enxertos e enxertos de plantas adultas selecionadas, o que resulta na produção de explantes com sincronia e porte padronizados. Devido ocorrer via micropropagação as produções de porta-enxerto e enxerto, reduz-se a incompatibilidade de desenvolvimento e a enxertia realizada in vitro favorece a proliferação dos tecidos e a cicatrização devido a presença de um ambiente com umidade nutrientes e fitohormônios controlados.

### 3.6. Metodologia

#### 6.1 Apresentação



O projeto de extensão na busca e produção de mudas micropropagadas e enxertadas in vitro de (*Carya illinoensis* (Wangenh.) C. Koch) tem caráter extencionista e experimental, onde os experimentos, processos e análises serão conduzidos em laboratório e casa de vegetação. A produção de mudas para abastecimento do Grupo de Produtores de Nogueira Pecã (atividade extensionista) será comparado entre os métodos tradicional e biotecnológico de produção de mudas (experimental), apresentadas na sequencia.

O projeto quanto a parte extencionista estará intimamente ligado ao do Grupo de Produtores de Nogueira Pecã do Alto Vale do Itajaí, na identificação dos atuais problemas (necessidade de limpeza clonal, resgate de cultivares elite, busca ou solicitação de cultivares não presentes na região, e etc) seleção de cultivares altamente produtoras da região, solicitação de novas combinações de enxertos e fornecimento das mudas produzidas.

O projeto quanto a parte experimental, seguirão desenho experimental em delineamento inteiramente casualizado (DIC) com avaliações aos 35 e 50 dias após a enxertia em relação as percentagens de pegamento e assim sucesso na obtenção de mudas.

Os métodos serão comparados quanto a quantidade de mudas produzidas a partir da mesma quantidade de material vegetal induzido e período de obtenção das mudas. Serão induzidos via método tradicional e método biotecnológico in vitro 100 sementes para a obtenção de porta-enxertos e 100 ramos de cultivares selecionadas para a porção de enxerto.

## **6.2 Identificação das demandas de mudas e seleção de cultivares.**

Inicialmente será realizado visitas e reuniões com o Grupo de produtores de Nogueira pecã do Alto Vale o Itajaí para a identificação das demandas em relação as produções de mudas. Será discutido a qualidade fitossanitária das árvores dos pomares, cultivares elites, quantidade de mudas necessárias para a implantação dos novos pomares e manutenção dos pomares existentes, necessidades de novas combinações de cultivares.

Nestas reuniões serão abordadas as técnicas de cultivo in vitro e enxertia in vitro, explicando suas potencialidades na produção de material clonal e resgate da fitossanidade. Com isso além das cultivares notadamente utilizadas, novas perspectivas podem ser idealizadas com o grupo.

## **6.3 Enxertia tradicional**

A enxertia tradicional será conduzida conforme Fronza et al., 2015. Neste método 100 sementes de (*Carya illinoensis* (Wangenh.) C. Koch) serão germinadas em casa de vegetação para a produção de porta-enxertos até atingir diâmetro compatível para a enxertia. Os 100 ramos do enxerto a serão coletados das cultivares selecionadas consideradas elite na produção de noqueira pecã e enxertados.

## **6.4 Coleta de material vegetativo de cultivares selecionadas e desinfestação.**

As cultivares elencadas para as produções de novas mudas e relacionadas a porção enxerto serão coletadas de exemplares com alta produtividade e visualmente sadias para serem introduzidas in vitro e seguirem para a produção clonal de ramos para a enxertia in vitro.

A introdução in vitro ocorrerá com desinfestação de 100 ramos jovens contendo gemas laterais latentes. Anterior a desinfestação para introdução in vitro, será realizado a campo uma pré desinfestação dos ramos selecionados, marcados com etiquetas, através de pulverizações semanais durante um mês com solução à base de fungicidas e antibióticos.

Após a pré desinfestação os ramos serão coletados e imersos em água destilada, contendo 1 g L<sup>-1</sup> do fungicida Benlate 500<sup>®</sup> (Benomyl) e 0,1 g L<sup>-1</sup> de Sulfato de Estreptomycina. No laboratório, os explantes serão lavados com o auxílio de água corrente, esponja e detergente comercial, e, após, seccionados os segmentos nodares contendo uma a duas gemas laterais.



A desinfestação propriamente dita dos seguimentos nodais ocorrerá em câmara de fluxo laminar, os explantes serão expostos, por 30 segundos em solução de etanol a 70% (v/v), seguindo-se um enxágue com água esterilizada. Posteriormente, os explantes serão imersos em solução de hipoclorito de sódio (NaOCl) a 1,5% (v/v) contendo três gotas de detergente Tween20 permanecendo sob agitação por 20 minutos. A seguir será realizado um triplo enxágue dos explantes e estes enxutos em papel filtro autoclavado.

### **6.5 Introdução in vitro de cultivares desinfestadas selecionadas e micropropagação para obtenção do enxerto.**

A micropropagação será conduzida conforme Renukdas et al., 2010. Em câmara de fluxo laminar os seguimentos de ramos de nogueira pecã (explantes) serão inoculados em tubos de ensaio contendo 15 mL meio de cultivo para plantas lenhosas WPM (Lloyd e McCown, 1980) líquido, suplementado com 13.32 mM BAP e 3% de sacarose. Os explantes serão sustentados no tubo de ensaio através de uma ponte realizada com papel filtro esterilizado juntamente com o meio de cultivo. O pH o meio será ajustado para 5,7 antes da autoclavagem (121 °C durante 20 min). As culturas serão mantidas a sob irradiância de  $24 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , fotoperíodo de 16 horas e temperatura de  $26 \pm 2$  °C para a indução da micropropagação.

### **6.6 Desinfestação e cultivo para germinação in vitro de cultivares selecionadas para a produção de porta-enxertos.**

Sementes maduras com casca das cultivares selecionadas para fazer parte do porta-enxerto serão lavadas com água esterilizada para 10 min e, em seguida, esterilizadas por imersão em solução composta por antifúngicos e antibióticos durante a noite. Em seguida as sementes serão lavadas com água estéril e imersas em etanol 70% durante 30 min., em seguida as sementes serão tratadas com 2,5% (v/v) de hipoclorito de sódio durante 30 min. E após estas serão enxaguadas cinco vezes com água estéril.

Em câmara de fluxo laminar a casca das sementes será assepticamente removida utilizando uma minomorsa e os embriões serão assepticamente isolados das sementes. Os embriões serão cultivados meio de cultivo in vitro para plantas lenhosas WPM (Lloyd e McCown, 1980) contendo 17.76 mM BAP e 0.49 mM AIB, 3% de sacarose. O pH o meio será ajustado para 5,7 antes da autoclavagem (121 °C durante 20 min). As culturas serão mantidas a sob irradiância de  $24 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , fotoperíodo de 16 horas e temperatura de  $26 \pm 2$  °C durante três semanas para o estabelecimento da cultura conforme Obeidy e Smith, 1990.

### **6.7 Enxertia in vitro de cultivares de nogueira pecã**

Os porta-enxertos de origem de germinação in vitro de embriões e multiplicação in vitro serão isolados e preparados sob condições assépticas e com auxílio de lupa binocular (Olympus SZ60), os ramos de aproximadamente 2 cm de altura serão colocadas sobre papel-filtro umedecido com água deionizada estéril e decapitadas, em seguida será realizada a abertura da fenda no porta-enxerto, visando a receber o enxerto.

Os enxertos serão representados pelos ápices caulinares dos clones de cultivares selecionadas e introduzidos in vitro para a micropropagação a partir de proliferação de gemas axilares. Estes ápices caulinares serão coletados com aproximadamente 1 cm de comprimento e contendo dois a três pares de folhas totalmente expandidas. Estes ápices caulinares serão retirados dos frascos de micropropagação e colocadas sobre papel-filtro umedecido com água deionizada e autoclavada e, em seguida será realizado um corte em duplo bisel na porção basal do ápice caulinar.

Depois do preparo do porta-enxerto e do enxerto em condições assépticas, sob lupa binocular e com o auxílio de pinças, será realizada a união de ambas as partes. Em seguida, as plantas enxertadas



serão inoculadas em meio de cultura WPM básico sem a adição de fitorreguladores até a cicatrização do enxerto.

### **6.8 Avaliação da viabilidade técnica**

Os métodos de obtenção de mudas enxertadas serão avaliados aos 35 e 50 dias após a realização da enxertia quanto o percentual de pegamento do enxerto e quantidade final de mudas produzidas, uma vez que a microporogação tem a possibilidade de multiplicar estruturas vegetais utilizando pequena quantidade de material vegetal induzido.

O critério de avaliação adotado quanto ao percentual de pegamento será caracterizados da seguinte maneira: nível 1, ausência de conexão ou conexão frágil, apresentando ausência de calejamento ou calejamento intenso na região da união; nível 2, conexão regular, caracterizada pelo desalinhamento lateral de uma das partes do enxerto e taxa de calejamento intensa e média; e nível 3, conexão excelente, na qual se observa total união entre os tecidos do enxerto e porta-enxerto, apresentando baixa intensidade de calejamento na região do enxerto.

### **6.9 Aclimação ex vitro e destinação das mudas.**

Plantas enxertadas com sucesso in vitro serão transplantadas para substrato em copos plásticos, coberto com polipropileno em casa de vegetação durante 1 semana. Após este período as plantas podem ser transferidas para vasos em casa de vegetação a pleno sol.

As mudas enxertadas produzidas serão entregues ao Grupo de produtores de Nogueira pecã do Alto Vale o Itajaí onde serão destinadas para as novas áreas de cultivo e para a manutenção dos pomares já estabelecidos. Produção esta que poderá ser continuada de acordo com a demanda.

### **3.7. Descrever a infraestrutura existente para a execução do projeto**

O Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Catarinense (IFC), Campus Rio do Sul, conta com estrutura apropriada para a execução do respectivo experimento. O campus apresenta laboratórios, casas de vegetação com isolamento de afídeos e viveiro para propagação de espécies florestais e frutícolas.

O IFC conta ainda com áreas experimentais, produtivas e demonstrativas, as quais também contribuem para a futura análise das mudas produzidas via enxertia in vitro.

Os materiais consumíveis como vidrarias e reagentes podem ser compartilhados com os destinados ao ensino em biotecnologia vegetal, assim apresentando infraestrutura específica pré-existente.

Os laboratórios, casa de vegetação e viveiro contam com o auxílio de funcionários de nível técnico contratados de caráter permanente o que possibilitam o auxílio na manutenção, condução e fiscalização das atividades.

### **3.8. Resultados esperados**

Este projeto tem como proposta auxiliar os produtores de noqueira-pecã do Alto Vale do Itajaí mediante a utilização de técnicas biotecnológicas que possibilitem a associação de variedades, através da microporogação e enxertia in vitro para a produção de mudas utilizando cultivares já bem adaptadas a região e de reconhecida alta produtividade.

O grande objetivo é melhorar obtenção de mudas para os produtores, suprir a atual demanda produtiva e fornecer estas mudas com qualidade fitossanitária e homogeneidade.

A aquisição de mudas com reduzido tempo de juvenilidade apresenta dificuldade uma vez que as atuais mudas fornecidas são de origem do Estado do Rio Grande do Sul e são adquiridas através de elevado custo e sem flexibilidade para a escolha de cultivares.



Uma das dificuldades encontradas pelos produtores da região é adquirir mudas de qualidade, especialmente quanto ao conhecimento da variedade que esta sendo plantada e o grau de polinização entre elas. A outra dificuldade está nas tentativas em se produzir as mudas na região, dificuldade esta que está justamente no processo de enxertia das mudas.

Em Santa Catarina, na região do Alto Vale do Itajaí, cerca de 12 municípios produtores concentram uma área da 60 ha. de pomares de nogueira pecã cultivadas. Atualmente o Grupo de Produtores de Nogueira pecã estuda a possibilidade de dobrar a área cultivada resultando na necessidade da produção de 6.000 mudas para essas novas áreas.

Com a intensão de responder a essa demanda com mudas de qualidade fitossanitária e adaptadas à região, de acordo com as necessidades e intenções apontadas pelos produtores que este projeto foi idealizado. Ademais, por ser um mercado promissor na região e devido às condições edafoclimáticas favoráveis à produção da nogueira-pecã, cresce o interesse em aumentar a área plantada dessa cultura. Nesse ponto, o projeto torna-se de suma importância para a região.

### 3.9. Limitações e Dificuldades

Inicialmente verificamos uma necessidade de estruturação do laboratório quanto a trabalhos de cultivo in vitro no que se refere a equipamentos e material de consumo. Estamos juntamente com as coordenações de pesquisa, ensino e direção geral do *campus* buscando alternativas para adequar estas necessidades. Para a condução desta pesquisa faremos o possível utilizando parcerias com outros laboratórios do IFC e avançando nas atividades de acordo com as possibilidades. Vale ressaltar que equipamentos e reagentes a virem ser adquiridos serão amplamente otimizados na utilização das pesquisas multidisciplinares envolvendo o cultivo in vitro e técnicas biotecnológicas.

A maior dificuldade e limitante para as atividades de biotecnologia é a falta de algumas estruturas e equipamentos essenciais para a atividade de biotecnologia com foco em cultura de tecidos vegetais. No momento o bloco de laboratórios, em especial o laboratório onde serão empregadas as atividades de pesquisa e ensino de biotecnologia não possui uma câmara de fluxo laminar horizontal, equipamento que permite que as atividades de cultivo in vitro sejam realizadas.

Uma visão de estrutura mínima para essas atividades englobam a câmara de fluxo laminar, pHgmetro, autoclave e sala de crescimento com bancada com iluminação controlada por temporizador fotoperíodo.

Com o propósito de sanar esses limitantes, no item orçamento está apresentada uma lista de equipamentos e material de consumo necessário, listados em ordem de importância. A aquisição destes permitirá o início das atividades de biotecnologia.

### 3.10 Cronograma de execução:

Item	Descrição da atividade	(2017)					(2018)						
		A	S	O	N	D	J	F	M	A	M	J	J
01	Reuniões com grupo de produtores, e leituras de bibliografias para confecção de relatório técnico.	X	X										
02	Confecção de relatório técnico sobre cultivares adaptadas a região do Alto vale do Itajaí, através de bibliográficas.	X	X										
03	Encontro com produtores para apresentação do relatório técnico.	X											
04	Técnica de desinfestação de brotos e ramos e introdução in vitro.		X	X									



05	Aplicação de técnicas na obtenção de ramos via organogênese in vitro de cultivares selecionadas para a copa na enxertia de nogueira pecã.			X	X	X	X	X	X	X	X		
06	Aplicação de técnicas na obtenção de porta enxertos de cultivares de nogueira pecã.			X	X	X	X	X	X	X			
07	Manutenção dos experimentos.		X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
08	Técnicas de enxertia in vitro.						X	X	X	X	X		
09	Aclimação das mudas.							X	X	X	X	X	
10	Cultivo em casa de vegetação e rustificação das mudas.								X	X	X	X	
11	Avaliação e caracterização, comparação com mudas produzidas em ambiente in vitro e via método atualmente utilizado.									X	X	X	X
12	Apresentação da técnica e em segundo momento dos resultados ao Grupo de Produtores de Nogueira pecã.		X							X	X	X	X
13	Distribuição ou destinação das mudas produzidas.									X	X	X	X
14	Confecção de relatório final.											X	X

### 3.11. Descrição das atividades do bolsista/voluntário:

Item	Descrição da atividade	Início (mês/ano)	Término (mês/ano)
01	Reuniões com grupo de produtores, e leituras de bibliografias para confecção de relatório técnico.	Ago/2017	Set/2017
02	Confecção de relatório técnico sobre cultivares adaptadas a região do Alto vale do Itajaí, através de bibliográficas.	Ago/2017	Set/2017
03	Encontro com produtores para apresentação do relatório técnico.	Ago/2017	--
04	Técnica de desinfestação de brotos e ramos e introdução in vitro.	Set/2017	Out/2017
05	Aplicação de técnicas na obtenção de ramos via organogênese in vitro de cultivares selecionadas para a copa na enxertia de nogueira pecã.	Out/2017	Mai/2018
06	Aplicação de técnicas na obtenção de porta enxertos de cultivares de nogueira pecã.	Out/2017	Abr/2018
07	Manutenção dos experimentos.	Set/2017	Jul/2018
08	Técnicas de enxertia in vitro.	Jan/2018	Mai/2018
09	Aclimação das mudas.	Fev/2018	Jun/2018
10	Cultivo em casa de vegetação e rustificação das mudas.	Mar/2018	Jun/2018
11	Avaliação e caracterização, comparação com	Abr/2018	Jul/2018



	mudas produzidas em ambiente in vitro e via método atualmente utilizado.		
12	Apresentação da técnica e em segundo momento dos resultados ao Grupo de Produtores de Nogueira pecã.	Set/2017	Jul/2018
13	Distribuição ou destinação das mudas produzidas.	Abr/2018	Jul/2018
14	Confecção de relatório final.	Jun/2018	Jul/2018

**OBS:** Novas linhas poderão ser acrescentadas, caso haja necessidade.

### 3.12. Orçamento

Item	Quantidade / Unidade.	Un.	Descrição dos itens de custeio e capital (Investimento)	Valor Unitário (R\$)		
				Pesquisa de Mercado/Valor Total		
				Elétrica e Hidráulica Bom Pastor	Ricardo Eletro	Netppar
1	01	01	Temporizador analogico	39,00	53,00	44,74
					Sigma-Aldrich	Prolab
2	100 g	1	Glutamina		767,00	48,00
					Sigma-Aldrich	
3	5 mg	1	Zeatina		719,00	
				SP Labor	Americanas	Magazine Médica
4	1	1	Lâminas de bisturi no. 24	41,33	36,00	24,39
				SPLabor		Shop Medclean
5	3	3	Espátula com colher (3 mm)	40,80	69,00	48,00
				Labsynth	Sigma-Aldrich	
6	500 g		Nitrato de amonio	--		
				Labsynth		
7	500 g	1	Nitrato de potassio	571,00		
				Labsynth	Sigma-Aldrich	
8	500 g	1	Nitrato de	28,25	354,00	



Ministério da Educação  
Secretaria de Educação Profissional e Tecnológica  
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Catarinense - Campus Rio do Sul

			Calcio			
				Labsynth	Sigma-Aldrich	Prolab
9	500 g	1	Cloreto de cálcio	23,10	126,300	34,70
				Labsynth	Sigma-Aldrich	Prolab
10	250 g	1	Sulfato de potassio	18,06	455,00 1kg	27,00
				Labsynth	Sigma-Aldrich	Prolab
11	500 g	1	Sulfato de magnésio	11,23	20,00	17,00
				Labsynth	Sigma-Aldrich	Prolab
12	250 g	1	Sulfato de amonio	13,47	20,00	28,00
				Labsynth	Sigma-Aldrich	Prolab
13	250 g	1	Sulfato de manganes	15,68	R\$ 56,00; 500g	24,00
				Labsynth	Sigma-Aldrich	Prolab
14	250 g	1	Fosfato de sódio	34,23	412,00	35,00
				Labsynth	Sigma-Aldrich	Prolab
15	250 g	1	Fosfato de potássio	28,84	R\$ 352,00; 500 g	43,00
				Labsynth	Sigma-Aldrich	
16	100 g	1	Molibidato de sódio	50,13	290,00	
				Labsynth	Sigma-Aldrich	Prolab
17	250 g	1	Sulfato de zinco	15,61	R\$ 378,00 500 g	24,00
				Labsynth	Sigma-Aldrich	Prolab
18	250 g	1	Nitrato de zinco	22,61	R\$ 67,00; 500 g	34,00
				Labsynth	Sigma-Aldrich	Prolab
19	100 g	1	Iodeto de Potassio	66,73	109,00	100,00
				Labsynth	Sigma-Aldrich	Prolab
20	250 g	1	Acido bórico	9,22	R\$ 142,00; 500 g	13,85
				Labsynth	Sigma-Aldrich	Prolab
21	100 g	1	Sulfato de cobre	11,90	R\$ 200,00; 250 g	17,00
				Labsynth	Sigma-Aldrich	Prolab
22	100 g	1	Cloreto de cobalto	119,19	405,00	178,00
				Labsynth	Sigma-Aldrich	Prolab
23	100 g	1	Sulfato de	24,08	R\$87,00; 500g	36,00



			níquel			
				Labsynth	Sigma-Aldrich	Prolab
24	250 g	1	Sulfato ferroso	13,70	R\$ 293,00; 500 g	142,00
				Labsynth	Sigma-Aldrich	
25	250 g	1	EDTA	24,99	R\$ 289,00; 100 g	
					Sigma-Aldrich	
26	25 g	1	Tiamina-HCL		312,00	
					Sigma-Aldrich	Prolab
27	100 g	1	Ácido nicotínico		134,00	53,40
					Sigma-Aldrich	
28	10 g	1	Piridoxina		164,00	
				Labsynth	Sigma-Aldrich	Prolab
29	100 g	1	Glicina ou ácido aminoacético	10,56	315,00	13,30
somatorio				Total	total	total
				719,81	6.624,30	985,38

### 3.13. Identifique as parcerias e/ou convênios que compõem o projeto, se houver

As parcerias firmadas até o momento se apresentam pelos professores Dr. Claudio Keske e Clenilso Sehnen Mota, ambos do IFC atuantes na área de fruticultura. Soma-se a equipe ainda o Grupo de Produtores de Nogueira-Pecã do Alto Vale do Itajaí, que abrange 12 municípios da região e tem como coordenador Auri José de Oliveira.

Glauco Henrique Lindner Eng. Agrônomo da Epagri Rio do Sul, responsável pelas atividades de extensão e suporte ao Grupo de Produtores de Nogueira-Pecã do Alto Vale do Itajaí.

MSc. Jonas Hammer pertencente ao Núcleo de Fruticultura Irrigada do Colégio Politécnico da UFSM onde realiza pesquisas e ministra cursos com noqueira-pecã (*Carya illinoensis*).

Dr. Diniz Fronza. Professor do Colégio Politécnico da Universidade Federal de Santa Maria, pesquisador com foco em noqueira-pecã (*Carya illinoensis*) há mais de dez anos.

### 3.14. Referências

CARVALHO, J. M. F. C.; VIDAL, M. F. **Noções de cultivo de tecidos vegetais**. 2003. p. 39, Campina Grande-PB, EMBRAPA ALGODÃO.

DUARTE, V.; ORTIZ, E. R. N. Podridão de *Phytophthora* da amêndoa e casca da Nogueira pecan. In: Luz, E. D. M. N., Santos, A. F., Matsuoka, K., Bezerra, J. L. **Doenças causadas por *Phytophthora* no Brasil**. Livraria Rural, Campinas. 2001. p. 493-508.

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA). **Produção de mudas: principais técnicas utilizadas na propagação de fruteiras**. Embrapa Cerrados, 2010.

FALERO, F. G.; ANDRADE, S. R. M. **Biotecnologia: estado da arte e aplicações na agropecuária**. 2011. p.



730, Planaltina-DF, EMBRAPA CERRADOS.

FRONZA, D.; POLETTO, T.; HAMANN, J. J. **O cultivo da noqueira-pecã**. 2015 1. ed. p. 301. Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria, Colégio Politécnico, Núcleo de fruticultura Irrigada.

GEORGE, E. F. Plant tissue culture procedure: background. In: GEORGE, E.V.; HALL, M. A.; DE KLERK, G -J. **Plant propagation by tissue culture**. Springer, Dordrech, The Netherlands. 2008. p. 1-28. v. 1.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATISTICA – IBGE. **Produção Agrícola Municipal 2013**. Rio de Janeiro: 2014. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/estadosat/temas.php?sigla=rs&tema=lavourapermanente2013>>. Acesso em: 17 de Junho 2016.

KAUL, R.; SHARMA, N.; KUMAR, K.; SHARMA, D. R.; SHARMA, S. D. (2006): In vitro germination of walnut (*Junglans regia* L.) embryos. **Scientia Horticulturae** 109: 385-388.

LOPES, E. D. **Qualidade de mudas de *Eucalyptusurophylla Ecamaldulensis*, *E. citriodora* produzidas em blocos prensados e em dois modelos de tubetes e seu desempenho no campo**. Dissertação (Mestrado) Universidade Federal do Sudoeste da Bahia. Vitória da Conquista – BA, 2005. 82 p.

MOKOCHINSKI, F. M. **Estimativa de produção, caracterização física e perfil químico de amêndoas de noqueira-pecã**. 2015, p. 66, Dissertação (Mestrado). Universidade Estadual do Centro-Oeste.

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

ORO, T. **Composição nutricional, compostos bioativos e vida de prateleira de noz e óleo prensado a frio de Noz-pecã [*Carya illinoensis* (Wangenh.) c. koch]**. 2007, p.105, Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos). Universidade Federal de Santa Catarina.

ORTIZ, E. R. N.; CAMARGO, L. E. A. Doenças da Nogueira Pecan. In: KIMATI, H. et al. (Eds.). **Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. 4. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 2005.

PAYGHAMZADEH, K.; KAZEMITABAR, S. K. **In vitro germination of Pecan (*Carya illinoensis*) embryo**. v. 4, n.1, p. 37-43, 2010.

POLETTO, T.; MUNIZ, B. F. M.; POLETTO, I.; BAGGIOTO, C. Métodos de superação de dormência da semente de noqueira-pecã *Carya illinoensis* (Wangenh.) K. Koch. **Revista Árvore**, vol. 39, n. 6, 2015. Universidade Federal de Viçosa.

RASEIRA, A. **A cultura da Nogueira pecã (*Carya illinoensis*)**. EMBRAPA, Comunicado técnico n.63, Pelotas – RS, 1990.

RENUKDas, N. N.; MANOHARAN, M.; JR, J. O. G. In vitro propagation of pecan (*Carya illinoensis* (Wangenh) K. Koch). **Plant Biotechnology** 27, 211-215 (2010).

SILVA, F. J. T. da; LEAL, L. V.; POLETTO, I.; FERNANDES, F. S. **Superação de Dormência em Sementes de Nogueira-pecã (*Carya illinoensis* [Wangenh] K. Koch)**. 2013. Anais do Salão Internacional de Ensino, Pesquisa e Extensão – Unipampa.

VENKATACHALAM, M. **Chemical composition of select pecan [*Carya illinoensis* (Wangenh.) K. Koch] varieties and antigenic stability of pecan proteins**. 2004, p. 106, Dissertação (College of Human Sciences), Florida State University.



VILLARREAL-LOZOYA, J. E.; LOMBARDINI, L.; ZEVALLOS, L.C. **Phytochemical constituents and antioxidant capacity of different pecan [*Carya illinoensis* (Wangenh.) K. Koch] cultivars.** Food Chemistry, v.102, p.1241 – 1249, 2007.

#### 4. TERMO DE RESPONSABILIDADE

Declaro que estou ciente das responsabilidades e compromissos durante a vigência do projeto, conforme a Resolução 070 – CONSUPER/2013. Os trabalhos a serem realizados (local do trabalho e carga horária) não comprometem as atividades de docência e assumo o compromisso de orientar os alunos (se houver) no desenvolvimento das atividades de extensão/pesquisa aplicada, assim como na preparação de artigos técnico-científicos.

\_\_\_\_\_  
Assinatura

Para Uso Exclusivo da Comissão Julgadora:

#### 5. Parecer da Comissão Julgadora

O projeto foi:  
 Deferido e cadastrado.  
 Indeferido.  
 Deferido com ressalvas.

Observações: