

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ**  
**COORDENAÇÃO DO CURSO SUPERIOR DE TECNOLOGIA EM ALIMENTOS**  
**CURSO SUPERIOR DE TECNOLOGIA EM ALIMENTOS**

**VIVIANE FARAGO WALENGA**

**EFEITO DOS COMPOSTOS DERIVADOS DO ESTEVIOL, NA  
MICROPROPAGAÇÃO DE VIDEIRA**

**TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO**

**PONTA GROSSA - PR**  
**2012**

**VIVIANE FARAGO WALENGA**

**EFEITO DOS COMPOSTOS DERIVADOS DO ESTEVIOL, NA  
MICROPROPAGAÇÃO DE VIDEIRA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como requisito parcial à obtenção do título de Tecnólogo em Alimentos, do Curso Superior de Tecnologia em Alimentos da Universidade Tecnológica Federal do Paraná.

Orientador: Prof. Dr. Júlio Cesar Stiirmer

**PONTA GROSSA – PR  
2012**



Ministério da Educação  
**Universidade Tecnológica Federal do Paraná**  
Campus Ponta Grossa

Diretoria de Graduação e Educação Profissional

Diretoria de Pesquisa e Pós-Graduação



---

## **TERMO DE APROVAÇÃO**

### **EFEITO DOS COMPOSTOS DERIVADOS DO ESTEVIOL, NA MICROPROPAGAÇÃO DE VIDEIRA**

**VIVIANE FARAGO WALENGA**

Este Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) ou esta Monografia ou esta Dissertação foi apresentado(a) em cinco de junho de 2012 como requisito parcial para a obtenção do título de Tecnólogo em Alimentos. A candidata foi arguido pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho aprovado.

---

JULIO CESAR STIIRMER  
Prof. Orientador

LUCIANO FERNANDES  
Membro titular

---

MARIA REGINA PARISE  
Membro titular

---

DENISE MILLEO  
Responsável pelos Trabalhos  
de Conclusão de Curso

---

SABRINA AVILA  
coordenador do Curso  
UTFPR - Campus Ponta Grossa

---

## RESUMO

WALENGA, Viviane Farago. **Efeito dos compostos derivados do Esteviol, na micropropagação de videira.** 2012.29f. Trabalho de Conclusão de Curso de Tecnologia em Alimentos - Universidade Tecnológica Federal do Paraná - Paraná. Ponta grossa, 2012.

Os derivados do esteviosídeo apresentam estrutura química semelhante à das giberelinas, sendo esperado que estes possam produzir efeitos similares. Estudos mostram que diterpenos glicosilados, derivados do esteviosídeo induzem atividades fisiológicas favoráveis como: promoção do crescimento e aceleração de florescimento, quebra da dormência de sementes, estimulação da germinação e aumento na produção de frutos. O presente trabalho teve como objetivo verificar o efeito dos derivados do esteviosídeo na micropropagação de estacas de videiras cv. Bordô (*Vitis labrusca*), *in vitro*. O tratamentos consistiram em meio MS acrescido de cinco concentrações de sete derivados de esteviosídeos (Esteviol, Isoesteviol, Oxima do Isoesteviol Ipóxido do Esteviol, 17 hidróxi-Isoesteviol, Oxima do 17OH e 16,17OH do Isoesteviol), cinco concentrações de GA<sub>3</sub> e a testemunha. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com 4 repetições cada, sendo que cada unidade experimental foi constituída de 4 frascos contendo 4 explantes cada. Os parâmetros avaliados foram: número de microestacas, comprimento médio das brotações (cm), número de folhas, número de raízes, comprimento da raiz principal (cm) e matéria fresca (g).

**Palavras-chave:** *Vitis labrusca*, cultura de tecidos, esteviosídeos.

## ABSTRACT

WALENGA, Viviane Farago. **Effect of compounds derived from Steviol in micropropagation of grapevine**. 2012. 29f. Trabalho de Conclusão de Curso de Tecnologia em Alimentos - Federal Technology University - Paraná. Ponta grossa, 2012.

Stevioside derivatives have chemical structure similar to that of gibberellins is expected that they can produce similar effects. Studies show that diterpene glycosides, stevioside derivatives induce favorable physiological activities such as promotion of growth and acceleration of flowering, seed dormancy breaking, germination stimulation and increase in fruit production. This study aimed to determine the effect of stevioside derivatives in micropropagation of grapevine cuttings of cv. Bordeaux (*Vitis labrusca*) in vitro. The treatments consisted of MS medium supplemented with five concentrations of seven derivatives steviosides (Steviol, isosteviol, the oxime isosteviol Ipóxido the Steviol, 17 isosteviol hydroxy-, oxime, and the 17OH OH isosteviol 16.17), five concentrations of GA3 and control. The experimental design was completely randomized with four replications, each experimental unit consisted of four vials containing four plants each. The parameters evaluated were: number of microcuttings, average length of shoots (cm), leaf number, number of roots, main root length (cm) and fresh weight (g).

**Key-words:** *Vitis labrusca*, tissue culture, steviosides

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 - Efeito da aplicação dos derivados de esteviosídeos nas concentrações de 0,  $10^{-7}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-1}$  e 10 sob o número de estacas em videira cv. Bordô, 60 dias após a implantação do experimento. Ponta Grossa – PR.....20
- Tabela 2 - Efeito da aplicação dos derivados de esteviosídeos nas concentrações de 0,  $10^{-7}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-1}$  e 10 sob a massa fresca, em videira cv. Bordô, 60 dias após a implantação do experimento. Ponta Grossa – PR.....21
- Tabela 3 - Efeito da aplicação dos derivados de esteviosídeos nas concentrações de 0,  $10^{-7}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-1}$  e 10 sob o comprimento da raiz principal, em videira cv. Bordô, 60 dias após a implantação do experimento. Ponta Grossa – PR.....22
- Tabela 4 - Médias do comprimento médio dos brotos (CB), número de folhas (NF) e número de raízes (NR), após tratamento com derivados de esteviosídeos nas concentrações de 0,  $10^{-7}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-1}$  e 10, em videira cv. Bordô, 60 dias após a implantação do experimento. Ponta Grossa – PR.....22

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b>	7
1.1	OBJETIVOS	8
<b>2</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA</b>	9
2.1	ORIGEM E CLASSIFICAÇÃO DA VIDEIRA	9
2.2	CLASSIFICAÇÃO BOTÂNICA	9
2.3	VITIVINICULTURA ATUAL	10
2.4	MICROPROPAGAÇÃO	11
2.5	GIBERELINAS	12
2.6	ESTEVIOSÍDEOS	13
<b>3</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS</b>	16
3.1	ORIGEM DOS EXPLANTES	16
3.2	MEIO DE CULTURA	16
3.3	ACONDICIONAMENTO DOS FRASCOS	16
3.4	DELINEAMENTO EXPERIMENTAL	17
3.5	DERIVADOS DO ESTEVIOSÍDEO	17
3.6	AVALIAÇÃO	17
<b>4</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	18
<b>5</b>	<b>CONCLUSÃO</b>	23
<b>6</b>	<b>REFERÊNCIAS</b>	24

## 1 INTRODUÇÃO

A viticultura no Brasil está concentrada principalmente nos Estados das Regiões Sul e Sudeste, onde se destacam os dois maiores produtores nacionais: Rio Grande do Sul e São Paulo. (Antunes & Aquino, 2008; Agrianual, 2006). Caracteriza-se por ser uma atividade típica da agricultura familiar e, conseqüentemente, contribui para a fixação do homem no meio rural (Borghesan et al., 2003).

A vitivinicultura é uma atividade importante para a sustentabilidade da pequena propriedade no Brasil. Nos últimos anos, tem se tornado importante, também, na geração de emprego em grandes empreendimentos, que produzem uvas de mesa e uvas para processamento (Mello, 2012).

Na década de 1850, a videira cv. Bordô (*Vitis labrusca*) despertou interesse dos viticultores europeus devido à resistência ao oídio (*Uncinula necator*), moléstia que naquela época causava enorme prejuízo à viticultura mundial (Grigoletti & Sonogo, 1993). Sua expansão deu-se devido à fácil adaptação a variabilidade de condições edafoclimáticas, boa produtividade (aprox. 32.000 ton.ha<sup>-1</sup>), longevidade e relativa rusticidade (Zanuz, 1991; Camargo, 1994). Esta cultivar vem sendo bastante utilizada para elaboração de vinho tinto, suco, vinagre, geléias e, por sua precocidade, também consumida *in natura* (Rizzon et al., 2000).

A implantação de vinhedos cresceu em ritmo acelerado nos últimos anos e a procura por mudas certificadas tem aumentado. Para isso se faz necessário o uso de tecnologias eficientes, rentáveis e baratas para a produção de mudas (Regina et al., 2006; Namli et al., 2007). A micropropagação da videira é utilizada com diversos objetivos, entre eles a multiplicação rápida de plantas, propagação de novos híbridos e obtenção de matrizes livres de patógenos, tornando-se uma alternativa viável para a multiplicação de videiras (Biasi et al., 1998; Dzazio et al., 2002; Coletto et al., 2008).



## 1.1 OBJETIVOS

### 1.1.1 Objetivo Geral

Contribuir para o melhoramento na micropropagação de videira, visando a substituição de reguladores vegetais de custo elevado, por substâncias que promovam o mesmo efeito porém, com custo de obtenção mais baixo.

### 1.1.2 Objetivo Específico

a) Testar a ação reguladora de crescimento vegetal dos derivados do esteviosídeo;

b) Fornecer se possível, uma alternativa ao uso do ácido giberélico (GA<sub>3</sub>).

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 ORIGEM E CLASSIFICAÇÃO DA VIDEIRA

Foram encontrados fósseis de plantas ancestrais das atuais videiras cultivadas, na atual Groelândia e outras regiões hiperbóreas e estas datam do início do período terciário (Souza, 1996). A videira difundiu-se e adaptou-se a diversas regiões do globo terrestre ocorrendo em duas principais direções, uma Americo-asiática e outra euro-asiática, originando respectivamente as cultivares de uva chamadas americanas e européias (Epagri, 2005).

A videira é uma planta pertencente a família *Vitacea*, sendo gênero *Vitis* o de maior importância agrônômica. O gênero *Vitis* é dividido em dois subgêneros, o *Euvitis* e o *Muscadinea*, sendo que a maioria das videiras cultivadas pertencem ao subgênero *Euvitis* (Winkler *et al.*, 1974; Einset & Pratt, 1975). Dentro deste estão presentes as duas espécies de maior importância econômica, a *Vitis vinifera* (variedades Européias ou Uvas finas) e a *Vitis labrusca* L. (variedades americanas ou Uvas rústicas).

### 2.2 CLASSIFICAÇÃO BOTÂNICA

As videiras classificam-se como:

Grupo – Cormófitas (planta com raiz, talo, folha e autotróficas);

Divisão – Spermatophyta (planta com flor e semente);

Subdivisão – Angiosperma (planta com semente dentro do fruto);

Classe – Dicotyledonaceae (plantas com dois cotilédones, que dão origem as primeiras folhas);

Ordem – Rhamnales (plantas lenhosas com um só ciclo de estames situados dentro das pétalas);

Filo – Terebintales-Rubiales;

Família – Vitaceae ou Ampelidaceae (plantas com corola de pétalas na parte superior e de prefloração valvar, com cálice pouco desenvolvido, gineceu bicarpelar, bilocular, fruto tipo baga);

Gênero – *Vitis* (flores exclusivamente dióicas nas espécies silvestres e hermafroditas ou unissexuais nas cultivadas);

Subgêneros – *Euvitis* ( $2n=38$ ) e *Muscadinia* ( $2n=40$ ).

A família Vitaceae é constituída por onze gêneros vivos e dois gêneros fósseis. Engloba, aproximadamente, seiscentas espécies dispersas em regiões tropicais, subtropicais e temperadas. Inclui alguns gêneros com utilização ornamental, porém apenas o gênero *Vitis* L. tem importância econômica e alimentar. (Giovannini, 2008).

### 2.3 VITIVINICULTURA ATUAL

De acordo com os dados estatísticos disponíveis no portal do IBGE, em 2011 houve aumento de 12,97% na produção de uvas no Brasil, com produção de 1.463.481 toneladas e, a estimativa da produção para 2012 é de 1.387.830 toneladas, 5,17% menor que no ano anterior (Anuário Brasileiro de Fruticultura, 2012).

Em 2011, a produção de uvas destinadas ao processamento aumentou em quase 50%, devido às condições climáticas favoráveis, representando 57,13% do total de uvas produzidas no Brasil, sendo o restante destinado ao mercado de uva in natura (Mello, 2012).

A uva é a fruta de maior importância econômica no mundo, sendo cultivada em aproximadamente oito milhões de hectares das terras aráveis do planeta com uma produção próxima a sessenta e sete milhões de toneladas. Aproximadamente 71% desta produção é utilizada para o vinho, 27% como fruta fresca, e 2 % como frutas secas (Fao, 2007). No Brasil a vitivinicultura é uma atividade importante para a sustentabilidade da pequena propriedade. Nos últimos anos tem se tornado importante também na geração de emprego, em grandes empreendimentos para produção de uvas de mesa e uvas para processamento.

No cenário internacional a viticultura brasileira ocupou em 2007, o 17º lugar em área cultivada com uvas, 19º em produção (Fao, 2007). No que se refere as transações internacionais, dados da mesma fonte revelam que o Brasil foi o 11º colocado em quantidade de uvas exportadas e o 7º em valor das exportações de uvas e o 10º maior exportador de suco de uva em quantidade e em valor.

## 2.4 MICROPROPAGAÇÃO

Do ponto de vista comercial, é interessante que cultivares de importância agrônômica sejam propagadas assexuadamente, pois esse tipo de propagação resulta em plantas uniformes quanto ao seu fenótipo (crescimento, floração, frutificação, etc.). Isso decorre do fato de que essas plantas são altamente selecionadas para características desejadas (alta produção, resistência a doenças, etc.) (Barrueto Cid, 2010). Assim sendo, a micropropagação, ou propagação *in vitro*, mesmo sendo uma prática dispendiosa em termos de mão de obra, de laboratório e de equipamentos, oferece uma melhor relação custo-benefício, pois permite produzir, em escala comercial, material uniforme selecionado, bem como realizar pesquisas de apoio as diferentes áreas da biologia, como a genética, a fitopatologia e a fisiologia vegetal. (Barrueto Cid, 2010).

A cultura de tecidos é a manutenção ou o crescimento de tecidos *in vitro*, em uma maneira que possa permitir a diferenciação e a preservação de suas arquiteturas e/ou funções (Sivb, 2006), é considerada uma técnica importante para a propagação de várias espécies (Landa *et al.*, 2000).

Notadamente, a micropropagação *in vitro* de plantas anuais ou perenes possibilitou que houvesse avanços no campo do melhoramento por meio da transformação de plantas, ou seja, permitiu a ocorrência de rearranjos genéticos no material vegetal, sob condições *in vitro*, os quais, por meio exclusivo do melhoramento tradicional, seriam muito demorados e caros. Assim, a cultura de tecidos de plantas *in vitro*, como técnica, permite o aumento da produção e causa menos danos ambientais, por isso contribui para que os laboratórios e os países que a adotam tenham mais vantagens competitivas. Em países como a Alemanha, a Índia, a Holanda e os EUA, entre outros, a cultura de tecidos aplicada a floricultura, por exemplo, gera bilhões de dólares anualmente e, conseqüentemente, aumenta a

oferta de empregos, além de gerar novas demandas por genótipos, rápida multiplicação clonal, plantas livres de doenças e independência de fatores sazonais (Govil & Gupta, 1997; Winkelmann & Geier, 2006)

## 2.5 GIBERELINAS

Reguladores de crescimento vegetal são compostos endógenos ou exógenos que alteram a taxa de crescimento vegetativo das plantas. Estes compostos atuam em vários mecanismos fisiológicos e, por isso, tem importantes aplicações na agricultura. (Luckwill, 1981). Dentre estes reguladores, estão os hormônios de crescimento vegetal.

As giberelinas são utilizadas na micropropagação e atuam na regulação do crescimento e desenvolvimento de plantas, incluindo a germinação de sementes, crescimento do caule, indução de florescimento e maturação de frutos (MacMILLAN, 2002). As primeiras giberelinas foram isoladas do fungo fitopatogênico *Gibberella fujikuroi*. O primeiro relato descrevia substâncias isoladas deste fungo, que promoviam a alongação do caule nas plantas de arroz. (Yabuta e Sumiky, 1938). A partir destes trabalhos iniciais foi possível isolar e caracterizar o ácido giberélico que é hoje a mais importante das giberelinas comerciais (Stiirmer, 2006).

As giberelinas, fitormônios de natureza terpenóide, têm encontrado uma ampla gama de aplicações compreendendo a maltearia (Blanchflower e Briggs, 1991, Agu e Ezeanolue, 1993), a maturação induzida de frutos, a obtenção de uvas sem sementes por partenocarpia, o retardo da senescência de frutos, e muitas outras (Vivian Smith e Koltunow, 1992). Regulam também o crescimento e desenvolvimento das plantas, incluindo a germinação de sementes, crescimento do caule, indução de florescimento e maturação de frutos. Atualmente existem identificadas em torno de 136 GAs em plantas, fungos e bactérias (Mac MILLAN, 2002).

Mais de cem giberelinas já foram isoladas quer de vegetais superiores, de fungos ou então obtidas por via sintética (Blake *et al.*, 2000). São denominadas genericamente GA<sub>n</sub>, em que “n” representa aproximadamente a ordem de sua descoberta. A maioria delas, entretanto, são precursores de menor importância ou formas biologicamente inativas. As que sem dúvida apresentam a maior relevância são

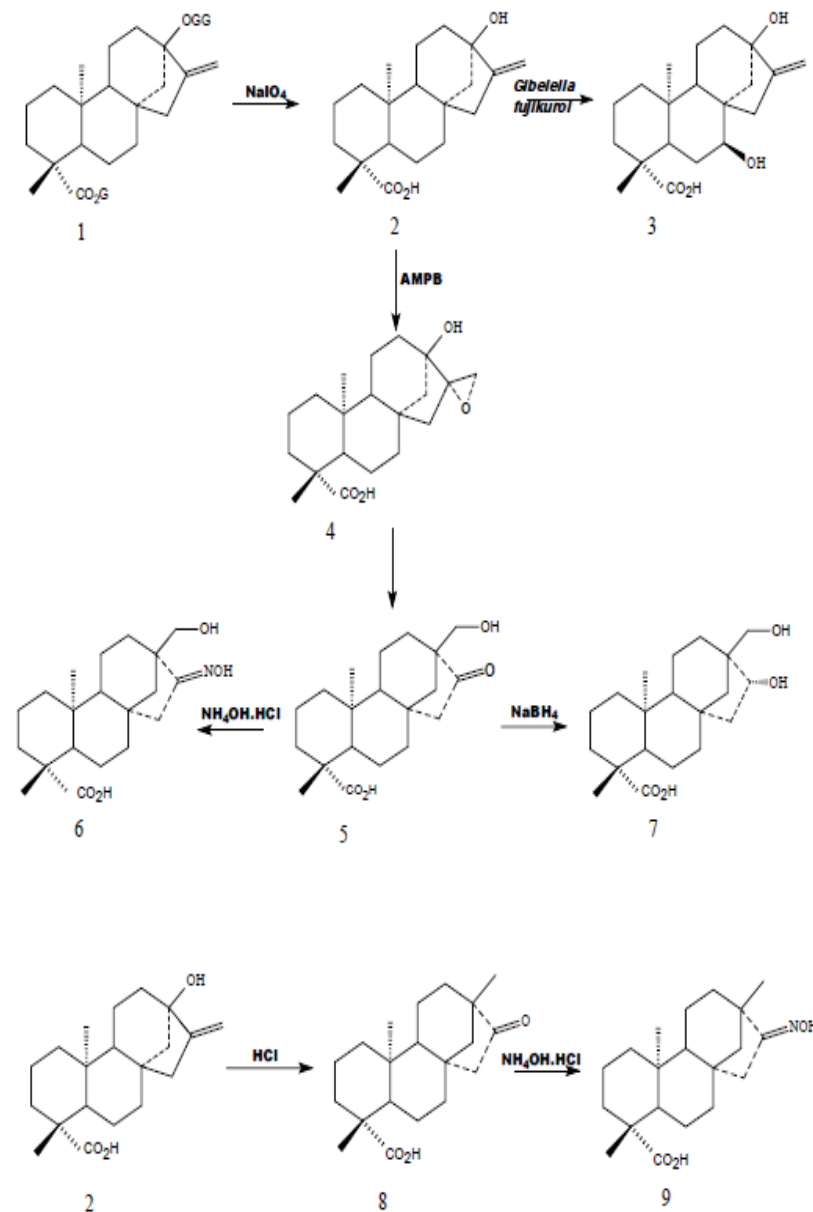
as GA<sub>1</sub>/GA<sub>3</sub> e GA<sub>4</sub>/GA<sub>7</sub>, cujos efeitos biológicos acentuados as tornam comercialmente importantes. São hormônios vegetais quimicamente classificados como diterpenóides tetracíclicos com esqueleto ent-giberelano. Elas regulam o crescimento e desenvolvimento dos vegetais e por isto a sua importância na agricultura.

Na viticultura, o uso de giberelinas visa, principalmente, o aumento do tamanho e a fixação dos bagos, a descompactação dos cachos e a eliminação de sementes. Entretanto para Retamales et al (2005), é importante uma busca alternativa para o uso do ácido giberélico, pois a sua utilização apresenta alguns efeitos indesejáveis, como redução de fertilidade das gemas, degrana dos cachos pós-colheita e maior susceptibilidade dos frutos a podridão.

Apesar dos usos benéficos na agricultura, o uso de giberelinas é restrito a um número relativamente pequeno de culturas. Isto se deve ao alto custo destas substâncias. Elas são obtidas por processos fermentativos utilizando microorganismos e esses processos tem um custo intrínseco muito alto. Por esta razão existe interesse na procura por substâncias que tenham propriedades semelhantes a das giberelinas mas de custo de obtenção mais baixo. Dentre estes compostos alguns da classe dos diterpenóides tetracíclicos, como o esteviol, tem mostrado potencial para uso como reguladores de crescimento vegetal. (Stirmer, 2006).

## 2.6 ESTEVIOSÍDEOS

Os derivados do esteviosídeo possuem estrutura química similar a giberelinas, e por serem solúveis em água, são de fácil aplicação no campo. Os diterpenos glicosilados, derivados do esteviosídeo induzem atividades fisiológicas favoráveis como a promoção do crescimento, aceleração do florescimento, quebra da dormência, estimulação da germinação e aumento da produção de frutos (Iwamura *et al.*, 1984).



**Figura 1 - Estrutura química dos Esteviosídeos.**

**Fonte: STIIRMER, J. C (2006)**

Diterpenos tetracíclicos foram submetidos a bioensaios do hipocótilo de sementes de alface, ervilha, arroz, cevada e sementes de pepino demonstrando, em alguns casos, atividade superior a do ácido giberélico. (Villalobos *et al*, 1994).

Os derivados do esteviosídeo possuem estrutura química similar a das giberelinas, sendo esperado que a obtenção de derivados possam produzir efeitos similares aos das giberelinas.

O gênero *Stevia* é exclusivo do continente americano, distribuindo-se do sudeste dos EUA ao norte da Argentina (Soejarto *et al.*, 1983). A estévia (*Stevia*

rebaudiana (Bert.) Bertoni), com propriedades medicinais e edulcorante, é nativa do norte do Paraguai, mas já foi coletada no Mato Grosso do Sul (Monteiro, 1982). Os princípios ativos edulcorantes são oito glicosídeos diterpênicos doces, dos quais o esteviosídeo e o rebaudiosídeo-A são os principais, sendo que os demais encontram-se em quantidades muito pequenas.

O esteviol, aglicona do esteviosídeo, é um diterpeno tetracíclico biologicamente ativo, com estrutura e ação semelhantes às das giberelinas (Metivier, 1986). Vários trabalhos apresentam estudos da ação da estévia e seus compostos em diversas áreas.



### 3 MATERIAIS E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Biotecnologia aplicada á Fruticultura da Universidade Estadual de Ponta Grossa-PR.

#### 3.1 ORIGEM DOS EXPLANTES

Os explantes utilizados para cada ensaio, foram segmentos nodais de videira cultivar Bordô (*Vitis labrusca*), contendo uma gema axilar de aproximadamente 1 cm e uma folha, excisados de plantas preestabelecidas *in vitro*. Os explantes foram introduzidos em frascos de vidro com capacidade de 100 cm<sup>3</sup> e fechados com tampa plástica de rosca contendo 20 cm<sup>3</sup> de meio de cultura.

#### 3.2 MEIO DE CULTURA

O meio de cultura utilizado foi o MS (Murashige & Skoog, 1962) acrescido de 6 g.dm<sup>3</sup> de Ágar (Sigma) e 30 g.dm<sup>3</sup> de sacarose.

O pH do meio de cultura MS foi ajustado para 5,8 com NaOH 0,1N antes da adição de ágar. Em seguida os meios foram esterilizados em autoclave a 120 °C durante 20 min.

#### 3.3 ACONDICIONAMENTO DOS FRASCOS

Os experimentos foram mantidos em sala de crescimento climatizada, com fotoperíodo de 16 horas de luz, fornecidas por lâmpadas fluorescentes do tipo luz do dia, intensidade luminosa de aproximadamente 20  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  e temperatura de  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ .

### 3.4 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

O delineamento estatístico utilizado foi um fatorial 5 X 8 com 4 repetições contendo 4 plantas cada. Para a análise estatística foi utilizado o programa estatístico ESTAT (Kronka & Banzato, 1995).

### 3.5 DERIVADOS DO ESTEVIOSÍDEO

Foram utilizadas cinco concentrações ( $10^{-7}$   $\mu\text{g.L}^{-1}$ ,  $10^{-5}$   $\mu\text{g.L}^{-1}$ ,  $10^{-3}$   $\mu\text{g.L}^{-1}$ ,  $10^{-1}$   $\mu\text{g.L}^{-1}$  e 10  $\mu\text{g.L}^{-1}$ ) de sete derivados do esteviosídeo - Esteviol, Isoesteviol, Oxima do Isoesteviol, Ipóxido do Esteviol, 17 hidróxi-Isoesteviol, Oxima do 17OH e 16,17OH do Isoesteviol - ácido giberélico ( $\text{GA}_3$ ) nas mesmas concentrações e a testemunha. Foram utilizadas 4 repetições para cada tratamento.

### 3.6 AVALIAÇÃO

As avaliações foram realizadas 60 dias a partir da instalação do experimento e serão analisadas as seguintes variáveis: comprimento médio das brotações (cm), número de microestacas, número de folhas, número de raízes, comprimento da raiz principal (cm) e a matéria fresca (g).

#### 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com exceção da Oxima do Isoesteviol, Oxima do 17-hidróxi-isoesteviol e o 16,17 A-epoxiesteviol, todas as demais substâncias foram superiores à testemunha em todas as concentrações testadas.

O maior valor para o número de estacas (Tabela 1) foi encontrado na concentração de  $10 \mu\text{g.L}^{-1}$  de  $\text{GA}_3$  embora não tenha diferido do Esteviol e do Isoesteviol, na mesma concentração. Nas concentrações  $10^{-7} \mu\text{g.L}^{-1}$ ,  $10^{-3} \mu\text{g.L}^{-1}$  e  $10^{-1} \mu\text{g.L}^{-1}$ , os maiores valores de número de estacas foram obtidos com o Esteviol, embora estes valores não tenham diferido estatisticamente do  $\text{GA}_3$ . Spinardi et al. (2011), testando concentrações mais elevadas, observaram que o Esteviol não apresentou efeito significativo para o número de estacas, discordando deste trabalho onde a ação do Esteviol é tão eficiente quanto do  $\text{GA}_3$ . Observaram também que o Isoesteviol apresentou maior número de estacas inclusive, em relação à testemunha, porém, neste estudo o mesmo composto não diferiu da testemunha e na concentração  $10^{-7} \mu\text{g.L}^{-1}$ , o composto apresenta o mesmo efeito do ácido giberélico. Oliveira et al (2008) observaram que a aplicação de esteviol e isoeteviol em plantas de uva (*Vitis vinifera*) à campo, influenciou significativamente no peso e no diâmetro das bagas.

**Tabela 1 - Efeito da aplicação dos derivados de Esteviosídeos nas concentrações de 0,  $10^{-7}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-1}$  e 10 sob o número de estacas em videira cv. Bordô, 60 dias após a implantação do experimento. Ponta Grossa – PR.**

Substâncias	Concentrações $\mu\text{g.L}^{-1}$					
	0	$10^{-7}$	$10^{-5}$	$10^{-3}$	$10^{-1}$	10
GA <sub>3</sub>	1,3Ba	2,9Abab	4,3Aa	3,8ABab	3,6Aab	5,6Aa
Esteviol	1,3Ba	3,4Aba	2,9Abab	4,5Aa	4,3Aa	3,4ABab
Isoesteviol	1,3Aa	2,9Aab	0,7Abc	3,2Aabc	0,9Abc	3,1Aab
Oxima do Isoesteviol	1,3Aa	0,2Ab	0,5Abc	0,6Acd	0,1Ac	0,9Abc
Ipóxido do Esteviol	1,3Aa	1,7Aab	3,2Aab	1,6Abcd	1,6Aabc	1,4Abc
17-hidróxi-isoesteviol	1,3Aa	2,3Aab	2,6Aabc	2Aabcd	2,3Aabc	1,9Abc
Oxima do 17-hidróxi-isoesteviol	1,3Aa	0,1Ab	0Ac	0Ad	0Ac	0,15Ac
16,17- A-epóxiesteviol	1,3Aa	0,9Aab	1Abc	0,2Ad	0,2Ac	0,5Abc
<b>CV (%)</b>			<b>82,8</b>			

Para a massa fresca (Tabela 2), o GA<sub>3</sub> e o Esteviol foram os compostos que apresentaram os melhores resultados, porém não diferindo estatisticamente entre si. Para esta variável, nas concentrações  $10^{-7} \mu\text{g.L}^{-1}$  e  $10^{-5} \mu\text{g.L}^{-1}$  nenhuma das substâncias diferiu estatisticamente umas das outras embora os maiores valores tenham sido obtidos para GA<sub>3</sub> e Esteviol. A Oxima do 17-hidróxi-isoesteviol foi inferior à testemunha em todas as concentrações testadas, assim como o 16,17 A-epoxiesteviol. A única substância que diferiu estatisticamente da testemunha foi o GA<sub>3</sub>, na concentração de  $10 \mu\text{g.L}^{-1}$ .

Na concentração de  $10^{-3} \mu\text{g.L}^{-1}$ , com exceção do Oxima do 17-hidroxi-isoesteviol e 16,17 A-epoxiesteviol, não houve diferença entre as substâncias testadas. Na concentração de  $10^{-1} \mu\text{g.L}^{-1}$ , a Oxima do Isoesteviol e a Oxima do 17-hidroxiisoesteviol foram inferiores às demais porém, não diferiram do Isoesteviol, 17-hidroxiisoesteviol e 16,17 A – epoxiesteviol. Nesta concentração o melhor resultado encontrado foi para o GA<sub>3</sub> porém, sem diferença estatística para Esteviol, Isoesteviol, Ipóxido do esteviol, 17 hidroxiisoesteviol e 16,17 –epoxiesteviol.

Na concentração  $10^{-7} \mu\text{g.L}^{-1}$ , o melhor resultado foi do GA<sub>3</sub> porém sem diferir estatisticamente do Esteviol e Isoesteviol.

**Tabela 2 - Efeito da aplicação dos derivados de Esteviosídeos nas concentrações de 0,  $10^{-7}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-1}$  e 10 sob a massa fresca, em videira cv. Bordô, 60 dias após a implantação do experimento. Ponta Grossa – PR**

Substâncias	Concentrações $\mu\text{g.L}^{-1}$					
	0	$10^{-7}$	$10^{-5}$	$10^{-3}$	$10^{-1}$	10
GA <sub>3</sub>	0,02Bb	0,08ABa	0,1ABa	0,1ABa	0,1Aa	0,2Aa
Esteviol	0,02Ab	0,09Aa	0,1Aa	0,1Aab	0,01Aab	0,06Aab
Isoesteviol	0,02Ab	0,06Aa	0,005Aa	0,05Aab	0,01Aab	0,07Aab
Oxima do Isoesteviol	0,02Ab	0,002Aa	0,01Aa	0,01Aab	0,002Ab	0,01Ab
Ipóxido do Esteviol	0,02Ab	0,02Aa	0,04Aa	0,03Aab	0,03Aab	0,02Ab
17-hidróxi-isoesteviol	0,02Ab	0,05Aa	0,07Aa	0,05Aab	0,05Aab	0,04Ab
Oxima do 17-hidróxi-isoesteviol	0,2Aa	0Ba	0Ba	0Bbab	0Bb	0Bb
16,17- A-epóxiesteviol	0,2Aa	0,04Ba	0,02Ba	0,01Bb	0,01Bab	0,01Bb
<b>CV (%)</b>			<b>145,35</b>			

O maior valor encontrado para o comprimento da raiz principal (Tabela 3) foi com o uso do Esteviol na concentração  $10^{-1} \mu\text{g.L}^{-1}$  embora em todas as concentrações testadas o GA<sub>3</sub> e o Esteviol não diferiram estatisticamente.

O Isoesteviol não diferiu do GA<sub>3</sub> e do Esteviol, nas concentrações  $10^{-7} \mu\text{g.L}^{-1}$  e  $10^{-5} \mu\text{g.L}^{-1}$ , assim como Ipóxido do Esteviol, 17-hidroxiisoesteviol, na concentração  $10^{-3} \mu\text{g.L}^{-1}$  e 10  $\mu\text{g.L}^{-1}$ . Na concentração  $10^{-1}$  o 17-hidroxiisoesteviol não diferiu do GA<sub>3</sub> e Esteviol.

Para todas as concentrações testadas o GA<sub>3</sub> diferiu da testemunha em  $10^{-5} \mu\text{g.L}^{-1}$ ,  $10^{-3} \mu\text{g.L}^{-1}$ ,  $10^{-1} \mu\text{g.L}^{-1}$  e 10  $\mu\text{g.L}^{-1}$ . O Esteviol diferiu da testemunha nas concentrações  $10^{-7} \mu\text{g.L}^{-1}$ ,  $10^{-3} \mu\text{g.L}^{-1}$  e  $10^{-1} \mu\text{g.L}^{-1}$ . O Isoesteviol diferiu da testemunha na concentração  $10^{-7} \mu\text{g.L}^{-1}$ .

**Tabela 3 - Efeito da aplicação dos derivados de Esteviosídeos nas concentrações de 0, 10<sup>-7</sup>, 10<sup>-5</sup>, 10<sup>-3</sup>, 10<sup>-1</sup> e 10 sob o comprimento da raiz principal, em videira cv. Bordô, 60 dias após a implantação do experimento. Ponta grossa – PR.**

Substâncias	Concentrações					
	0	10 <sup>-7</sup>	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-1</sup>	10
GA <sub>3</sub>	16,6Ba	59,2ABab	70,5Aa	83,4Aa	76,2Aab	91Aa
Esteviol	16,6C	71,6ABab <sup>c</sup>	58,1ABCab	76Bab	92,3Aa	35,8BCab
Isoesteviol	16,6Ba	78Aa	5,4Bbc	40,9ABab	11,4Bc	58,9ABab
Oxima do Isoesteviol	16,6Aa	0Ad	6,9Abc	8,5Ac	1Ac	15,7Ab
Ipóxido do Esteviol	16,6Aa	22,9Aabc	46,2Aabc	23,2Abc	28,2Abc	21,3Ab
17-hidróxi-isoesteviol	16,6Aa	38,4Aabc	41,7Aabc	25,6Abc	48Aabc	29,8Ab
Oxima do 17-hidróxi-isoesteviol	16,6Aa	3,7Acd	0Ac	0Ac	1,1Ac	3,5Ab
16,17- A-epóxiesteviol	16,6Aa	16,8Abcd	10,7Abc	4,4Ac	5Ac	6,3Ab
<b>CV (%)</b>	<b>97,4</b>					

As demais substâncias não apresentaram diferença significativa em relação às concentrações utilizadas.

Para as demais variáveis analisadas (Tabela 4), não houve interação significativa entre os compostos e as concentrações testadas.

**Tabela 4 - Médias do comprimento médio dos brotos (cb), número de folhas (nf) e número de raízes (nr), após tratamento com derivados de Esteviosídeos nas concentrações de 0, 10<sup>-7</sup>, 10<sup>-5</sup>, 10<sup>-3</sup>, 10<sup>-1</sup> e 10, em videira cv. Bordô, 60 dias após a implantação do experimento. Ponta Grossa – PR**

Substâncias	CB (mm)	NF	NR
GA <sub>3</sub>	24,8 A	4,3 A	1 A
Esteviol	23,8 A	3,8 AB	0,9 AB
Isoesteviol	20,4 A	2,4 BC	0,6 ABC
Oxima do Isoesteviol	9 BCD	0,8 DE	0,2 CDE
Ipóxido do Esteviol	15,9 ABC	2,2 CD	0,5 BCD
17-hidróxi-isoesteviol	18,8 AB	2,5 BC	0,6 ABC
Oxima do 17-hidróxi-isoesteviol	3,4 D	0,3 E	0,1 E
16,17- A-epóxiesteviol	6,34 CD	0,7 E	0,2 DE
<b>CV(%)</b>			

No trabalho de Basso et al. (2009) não foi observado efeito do uso de Esteviol e Oxima do Isoesteviol no comprimento médio dos brotos e caracterizaram o Isoesteviol como fitotóxico para a videira nas concentrações por eles testadas. O que difere deste trabalho onde as médias para o comprimento médio dos brotos (Tabela 4) não diferem estatisticamente entre si para o GA<sub>3</sub>, o Esteviol e o Isoesteviol.

Stiirmer (2006), testando os mesmos compostos no hipocótilo de alface, observou que na concentração  $10^{-3} \mu\text{g.L}^{-1}$  o 16,17  $\alpha$ -epoxiesteviol, oxima do 17-hidroisoesteviol e oxima do isoesteviol apresentaram melhores resultados frente ao controle, sendo superior a atividade do ácido giberélico e os compostos Esteviol e Isoesteviol apresentaram menor resposta porém, positiva frente ao controle, caracterizando suas propriedades com fitohormônios.

Spinardi et al (2011) estudando o Esteviol, Isoesteviol e Oxima do Isoesteviol, em maiores concentrações, observaram que para o número de raízes não houve influencia do Esteviol, já o Isoesteviol mostrou-se tóxico inicialmente porém, a partir da concentração 0,58 mg.L<sup>-1</sup> verificaram aumento do número de raízes e para a Oxima de Isoesteviol o número de raízes apresentou efeito linear negativo, proporcional ao aumento da concentração de forma que, o uso da substância tornou-se inviável. Neste estudo verificou-se que o maior número de raízes (Tabela 4) encontra-se quando da utilização do GA<sub>3</sub>, porém, não difere do Esteviol e do Isoeteviol.

### 3 CONCLUSÃO

Para o número de estacas, os compostos Esteviol e Isoesteviol podem ser utilizados na concentração de  $10 \mu\text{g.L}^{-1}$  pois, nessas condições, não apresentaram diferença estatística em relação a  $\text{GA}_3$ .

Em relação a massa fresca, o Esteviol foi tao eficiente quanto a  $\text{GA}_3$  e ambos não diferiram estatisticamente entre si. Para esta variável, as substancias 17-hidróxi-isoesteviol e 16, 17- A epoxiesteviol, foram inferiores inclusive a testemunha, não sendo recomendadas para uso.

Para o comprimento da raiz principal, em todas as concentrações testadas, o Esteviol e o  $\text{GA}_3$  não diferiram estatisticamente entre si, sendo o maior valor encontrado para o Esteviol.

As substancias testadas, em especial o Esteviol, podem ser utilizadas na micropropagação de videira cv. Bordô.



## 6 REFERÊNCIAS

- AGRIBUS: anuário da agricultura brasileira São Paulo: **Instituto FNP Consultoria e Comércio**, 2006. 504p.
- AGU R.C.; EZEANOLUE J.C. Combined mashing of millet (*Pennisetum maiwa*) malts prepared with potassium bromate and gibberellic-acid (GA<sub>3</sub>) as additives. **PROCESS BIOCHEMISTRY** ,v.28, n. 7, p. 475-479, 1993.
- ANTUNES, C.E.; AQUINO, D.T. Vitivinicultura e vinhos artesanais no Estado de São Paulo. In: CORRÊA, L.S.; BOLIANI, A.C.; FRACARO, A.A. (Ed.). **Uvas rústicas: cultivo e processamento em regiões tropicais**. Jales: Editora Gráfica Universitária, 2008. p. 354-368.
- ANUÁRIO Brasileiro da Fruticultura . Santa Cruz do Sul: Ed. Gazeta Santa Cruz, 2012.
- BARRUETO CID, P. Cultivo in vitro de plantas. Embrapa formação tecnológica. Brasília, DF. 2010.
- BIASI LA, PASSOS, IR da S, POMMER, CV. Estabelecimento in vitro de porta-enxertos de videira através de ápices meristemáticos e segmentos nodais. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, 55: 45-49.1998.
- BLANCHFLOWER A.J. e BRIGGS D.E. Micromalting triticales - optimizing processing conditions. **JOURNAL OF THE SCIENCE OF FOOD AND AGRICULTURE** v. 56, n.2, p. 103-115, 1991.
- BLAKE, P.S.; TAYLOR, D.R.; CRISP, C.M. et al. Identification of endogenous gibberellins in strawberry, including the novel gibberellins GA<sub>123</sub>, GA<sub>124</sub> and GA<sub>125</sub>. **PHYTOCHEMISTRY** , v.55, n.8, p. 887-890, 2000.

BORGHEZAN, M.; MORAES, L.K.A.; MOREIRA, F.M.; SILVA, A.L. Propagação in vitro e avaliação de parâmetros morfofisiológicos de porta-enxertos de videira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 38, n. 7, p. 783-789, 2003.

CAMARGO U. A. Uvas do Brasil. Brasília: **Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária**, Uva e Vinho - SPI. Documentos 09. 90p. 1994.

COLETTI LS, MARTINS CR, GOULART M. (2008) Micropropagation of stock for grafting of grapevine Paulsen 1103 "in vitro", with different cytokinin concentrations. **Revista da FZVA**, Uruguaiana, 15:102-108. 2008.

DZAZIO PM, BIASI LA, ZANETTE F. Micropropagação do porta-enxerto de videira 420-A. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.24, n.3, p. 759-764. 2002.

EINSET, J.; PRATT, C. Grapes. In: JANICK, J. & MOORE, J. N. *Advances in Fruit Breeding*. **Purdue University Press**, West Lafayette, p. 130-153, 1975.

EPAGRI – Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina S.A. **Normas técnicas para o cultivo de videira em Santa Catarina**. Sistemas de Produção nº 33. 2005.

FAO. Faostat agriculture data – crops and crops processed – grape and wine. 2007.

GIOVANNINI, E. Produção de uvas para vinho, suco e mesa. Porto Alegre: **Renascença**, 3ª edição, 368p. 2008.

GOVIL, S.; GUPTA, S. C. Commercializations of plant tissue culture in India. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, The Hague, v. 51, p. 65-73, 1997.

GRIGOLETTI Jr. A, SÔNEGO OR. Principais doenças fúngicas da videira no Brasil. Bento Gonçalves: **EMBRAPA CNPQV**, **Circular Técnica** 17, 36p. 1993.

IWAMURA J. (1984) US Patent, 4:449-997.

KRONKA SN; BANZATO DA. Estat: Sistema para análise estatística versão 2.0. 3 ed. Jaboticabal: **FUNEP**, 247p. 1995.

LANDA, F. S. L. Indução *in vitro* de calos em explantes foliares de pequiheiro (*Caryocar brasiliense* Camb.). **Ciência e Agrotecnologia, Lavras**, v.24 (Edição especial), p. 56-63, 2000.

MacMILLAN J. Occurrence of gibberellins in vascular plants, fungi and bacteria. **Journal of Plant Growth Regulator**, 20:387-442. 2002.

MELLO, L. M. R. Embrapa Uva e Vinho. Vitivinicultura Brasileira: Panorama 2009. **Artigos Técnicos** on line. Disponível em: <<http://www.cnpuv.embrapa.br/publica/comunicado/cot115.pdf>>. Acesso em: 23 abril. 2012.

MONTEIRO, R. Estudos taxonômicos em Stevia - Série Multiaristatae no Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v.5, p.5-15, 1982.

MURASHIGE T & SKOOG FA. A revised medium for rapid growth and bio assaya with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, 15:473-479. 1962.

NAMLI S, ADIYAMAN F, AYZAZ E. Comparative Studies on the Proliferation of Lateral Buds of *Vitis vinifera* L.cv. Cardinal During Different Periods of Six Months of the Year at in Vitro Condition. **International Journal of Agriculture & Biology**, v. 9. 2007.

REGINA MA (2006) Viticultura. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 28, n. 2, p. 160-338.

RETAMALES, J. BANGERTH, F.; COOPER, T.; CALLEJAS, R. Effects os CCPU and GA<sub>3</sub> on fruit quality of Sultanina table grape. **Acta Horticulture**, n. 394, p 149-157, 1995.

RIZZON LA, MIELE A, MENEGUZZO J (200) Avaliação da uva cv. Bordô para a elaboração de vinho tinto. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Campinas, v. 20, n. 1, p. 115-121.

SIVB, Terminology Associated with Cell, Tissue and Organ Culture Molecular Biology and Molecular Genetics. Disponível em <<[http://www.sivb.org/edu\\_terminology.asp](http://www.sivb.org/edu_terminology.asp)>>. Acesso em 23 de Janeiro de 2012.

STIIRMER, J. C. **Obtenção de diterpenóides tetracíclicos com potencial ação reguladora de crescimento vegetal**. Tese de doutorado. Universidade Federal do Paraná. Curitiba. 2006.

SOEJARTO, D.D.; COMPADRE, C.M.; MEDON, P.J.; KAMATH, S.R.; KINGHORN, A.D. Potential sweetening agents of plant origin. II. Field search for sweet-tasting *Stevia* species. **Economic Botany**, New York, v.3, p.71-79, 1983.

SOUZA, J. S. I. Uvas Para o Brasil. São Paulo:**Melhoramentos** , 445 p. 1996.

VILLALOBOS, N.; MARTIN, L.; MACIAS, M. J.; MANCHENO, B.; GRANDE, M. Gibberelins-like activity of some tetracyclic diterpenoids from *Elaeoselinum* species and their derivatives. **Phytochemistry**, v. 37, p. 635-639, 1994.

VIVIAN SMITH, A. e KOLTUNOW, A.M. Genetic analysis of growth-regulator-induced parthenocarpy in *Arabidopsis*. **Commonwealth Scientific Industrial Research Organization, Plant Industry, Horticulture Research**, 1992.

WINKELMANN, T.; GEIER, T. Commercial in vitro plant production in Germany in 1985-2004. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture, The Hague**, v. 86, p. 319-327, 2006.

WINKLER, A. J.; COOK, J. A.; KLIOWER, W. M.; LIDER, L. A.; General Viticulture. **University of California Press**, Berkley, 1974.

YABUTA, T.; SUMIKY, Y. On the crystal gibberelins a substance to promote plant growth. **Journal Agriculture Chemistry Society Japan**, v.14, p. 1526, 1938.

ZANUZ MC (1991) **Efeito da maturação sobre a composição do mosto e qualidade do suco de uva**. Porto Alegre, 117p. Tese de Mestrado - Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, RS.