



UFRPE

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
DEPARTAMENTO DE AGRONOMIA
BACHARELADO EM AGRONOMIA

Amanda Priscila da Silva

**RELATÓRIO DE ESTÁGIO SUPERVISIONADO
OBRIGATÓRIO - ESO**

RECIFE- PE
2020



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
DEPARTAMENTO DE AGRONOMIA

Amanda Priscila da Silva

Relatório de Estágio Supervisionado Obrigatório - ESO, apresentado à Coordenação do Curso de Agronomia da UFRPE campus Recife, pela discente Amanda Priscila da Silva, sob orientação do Professor Antônio Francisco de Mendonça Júnior. O ESO foi realizado no Instituto Agrônomo de Pernambuco - IPA Recife, sob a supervisão da Dra. Tereza Cristina de Assis e Dr. Júlio Mesquita, como parte dos requisitos avaliativos para conclusão do curso de graduação.

RECIFE - PE,
2020

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal Rural de Pernambuco
Sistema Integrado de Bibliotecas
Gerada automaticamente, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Silva,
Amanda
Priscila
dar

da Silva, Amanda Priscila
RELATÓRIO DE ESTÁGIO SUPERVISIONADO OBRIGATÓRIO - ESO / Amanda Priscila da Silva. -
2020.
40 f. : il.

Orientador: Antonio Francisco de Mendonca Junior.
Inclui referências.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal Rural de Pernambuco,
Bacharelado em Agronomia, Recife, 2020.

1. fitopatologia. 2. melhoramento. 3. pimenta. I. Junior, Antonio Francisco de Mendonca, orient. II. Título

CDD 630



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
DEPARTAMENTO DE AGRONOMIA
CURSO DE AGRONOMIA

AVALIAÇÃO DO ESTÁGIO SUPERVISIONADO OBRIGATÓRIO:

NOTA: 9,0 (Nove vírgula zero pontos)

Discente

Amanda Priscila da Silva
Graduanda em Agronomia – UFRPE

Orientador

Prof. Antônio Fco de Mendonça Júnior
DEPA/UFRPE
SIAPE: 1931774

Dr. Antônio Francisco de Mendonça Júnior
Professor – UFRPE

Supervisores

Tereza Cristina de Assis
Bióloga e Dra. em Fitopatologia

Dr. Júlio Mesquita

RECIFE - PE,
2020

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, gostaria de agradecer a Deus, pelo dom da vida, pela saúde e por todas as pessoas que ele colocou ao meu redor durante toda a trajetória da graduação, para me ajudar a concluí-la com êxito.

Em segundo lugar, gostaria de agradecer aos meus pais Maria José (dona Naná) e José Alexandre (Xando) por todo suporte, auxílio e apoio que eles me deram durante esses cinco anos de curso. Foram eles que estavam ao meu lado desde sempre, me dando educação, forças, todo o suporte necessário e me incentivando a não desistir e a focar sempre nos meus objetivos, para alcançar aquilo que sempre desejei, o diploma de formanda. Muito obrigada por tudo, amo vocês!

Agradeço também, é claro, ao meu namorado Eduardo Marinho que, assim como os meus pais, esteve comigo durante toda a trajetória da minha graduação, me dando apoio durante os momentos de estresse, de tristeza e me mostrando sempre o meu potencial quando muitas vezes nem eu mesma conseguia ver; e claro, nos momentos de felicidade, comemorando cada aprovação e conquista. Eu amo você!

Gosto de pensar que nada nessa vida conquistamos sem ajuda alguma, por isso também gostaria de agradecer aos meus amigos de turma, pessoas que quero levar pra vida além da universidade, pessoas maravilhosas que eu desejo sinceramente, que tenham um futuro lindo pela frente.

Agradeço ao professor Antônio Mendonça por aceitar o convite para me orientar durante o ESO, e por mais que este tenha sido desenvolvido em um período complicado para todos devido à pandemia da COVID-19, mas o mesmo fez o que pôde para que eu conseguisse realizar o meu estágio da melhor maneira possível.

Aos meus supervisores, Dra. Tereza Cristina e Dr. Júlio Mesquita, por me aceitarem para estagiar em suas devidas áreas e por toda a preocupação para que eu pudesse entender tudo o que estava sendo realizado.

O meu muito obrigada também vai para duas pessoas muito importantes durante a realização do ESO. Primeiramente para Ana do Laboratório de Fitopatologia do IPA - Sede. Ela que esteve comigo durante a maior parte do tempo, me mostrando como realizar cada protocolo com toda paciência e simpatia.

Em segundo, ao doutorando Jackson da silva, que esteve comigo durante minha passagem no

que esteve comigo durante minha passagem no Programa de Melhoramento de Hortaliças, em especial ao que se refere ao Programa de Melhoramento de Pimenteiras Ornamentais, me ensinando como funciona o melhoramento genético de plantas, tudo com bastante calma e descontração, fazendo com que o ESO não fosse uma obrigação e sim mais uma oportunidade de aprendizado.

Por fim, agradeço à UFRPE, por toda a infraestrutura que foi disponibilizada para que eu pudesse concluir o curso e meus objetivos dentro dele.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO.....	01
ATIVIDADES REALIZADAS NO LABORATÓRIO DE FITOPATOLOGIA.....	03
1. Preparação do meio de cultura Batata Dextrose Agar (BDA).....	03
2. Isolamento de Fungos em Folhas de Pingo de Ouro (<i>Duranta repens</i>).....	05
3. Isolamento de fungo em fruto de Jaqueira (<i>Artocarpus heterophyllus</i>).....	09
4. Extração de Nematóides - Método de Jenkins.....	11
5. Visualização microscópica de estrutura fúngica.....	14
6. Visita técnica ao Sítio Agroecológico Serra Azul.....	16
ATIVIDADES REALIZADAS NO ESTÁGIO REALIZADO NO PROGRAMA DE MELHORAMENTO DE PIMENTEIRAS ORNAMENTAIS.....	20
1. Avaliação de caracteres morfológicos de genótipos de pimenteira.....	20
2. Retirada de Frutos de Cruzamentos.....	23
3. Autofecundação de genótipos.....	24
4. Cruzamento genético dos genótipos.....	26
5. Manejo dos genótipos.....	28
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	32
BIBLIOGRAFIA.....	33

INTRODUÇÃO

O Instituto Agrônomo de Pernambuco é uma entidade criada em 1935 com atividades voltadas para a pesquisa, desenvolvimento e produção de bens e serviços agropecuários. Ao longo de seu funcionamento, o mesmo conseguiu diversas contribuições relevantes para o desenvolvimento de Pernambuco, a partir de pesquisas nas mais diversas áreas do setor agrícola, como em estudos de solos e botânica por exemplo. Além dessas áreas, outras de grande destaque e expressividade nas pesquisas realizadas pelo instituto é a Fitossanidade e a produção de hortaliças.

Um dos laboratórios responsáveis pelo trabalho com a Fitossanidade, é o Laboratório de Fitopatologia. A fitopatologia (*Phyton* = planta; *Pathos* = doença; *Logos* = estudo) é a ciência que estuda os princípios e interações entre a relação patógeno - hospedeiro - ambiente. Portanto, Fitopatologia é a ciência que estuda as doenças de plantas, abrangendo todos os seus aspectos, desde a diagnose, sintomatologia, etiologia, epidemiologia, até o seu controle (MICHHEREFF, 2001).

Dentre as doenças ocasionadas em plantas, temos as doenças abióticas e as doenças bióticas. As doenças abióticas são aquelas ocasionadas por excessos, desequilíbrios ou perdas de fatores como temperatura, umidade e nutrientes. Já as doenças bióticas, são aquelas causadas por agentes como os fungos, bactérias, vírus e nematoides, sendo os fungos os principais agentes infecciosos de plantas, responsáveis por cerca de 70% das devastações causadas por doenças no ramo agrícola.

Atualmente existem cinco principais métodos de manejo de doenças, sendo eles o método biológico utilizando microrganismos antagonistas; o método químico com o uso de fungicidas; o método genético trabalhando com características genéticas própria planta visando a resistência da mesma contra determinada(s) doença(s); o método cultural trabalhando na manipulação das condições de pré-plantio e durante o desenvolvimento do hospedeiro e o método físico utilizando técnicas como a termoterapia.

Por mais que o método químico seja o principal método utilizado atualmente, outras técnicas vêm ganhando bastante espaço na agricultura, como o controle biológico e

método genético com o melhoramento de plantas. O melhoramento genético vegetal pode ser definido de forma bastante simplificada e generalizada como a arte e a ciência de modificar plantas ou seu desempenho em benefício da humanidade (POEHLMAN e SLEPER, 1995)

O melhoramento de plantas é bastante empregado na agricultura em diversas culturas, como nas hortaliças por exemplo. O início das atividades com melhoramento genético de hortaliças no Brasil ocorreu do final dos anos 1930 a meados da década de 1940, com o estabelecimento de programas pioneiros nos estados do Rio Grande do Sul e de São Paulo (NETO et al, 2009). As hortaliças participam dos esforços de pesquisa do IPA desde a sua fundação em 1935 (NETO, et al, 2009), onde atualmente as hortaliças mais trabalhadas são o tomateiro (*Solanum lycopersicum*) e a cebola (*Allium cepa*), havendo várias pesquisas desenvolvidas afim de melhorar a tecnologia de produção destas.

Apesar do mercado brasileiro de hortaliças ser bem diversificado, produzindo espécies como a batata (*Solanum tuberosum*), tomate (*Solanum lycopersicum*), melancia (*Citrullus lanatus*), alface (*Lactuca sativa*) e cebola (*Allium cepa*), essa produção é destinada ao consumo alimentar, sendo pouco explorada com cunho ornamental. Entretanto, diversas são as hortaliças utilizadas em ornamentação, como é o caso da pimenta (*Capsicum sp.*), que além de ser bastante utilizada na gastronomia como especiaria, também vem ganhando espaço no melhoramento genético para criação de genótipos cada vez mais atraentes para ornamentação.

ATIVIDADES REALIZADAS NO LABORATÓRIO DE FITOPATOLOGIA

1. Preparação do meio de cultura Batata Dextrose Agar (BDA).

Os meios de cultura são substâncias ou soluções que podem ser usados na seleção e crescimento de um determinado micro-organismo ou célula vegetal para a identificação de uma espécie em particular (ZAUZA et al, 2007). Esses meios são responsáveis pelo fornecimento de nutrientes para diversos microrganismos, como os fungos e as bactérias, dando condições assim do seu desenvolvimento e cultivo em laboratórios. Dentre os meios de cultivo mais utilizados, temos o BDA (Batata Dextrose Agar), um meio proveniente da batata (*Solanum tuberosum*) bastante utilizado para o isolamento de fungos e leveduras.

Para o preparo do meio BDA, foi utilizado 200g de batata inglesa (*Solanum tuberosum* L), no qual a mesma foi cortada com o auxílio de uma faca, em formatos de discos. Os discos de batata foram colocados em um recipiente com 500ml de água destilada e em seguida foi posto no forno micro-ondas até ferver.



Figura 1 Pesagem de 200g de batata inglesa

Após fervido, foi despejado o conteúdo do recipiente em uma peneira sob um novo recipiente, para que fosse retirado os fragmentos de batata, obtendo-se assim apenas o caldo. Em seguida, em outro recipiente, foram postos 500ml de água destilada juntamente com 17g de Agar.

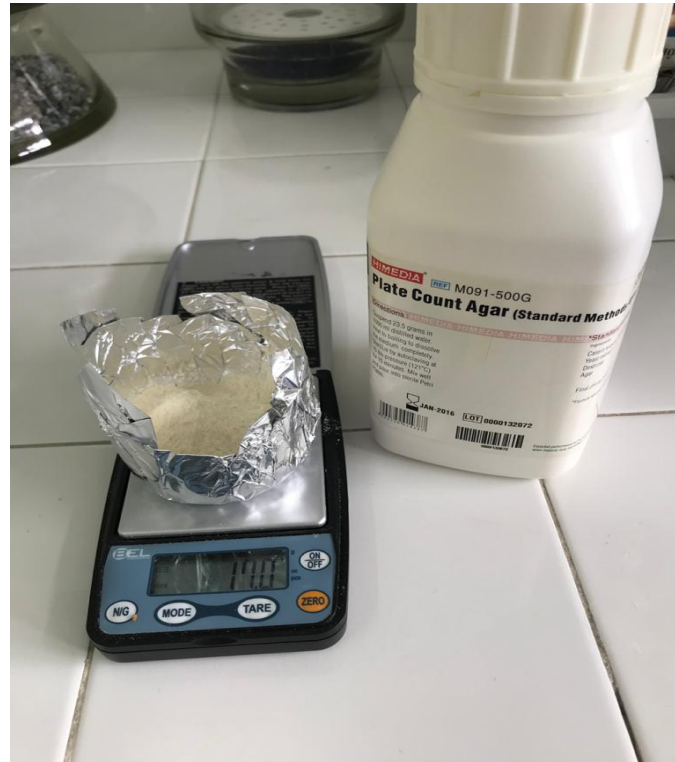


Figura 2 Pesagem de Agar.

Este recipiente foi para o forno micro-ondas até que a mistura fosse fundida. Ao retirar o recipiente, foi adicionado no mesmo 20g de dextrose e o conteúdo foi mexido até ficar uniforme.

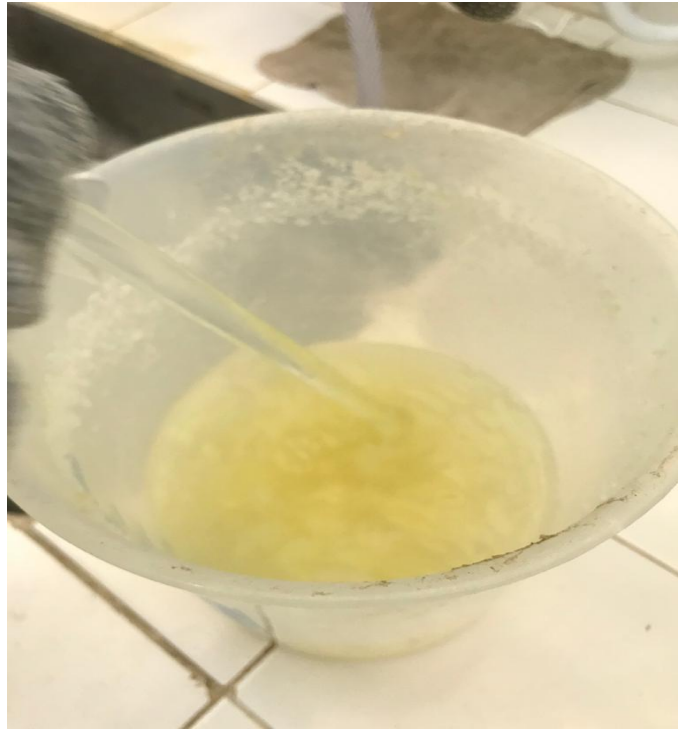


Figura 3 Mistura obtida do caldo da batata com 17g de Agar e 20g de dextrose.

Em seguida, o caldo foi acrescentado ao recipiente e logo após o conteúdo foi ajustado para um volume de 1000ml e transferido para alguns frascos de Erlenmeyer. Por fim, os frascos foram lacrados com jornal e presos com barbantes e em seguida colocados em uma autoclave para garantir a purificação do meio contra microrganismos.

2. Isolamento de Fungos em Folhas de Pingo de Ouro (*Duranta repens*)

Os fungos são organismos eucarióticos, aclorofilados e aeróbios obrigatórios. Esses organismos podem ser transmitidos para plantas através de uma transmissão vertical de uma planta para sua sucessora por meio de sementes contaminadas ou por meio de transmissão horizontal, através de agentes como o vento e insetos. Existem muitas espécies de fungos benéficos às plantas, como aqueles que realizam a conversão de matéria orgânica em nutrientes; no entanto também existem os prejudiciais, que podem produzir metabólitos tóxicos às plantas. O primeiro passo para realizar a identificação de um fungo e poder estudá-lo mais profundamente, é o isolamento.

Para realizar o processo de isolamento, inicialmente foram coletadas folhas da espécie *Duranta repens* (pingo de ouro) utilizadas como amostras, apresentando

sintomas de doenças fúngicas, no campus do IPA em Recife. Após a coleta, o material foi levado ao laboratório de fitopatologia para realizar o isolamento. Inicialmente foi realizada a assepsia da câmara de fluxo e em seguida a mesma foi ligada em luz UV durante 15 minutos para garantir a morte de microorganismos e reduzir a chance de contaminação dos materiais. Foram pegos duas folhas coletadas e as mesmas foram lavadas com detergente e água corrente.



Figura 4 Área necrosada em folha de pingo de ouro.

Em seguida, utilizou-se água destilada estéril (ADE) para uma segunda lavagem das folhas. Após higienizadas, foram recortados pequenos fragmentos da folha na área de transição da lesão (região entre o tecido sadio e o tecido com sintomas), visto que esta é a área onde o fitopatógeno se encontra vivo.

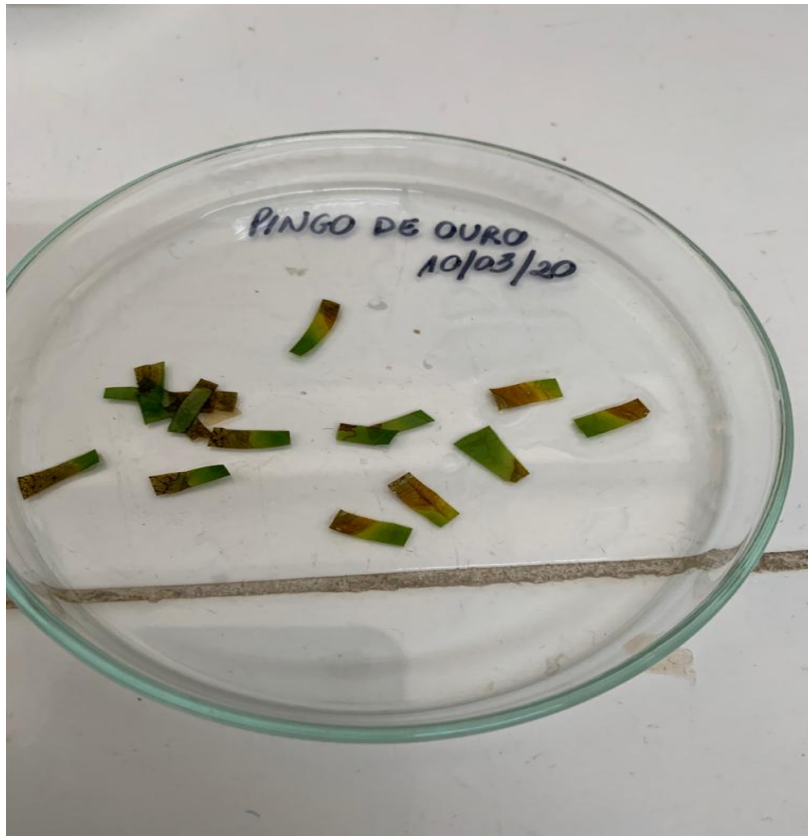


Figura 5 Fragmentos cortados na área de transição da lesão.

Os fragmentos foram postos em uma placa de petri. Posteriormente, foram preparados álcool, hipoclorito de sódio e água destilada estéril (ADE) em três béckers distintos. No primeiro Becker foi posto álcool na proporção 1:1 (20ml de álcool + 20ml de ADE), no segundo foi posto hipoclorito na proporção 1: 3 (20ml de hipoclorito de sódio + 20ml de ADE + 20ml de álcool), no terceiro becker foi posto apenas 20ml de ADE. Os fragmentos juntamente com os beckers foram levados para dentro da câmara de fluxo, onde iniciou-se o processo de isolamento.

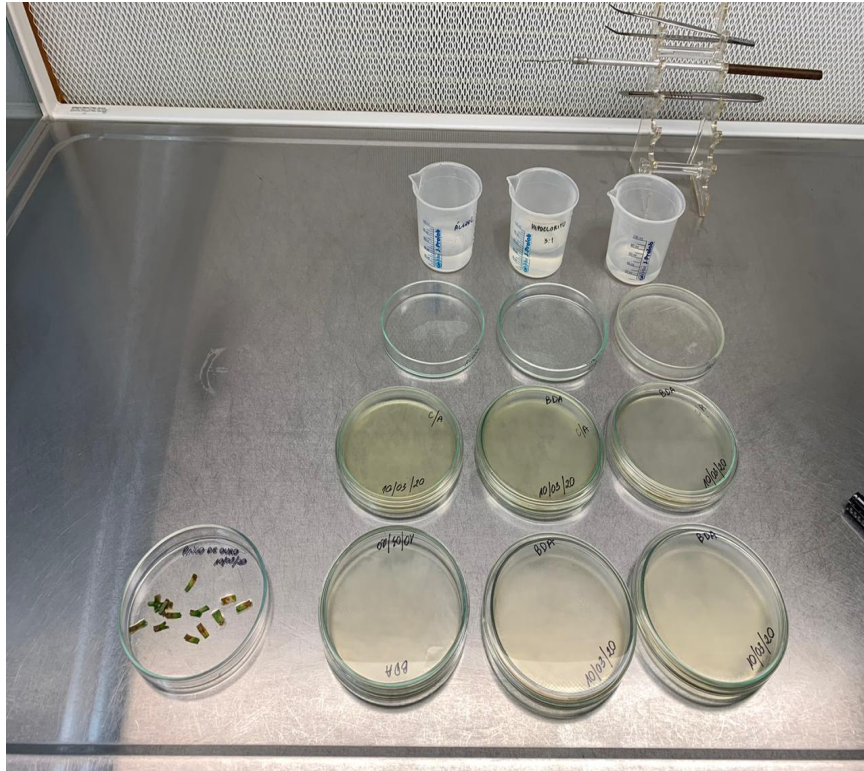


Figura 6 Material dentro da câmara de fluxo pronto para isolamento.

Os fragmentos da primeira folha foram colocados com o auxílio de uma pinça, durante um minuto na placa de Petri contendo álcool. Em seguida, os fragmentos foram transferidos para a segunda placa, contendo hipoclorito de sódio, por um minuto. Por fim os fragmentos foram levados para a terceira placa contendo apenas ADE apenas por alguns segundos.

Em seguida, os fragmentos foram secos em papel guardanapo e foram colocados quatro fragmentos de maneira equidistante em três placas de petri, onde duas continha apenas meio BDA (Batata Dextrose Agar) e a terceira continha meio BDA com antibiótico. O mesmo procedimento foi realizado com os fragmentos da segunda folha. Por fim, todas as placas de petri contendo fragmentos foram lacradas com fita para evitar a entrada de microorganismos.

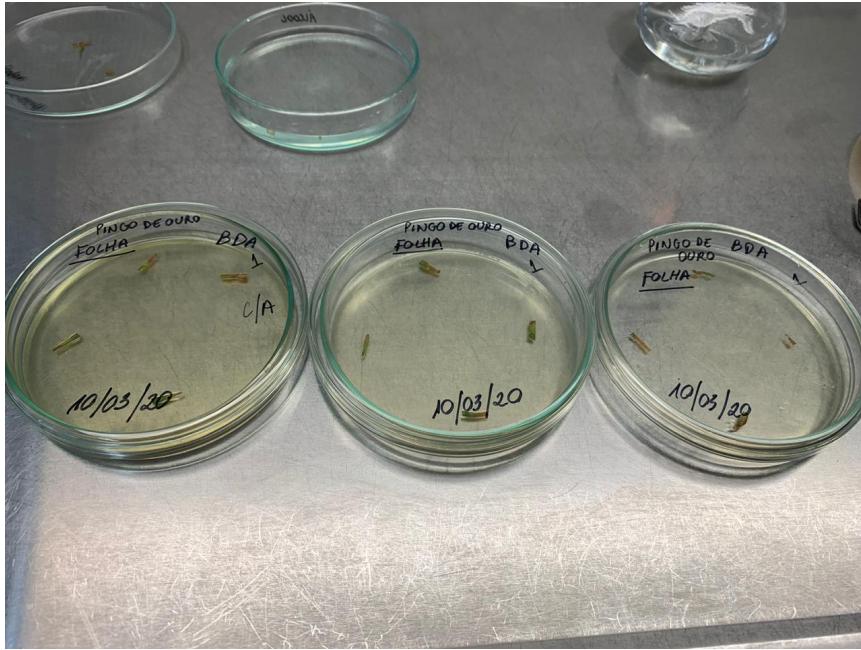


Figura 7 Fragmentos de *Duranta repens* dispostos de forma eqüidistante em placas com meio BDA.

3. Isolamento de fungo em fruto de Jaqueira (*Artocarpus heterophyllus*)

A amostra foi trazida do agreste de Pernambuco por um pequeno produtor que alegava problemas de doenças em seu sítio.



Figura 8 Polpa de jaca contaminada.

A amostra foi recebida e foram recortados fragmentos das áreas de transição dos sintomas (região entre o tecido sadio e o tecido doente), local esse onde está ocorrendo o desenvolvimento do fitopatógeno. Após o recorte, os fragmentos foram higienizados em ADE (água destilada estéril) para retirar superficialmente impurezas. Em seguida, foi preparado ADE (20ml), álcool (20ml álcool + 20ml ADE) e hipoclorito de sódio (20ml hipoclorito de sódio + 20l álcool + 20ml ADE) em três beakers distintos e estes foram vertidos separadamente em pequena quantidade em três placas de Petri. Os fragmentos da amostra foram postos inicialmente por um minuto na placa com álcool. Em seguida foram transferidos para a placa com hipoclorito por mais um minuto e, por fim, ficou durante alguns segundos na placa contendo apenas ADE.

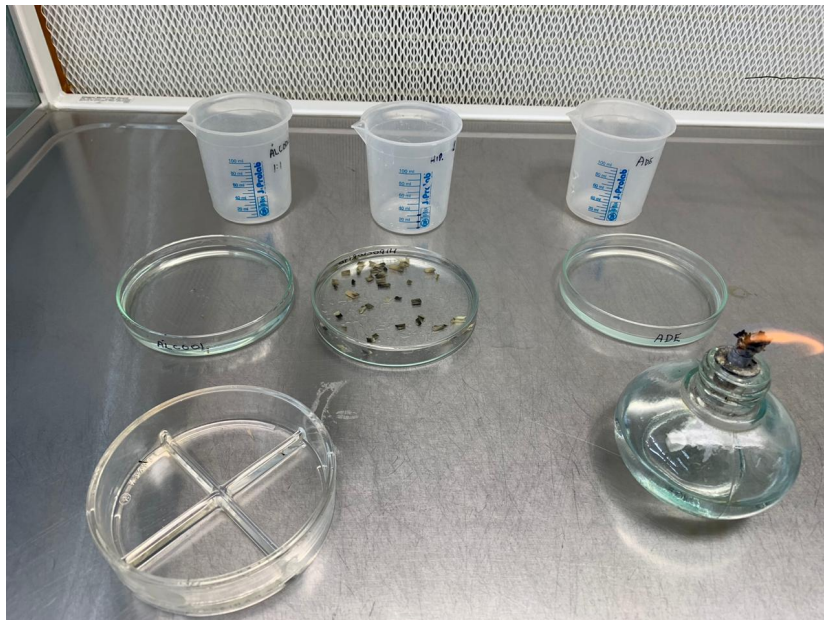


Figura 9 Fragmentos da polpa de jaca em placa com hipoclorito de sódio.

Posteriormente foram postos em papel filtro para retirar o excesso de umidade e logo após foram colocados em quatro placas de petri distintas, contendo meio BDA com antibiótico penicilina. Em cada placa de Petri foram colocados quatro fragmentos de forma equidistante. Após realizado este procedimento, as placas foram vedadas com fita e colocadas em bancada para esperar o crescimento do fungo.

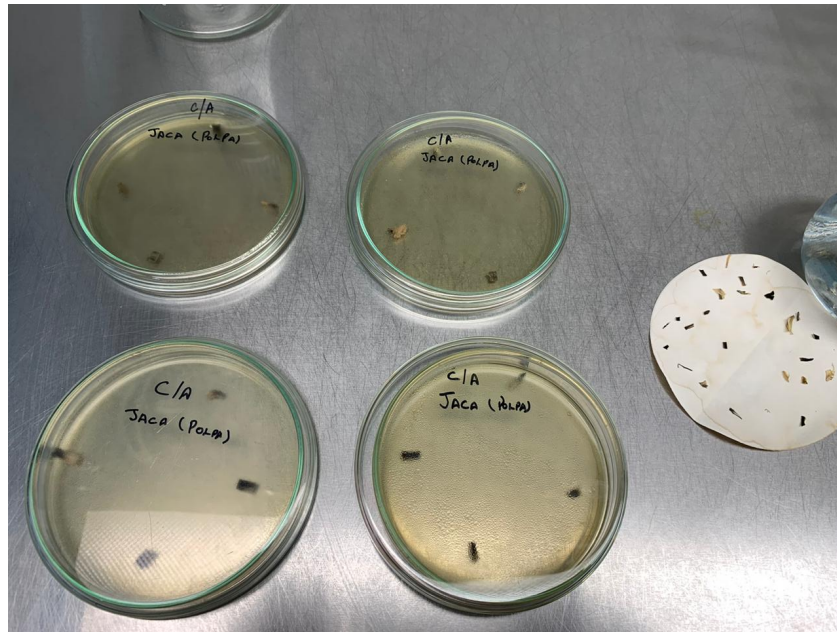


Figura 10 Fragmentos da polpa de jaca dispostos de forma equidistantes em placa contendo meio BDA com antibiótico.

4. Extração de Nematóides - Método de Jenkins

Os nematoides fitoparasitas (ou fitonematoides) são vermes microscópicos que habitam o solo e atacam as plantas (geralmente as raízes ou outros órgãos subterrâneos), causando sérios danos às culturas agrícolas e acarretando prejuízos econômicos ao produtor rural (GOULART, 2010). Dentre os métodos de extração existentes, o "Método de Jenkins" (ou "método do peneiramento e flutuação em centrifuga") é o método mais utilizado para realizar o processo de extração desses vermes.

Para realizar a extração de nematoides, inicialmente foi utilizado aproximadamente 300 cc de solo coletado no IPA em Recife. Esse solo foi posto em um becker de 1L onde foi acrescentado posteriormente 600ml de ADE.

Figura 11.A

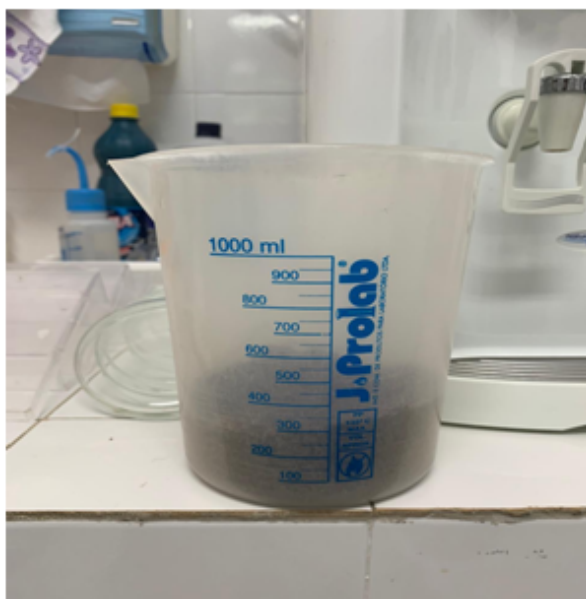


Figura 11.B



Figura 11 (A) e (B) mostram 300 centímetros cúbicos de solo coletado no IPA-Sede.

A amostra foi misturada manualmente com o auxílio de um bastão durante um minuto e em seguida esperou-se a mesma decantar completamente. Após decantar, o sobrenadante da amostra foi vertido em três peneiras, uma sobre a outra, onde a primeira peneira possuía 60 mesh, a segunda 200 mesh e a terceira 400mesh. Ao passar pela peneira de 200 mesh, foi coletado 50ml de amostra em um tubo de ensaio para que, em caso de acidente, houvesse ainda amostra a ser utilizada. Na peneira de 400 mesh foi lançado um pequeno jato de água para que os nematóides retidos na mesma fossem transferidos para um novo becker.



Figura 12 Peneiras de 60, 200 e 400 meshes.



Figura 13 Mistura manual do solo com ADE.

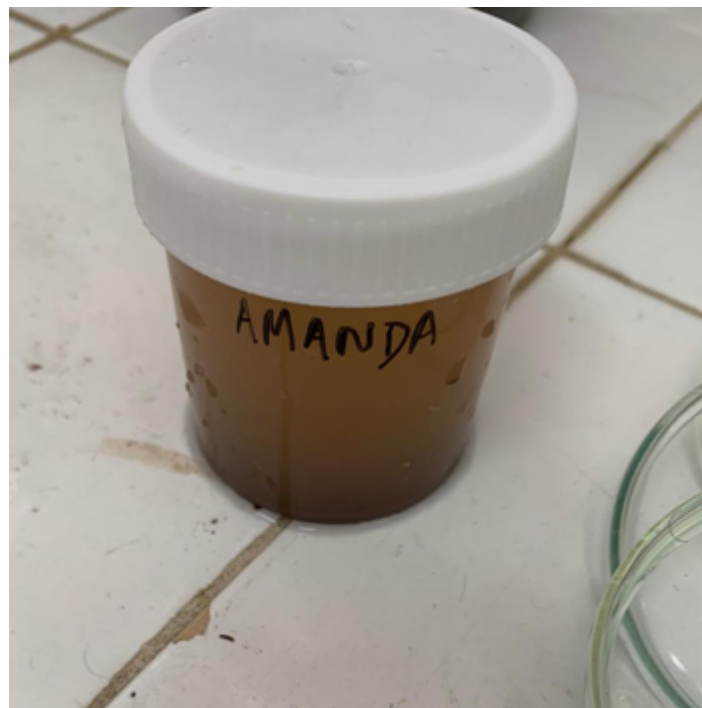


Figura 14 50ml da amostra reservada.

Em seguida a suspensão obtida foi transferida para um tubo de ensaio e esperou-se um tempo até que a amostra decantasse. Após decantada, a amostra foi levada para uma centrífuga, onde permaneceu por um minutos em 1.400 rpm.

Finalizado o tempo, a amostra foi retirada e aproximadamente 20ml do sobrenadante foi retirado. Foi adicionado 10ml de sacarose a 1M ao "pellet" e novamente a amostra foi levada à centrifuga, dessa vez, por apenas um minuto em 1.400 rpm. Em seguida, a amostra foi vertida em uma peneira de 200mesh e os nematoides que ficaram retido na peneira de 400mesh foram "lavados" com um fino jato d'água e coletados em um frasco, estando prontos para visualização microscópica.

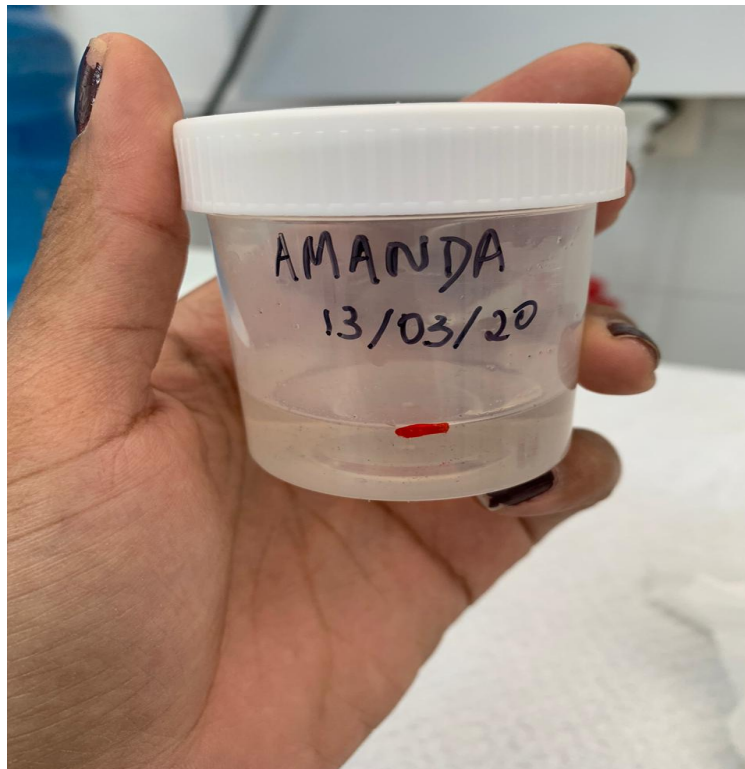


Figura 15 Amostra finalizada, pronta para visualização microscópica.

5. Visualização microscópica de estrutura fúngica.

Foram separadas algumas placas previamente preparadas, para visualização de algumas estruturas fúngicas. Os fungos observados foram: *Penicillium sp.* onde foi possível observar as hifas septadas, a fiálide e os conídeos. *Fusarium sp.*, *Colletotrichum sp.*, *Lasiodiplodia sp.*, *Phomopsis sp.* e *Aspergillus sp.*

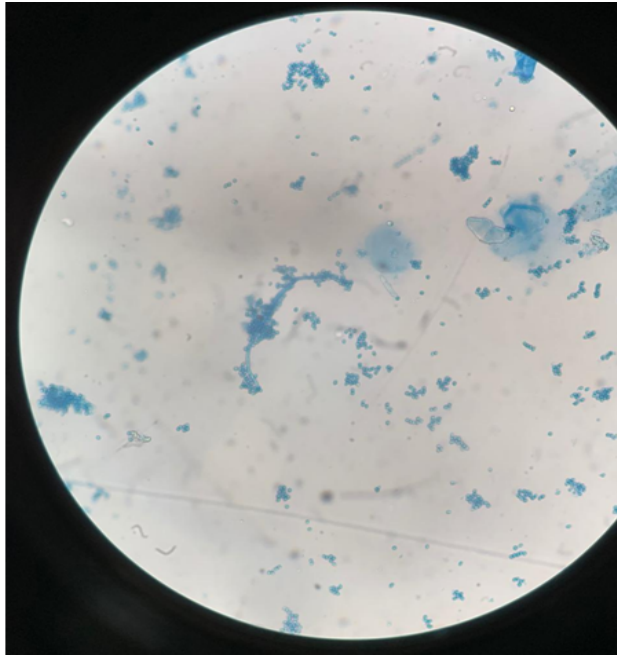


Figura 16 Visualização microscópica das estrutura do fungo *Penicillium sp.*

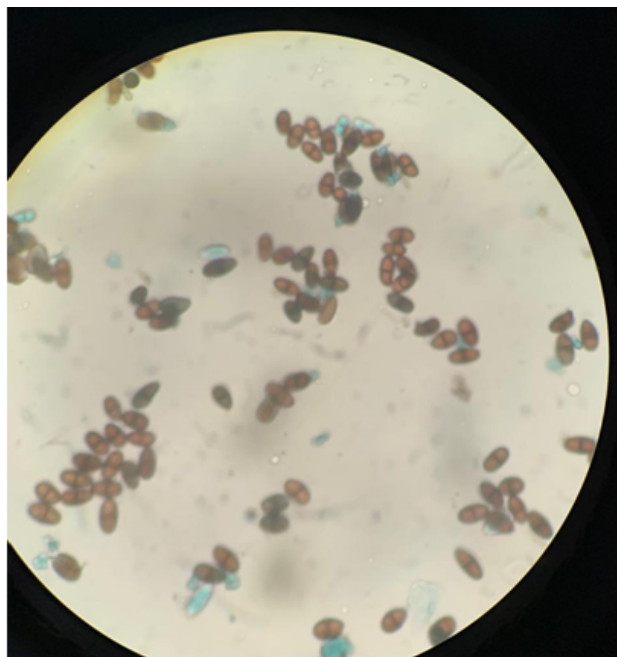


Figura 17 Visualização microscópica das estrutura do fungo *Lasiodiplodia sp.*

Posteriormente foi utilizada uma placa com o fungo obtido através de uma amostra de palmeira majestosa (*Ravenea rivularis*), para a preparação de placas para visualização.



Figura 18 Material pronto para preparação de placas.

Com o auxílio de uma alça de flambada, foi pega uma pequena quantidade do micélio do fungo. Esse micélio foi depositado em uma placa de vidro e em seguida foi posto sobre o mesmo uma gota do corante Lactofenol de Amann, este utilizado para colorir os esporos e micélios de fungos hialinos, para que fosse possível sua visualização no microscópio.

6. Visita técnica ao Sítio Agroecológico Serra Azul

O Sítio Agroecológico Serra Azul encontra-se no município de Gloria do Goitá - PE, à aproximadamente 46km de Recife. A propriedade pertence a um pequeno produtor que faz cultivo orgânico de diversas frutas, hortaliças e grãos, como a alface crespa (*Lactuca sativa var. crispata*), feijão (*Phaseolus vulgaris*, coentro (*Coriandrum sativum*), acerola (*Malpighia glabra*), etc.



Figura 19 Cultivo de alface crespa (*Lactuca sativa var. crispata*)

A produção obtida era destinada à sua alimentação familiar, alimentação animal e venda em feiras no próprio município e também em Recife. Na propriedade foi possível observar a produção de biofertilizantes onde o produtor os utiliza como adubação em suas produções. Esses biofertilizantes são produzidos em um biodigestor caseiro, onde nele o produtor depositava dejetos de animais como galinhas e cabras. Os dejetos eram colocados no biodigestor juntamente com água e depois tampados, com isso, eram decompostos através de bactérias anaeróbicas, produzindo assim o biofertilizante e gás metano, que era liberado por uma pequena tubulação feita por um cano sendo também utilizado pelo produtor.



Figura 20 Produção de biofertilizante em biodigestor caseiro.

Foram visualizadas algumas culturas com sintomas aparentemente de doenças e estas foram coletadas e armazenadas em caixas de isopor e levadas ao laboratório para futura análise. As culturas que mais apresentaram sintomas foram o sorgo (*Sorghum bicolor*), feijão e noni (*Morinda citrifolia* L). Além destas, também foram observados sintomas de doenças nas culturas do cafeeiro (*Coffea* sp.), coqueiro (*Cocos nucifera*) e em algumas palmeiras utilizadas como ornamentação.



Figura 21 Panícula do sorgo (*Sorghum* sp.)



Figura 22 Visualização de sintomas de estria vermelha em Sorgo (*Sorghum* sp.)

ATIVIDADES REALIZADAS NO ESTÁGIO REALIZADO NO PROGRAMA DE MELHORAMENTO DE PIMENTEIRAS ORNAMENTAIS

1. Avaliação de caracteres morfológicos de genótipos de pimenteira.

Foram realizadas as avaliações de características morfológicas, de caráter qualitativo e quantitativo de 20 genótipos de plantas, as quais são oriundas do experimento do doutorando Jackson da Silva. Esses genótipos foram cultivados utilizando o delineamento experimental denominado DBC (Delineamento em Blocos Casualizados). O delineamento experimental é o planejamento utilizado na experimentação, por meio do qual os tratamentos serão atribuídos às parcelas, ou seja, a estratégia como os tratamentos serão distribuídos (SILVA, et al. 2018). Trata-se da estratégia de como estimar a influência dos tratamentos e dos fatores não controláveis ou erro experimental (VIVALDI, 1999). O experimento foi formado por quatro blocos e cada bloco foi constituído de 20 parcelas. Silva et al. 2018 explica que parcela é a unidade que vai receber o tratamento e fornecer os dados que deverão refletir o seu efeito. Dessa forma, uma planta, um vaso com plantas ou uma área de terreno com plantas, podem ser utilizadas como unidades experimentais num estudo de melhoramento. Cada parcela era formada por 6 plantas de um único genótipo.

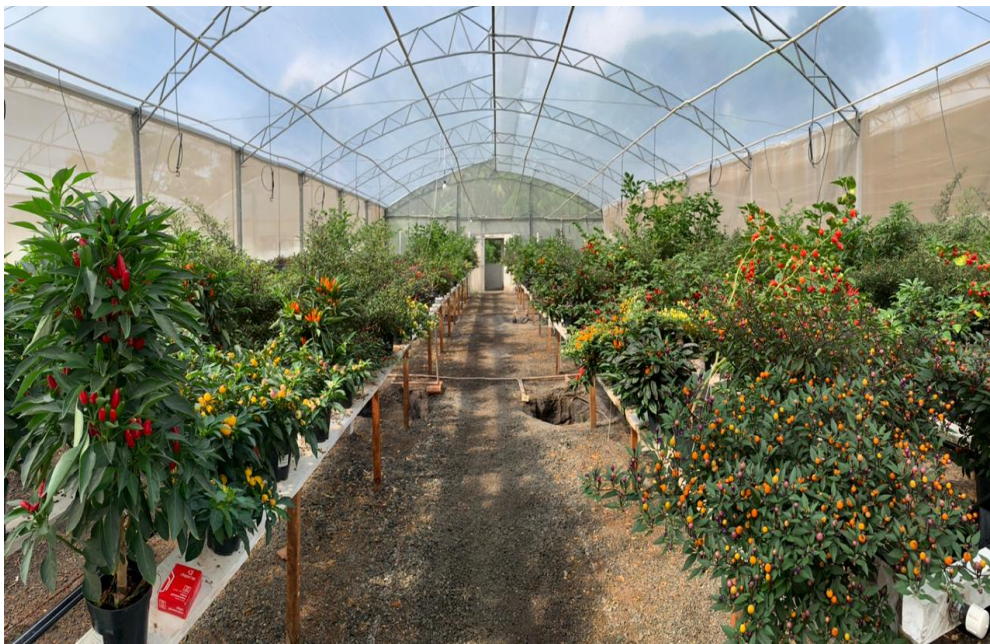


Figura 23 Casa de vegetação com o experimento de pimenteiras.

De cada parcela foram selecionadas três plantas das linhas internas - evitando retirar as plantas das bordaduras - para realizar a avaliação dos caracteres previamente definidos. Das três plantas selecionadas por genótipo foram retirados os três melhores frutos considerados dentro do padrão de cada planta, e estes eram separados para fazer a avaliação dos caracteres. No total, eram retirados nove frutos padronizados por parcela e destes eram avaliadas as seguintes características: comprimento do pedúnculo, comprimento do fruto, espessura do pericarpo, comprimento da placenta, maior diâmetro do fruto, menor diâmetro do fruto e número de lóculos.



Figura 24 Avaliação do comprimento do fruto.



Figura 25 Avaliação da espessura do pericarpo.

Além desses, também se avaliou o número total de frutos (das três plantas selecionadas) e o número total de sementes (dos nove frutos), ambos retirados e contabilizados manualmente.



Figura 26 Contagem manual do número de sementes dos nove frutos selecionados.

2. Retirada de Frutos de Cruzamentos.

Foram cruzados previamente pelo doutorando Jackson da Silva, todos os 20 genótipos entre si. Esses genótipos foram cruzados com a finalidade de se obter híbridos e fazer posteriormente a avaliação das características mencionadas no tópico anterior, e fazer a comparação com seus progenitores. Segundo Borém & Miranda 2013, um híbrido é a progênie produzida pelo cruzamento entre dois genitores geneticamente diferentes. A produção de híbridos e o seu grande desempenho está relacionado com sua heterose. A heterose é o fenômeno pelo qual os filhos apresentam melhor desempenho (mais vigor ou maior produção) do que a média dos pais (VERNEQUE et al.).



Figura 27 Fruto obtido do cruzamento dos genótipos 410x435. O Genótipo 435 foi utilizado como progenitor feminino .

Foi realizada a retirada dos frutos obtidos dos cruzamentos; estes foram separados e suas sementes recolhidas e armazenadas para serem semeadas e posteriormente ser possível fazer a avaliação dos híbridos já desenvolvidos.



Figura 28 Fruto obtido do cruzamento dos genótipos 410x416. . O Genótipo 416 foi utilizado como progenitor feminino

3. Autofecundação de genótipos.

As pimenteiras são plantas autógamas, ou seja, aquelas que realizam preferencialmente autofecundação (acima de 95%). A autofecundação ocorre quando o pólen (gameta masculino) fertiliza um óvulo (gameta feminino) da mesma planta (BESPALHOK). O processo de autofecundação foi realizado em todos os 20 genótipos do experimento afim de multiplicar sementes e aumentar o nível de homozigose das linhagens. Neles, foram realizados os processos de desbaste de frutos e botões florais, afim de estimular a produção de novas flores.



Figura 29 Desbaste de frutos e flores.

Em seguida, todas as plantas desbastadas foram cobertas com um saco de organza e prendidas em sua base com um cordão para assegurar que o saco não saísse, afim de impedir que a planta recebesse pólen de um outro genótipo, garantindo assim a autofecundação.



Figura 30 Cobertura das plantas com sacos de organza.

4. Cruzamento genético dos genótipos.

Após o processo de retirada de frutos, foi realizado a retirada de sementes para futura semeadura dos híbridos. No entanto, alguns cruzamentos obtiveram um número de sementes inferior à 100 (eram necessárias 50 sementes para fazer o plantio e mais 50 para deixar como garantia), fazendo com que estes cruzamentos tivessem de ser refeitos. Os cruzamentos refeitos foram: 403x407, 403x410, 404x408, 404xCNDS, 407x410, 407x411, 407xCNDS, 408x410, 408x416, 408x435, 408x CNDS e 410x CNDS. Para realizar o cruzamento, inicialmente eram coletadas flores contendo pólen do progenitor feminino.



Figura 31 Flor do genótipo 403 utilizada como progenitor masculino.

Esse material era colocado em um copo plástico e tampado para evitar mistura de material de outros genótipos. Em seguida, eram observados no progenitor masculino botões florais em tamanho de abertura, no entanto, ainda fechados.

Com o auxílio de uma pinça, foi realizada a retirada das pétalas e em seguida o processo de emasculação, retirando cuidadosamente as anteras do botão, evitando danificar ou retirar o estigma e assim comprometer o cruzamento.



Figura 32 Retirada das pétalas para abertura do botão.

Em seguida, foi realizado o processo de polinização, passando cuidadosamente as anteras com pólen da flor do progenitor masculino no estigma do botão do progenitor feminino. Feito isto, foi posta uma etiqueta no botão floral afim de identificar posteriormente o fruto obtido do cruzamento; por fim, o botão foi coberto com uma pequena cápsula de papel alumínio para garantir que o botão não recebesse pólen de um outro genótipo, ou até mesmo do seu próprio e sim, que recebesse apenas do progenitor masculino selecionado.



Figura 33 Inserção da etiqueta e cápsula de papel alumínio.

Todo este procedimento era realizado até as 10h da manhã afim de evitar horários mais quentes e uma possível interferência da alta temperatura na fecundação dos grãos de pólen.

5. Manejo dos genótipos

Todas as pimenteiras tiveram seu desenvolvimento conduzido em casas de vegetação. Estas foram cultivadas em vasos plásticos e utilizando o pó de coco como substrato. O pó da casca de coco é o material residual do processamento da casca de coco maduro para obtenção da fibra longa. Atualmente, o resíduo ou pó da casca de coco maduro tem sido indicado como substrato agrícola, principalmente por apresentar uma estrutura física vantajosa proporcionando alta porosidade, alto potencial de retenção de umidade e por ser biodegradável (ROSA et al, 2001).

O pó de coco utilizado não possuía nutrientes, por isso, aproximadamente duas vezes por semana era produzido uma solução nutritiva para irrigar as plantas. A solução era composta por: 4000g de cálcio (nitrato de cálcio), 3000g de Drip, 1500g de magnésio,

150g de ferro, 150g de micronutrientes e 2g de boro. Esses elementos eram pré-dissolvidos em um pequeno balde e quando prontas, a solução era despejada em uma caixa d'água de mil litros, onde era feita a mistura manual da solução para que ocorresse a homogeneização.



Figura 34 Caixa d'água com solução nutritiva.

O sistema de irrigação das casas de vegetação eram por gotejamento e a fertirrigação era realizada em um sistema fechado, visto que nesse tipo de sistema, o excesso de solução aplicado é recuperado e reaplicado (WAMSER, 2016). A fertirrigação era programada automaticamente por meio de um temporizador digital.



Figura 35 Temporizador digital.

Antes de ligar o sistema, era instalado um manômetro na tubulação para verificar a pressão com que a solução estava circulando no sistema. A pressão no manômetro era deixada em 1,0 kPa.



Figura 36 Instalação do manômetro para aferição da pressão.

Ao acabar a solução preparada, deixava-se as plantas sendo irrigadas apenas com água por um dia, no dia seguinte, com a solução já pronta, era retomado a fertirrigação normalmente.

O processo de poda também foi um dos manejos realizados. Segundo Inglez de Souza 1986, os sete objetivos principais da poda são: modificar o vigor da planta; produzir mais e melhor fruta; manter a planta com um porte conveniente ao seu trato e manuseio; modificar a tendência da planta em produzir mais ramos vegetativos que frutíferos ou vice-versa; conduzir a planta a uma forma desejada; suprimir ramos supérfluos, inconvenientes, doentes e mortos; regular a alternância das safras, de modo a obter anualmente colheitas médias com regularidade.

Com isso, realizou-se a poda em plantas que estavam com estatura muito grande afim de reduzir seu porte e também em plantas que estavam com poucos frutos e/ou botões, afim de estimular uma futura maior produção de flores e frutos.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A realização do Estágio Supervisionado Obrigatório - ESO no Instituto Agrônomo de Pernambuco - IPA foi uma grande satisfação, pois pude vivenciar algumas experiências até então não realizadas dentro da universidade e pude recordar procedimentos já vistos na mesma.

O laboratório de fitopatologia me permitiu aumentar meus conhecimentos sobre fitopatógenos e o que eles podem causar de benefícios e malefícios nas plantas. Foi possível realizar no mesmo práticas de que estou ciente que me será muito útil no meio profissional. As doenças de plantas são problemas muito comuns no campo, e por isso é primordial o conhecimento de qual microrganismo está sendo o agente causal da doença, além de saber forma de como combatê-los.

Além disso, o laboratório juntamente com pessoas da área da extensão, me proporcionou uma experiência maravilhosa ao realizar a visita ao Sítio Agroecológico Serra Azul. Lá, foi possível ver como ocorre a produção de produtos orgânicos e observar como é a realidade de pequenos produtores no dia a dia, sendo que são estes os maiores responsáveis por levar alimento à mesa dos brasileiros.

No programa de melhoramento de hortaliças foi possível aprender na prática a importância do melhoramento genético na agricultura. Lá, pude vivenciar o processo de melhoramento de pimenteiros como ornamentação, o que foi algo fantástico visto que havia um maior conhecimento pessoal sobre melhoramento de espécies para consumo, no entanto, pouco conhecimento no ramo de espécies para ornamentação.

No mais, sei que a experiência de realização do ESO no IPA me agregou conhecimentos que me ajudarão bastante em minha vida profissional como Agrônoma.

BIBLIOGRAFIA

- BESPALHOK, F. et al. **Sistemas Reprodutivos de Plantas Cultivadas**. Disponível em: <<http://www.bespa.agrarias.ufpr.br/paginas/livro/capitulo%204.pdf>> Acesso em: 19 de outubro de 2020.
- BESPALHOK, F.; GUERRA, E.P. **HÍBRIDOS EM ESPÉCIES AUTÓGAMAS**. Disponível em: <<http://www.bespa.agrarias.ufpr.br/paginas/livro/capitulo%209.pdf>> Acesso em: 19 de outubro de 2020.
- BORÉM, A.; MIRANDA, G.V. **Melhoramento de Plantas**. Editora UFV. 6º ed. 2013. p. 368.
- CAROLLO, E.M.; FILHO, H.P.S. **Manual Básico de Técnicas Fitopatológicas**. EMBRAPA. Brasília, 2016. 1º ed. p.12.
- CIÊNCIA HOJE. **Fungos: Amigos ou inimigos?** vol. 42. nº 252 p. 64-66. Disponível em: <https://labs.icb.ufmg.br/leeb/publicacoes/Oki_et_al_2008.pdf> Acesso em: 19 de outubro de 2020.
- EMBRAPA. **Frutas e Hortaliças**. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/grandes-contribuicoes-para-a-agricultura-brasileira/frutas-e-hortalicas>> Acesso em 19 de outubro de 2020.
- GOULART, A.M.C. **Análise Nematológica: importância e princípios gerais**. EMBRAPA. Planaltina. jul, 2010. p. 01
- INGLEZ de SOUZA, J. S., **Poda das Plantas Frutíferas**. São Paulo: Nobel, 1986, 224 p.: il.
- MELLO, S.C.M. et al. **Manual de Curadores de Germoplasma - Micro-organismos: Fungos Filamentosos**. Brasília. 2010. (Documentos / Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 335; Documentos / Embrapa Hortaliças, 134).
- MICHEREFF, S.J. **Fundamentos de Fitopatologia**. UFRPE. Recife, 2001. p. 24-133.
- NETO, F.C.V. et al. **O Melhoramento Genético no Contexto Atual**. Embrapa Agroindústria Tropical. Fortaleza. 2009. p- 61.

- POEHLMAN, J. M.; SLEPER, D. A. **Breeding field crops**. Iowa State University Press, Ames, 1995. 417p.
- ROSA, M.F. et al. **CARACTERIZAÇÃO DO PÓ DA CASCA DE COCO VERDE USADO COMO SUBSTRATO AGRÍCOLA**. 2001. (Comunicado Técnico Embrapa Agroindústria Tropical Nº 54) p. 2-4. Disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/CNPAT-2010/5862/1/Ct-054.pdf>> Acesso em: 19 de outubro de 2020.
- RURAL CENTRO. **Doenças nas Plantas**. Disponível em: <<https://www.ruralcentro.com.br/analises/doencas-nas-plantas-6154>> Acesso em: 14 de outubro de 2020.
- SILVA, C.B.M.C. et al. **Melhoramento de Plantas: variabilidade genética, ferramentas e mercado**. SBMP. Brasília. 2018. p
- SILVA, D. **Fitopatologia – O que é, histórico e importância**. 2014. Disponível em: <<https://www.estudopratico.com.br/fitopatologia-o-que-e-historico-e-importancia/>> Acesso em: 14 de outubro de 2020.
- VERNEQUE, R.S. et al. **Heterose ou Vigor Híbrido**. EMBRAPA. Disponível em: <http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Agencia8/AG01/arvore/AG01_234_21720039248.html> Acesso em: 20 de outubro de 2020.
- VIVALDI, L. J. **Análise de experimentos com dados repetidos ao longo do tempo ou espaço**. Planaltina: Embrapa Cerrados, 1999.
- WAMSER, A.F. **Oculto e Agressivo**. Revista Cultivar: Hortaliças e Frutas. dez, 2016. p. 17.
- ZAUZA, E. A. V, ALFENAS, A. C.; MAFIA, R. G. **Esterilização, preparo de meios de cultura e fatores associados ao cultivo de fitopatógenos**. In: ALFENAS, A. C.; MAFIA, R. G. (Ed.). Métodos em fitopatologia. Lavras: UFV, 2007. p. 23-51.