

Melhoramento genético de aspargo no brasil: avanços e perspectivas.

Eliane Augustin¹

Introdução

O aspargo (*Asparagus officinalis* L.) é uma espécie nativa do leste do Mediterrâneo e da Ásia Menor. Introduzido no Brasil na década de 1930, por iniciativa do Engº. Agrº. Oscar Rheingantz, industrial e produtor, estabeleceu-se no município de Pelotas, Rio Grande do Sul, adotando-se práticas culturais e cultivares usadas na Europa. Posteriormente, passaram a ser introduzidas, também, cultivares americanas, sempre por iniciativa das indústrias alimentícias locais, que, há alguns anos, constituíram o maior parque de indústrias de alimentação do Brasil. O objetivo principal do cultivo do aspargo era a obtenção de matéria-prima (turiões brancos) para processamento. As lavouras ocupavam áreas entre 0,5 e 1,0 hectare, sendo exploradas, basicamente, pelo núcleo familiar. Na década de 1970, foram estabelecidas lavouras exploradas diretamente pelas indústrias, que atingiram áreas de até cerca de 150 hectares. Em 1979, foi introduzido no Nordeste do País e no norte de Minas Gerais.

Em levantamento efetuado, em 1979/80, pela então UEPAE de Cascata, atual Centro de Pesquisa Agropecuária de Clima Temperado (CPACT), da EMBRAPA, e pela EMATER-RS, no município de Pelotas, constatou-se que as cultivares mais usadas eram denominadas “Comum” (41%), “Washington” (31%), Gigante (15%), “Crioulo” (1%). Em 12% das lavouras, era desconhecida a cultivar utilizada. As sementes, colhidas em lavouras comerciais e semeadas sem inspeção, eram portadoras de doenças e apresentavam baixo poder germinativo. Portanto, o que se denominava de cultivar, não passava de uma população de plantas com grande heterogeneidade entre seus indivíduos, dada a condição de dioecia apresentada pela espécie (OLIVEIRA e BIANCHINI, 1982).

Adaptação de cultivares

As primeiras informações encontradas sobre a adaptação de cultivares, no Brasil, se referem à competição entre cinco genótipos de diversas procedências, efetuada por CAMARGO (1968), em São Paulo, indicando que, no quarto ano de colheita, a maior produção foi atingida pela cultivar Giant Washington. Alguns anos após, OLIVEIRA (1976) avaliou, em Pelotas, RS, treze genótipos procedentes da Rutgers University, New Jersey, EUA (New Jersey 220 e New Jersey 221), da University of Minesota, EUA (Waltham Washington, Robert's Super Strain, Faribo F₁ e (4-5)x(3-9) F₁), da Ferry-Morse Seed Co., EUA (Mary Washington 500 W), da L. Clouse, França (D'Argenteuil Hative), da University of California, EUA (U.C. 66, U.C. 72 e U.C. 309), da Alemanha, através da Helomar S.A. Indústria de Alimentação (Huschell) e de produtores de Pelotas

¹ Pesquisador da Embrapa Clima Temperado. C. P. 403, 96001-970 – Pelotas, RS. Fax: (0532-758220).

E-mail: augustin@cpact.embrapa.br

(provavelmente constituída por cruzamentos naturais entre Mary Washington, D'Argenteuil e Martha Washington, cultivadas na região). As cultivares New Jersey 220, New Jersey 221 e Waltham Washington apresentaram as maiores produtividades, enquanto as mais baixas foram registradas em U.C. 66, Huschell, U.C. 72 e U.C. 309. New Jersey 220 apresentou acréscimos de produção de cerca de 30% quando comparada com as demais, sendo a produção crescente até atingir seu ponto máximo em torno do quinto ano de colheita, quando passou a decrescer. Com base nestes resultados, foi então iniciado um programa de produção de sementes de New Jersey 220 (OLIVEIRA *et al.*, 1981), que foram distribuídas a produtores da região, chegando a ocupar mais de 50% da área plantada no Rio Grande do Sul. Posteriormente, esta cultivar foi introduzida pelo Centro de Pesquisa Agropecuária do Trópico Semi-Árido (CPATSA), no Nordeste do País, na região do Vale do São Francisco, onde empresários locais têm testado, também, outras cultivares, como U.C. 157, U.C. 711 (D'OLIVEIRA, 1992; AUGUSTIN *et al.*, 1993), U.C. 72 (D'OLIVEIRA, 1992) e Cipres.

Com base nos resultados obtidos por OLIVEIRA (1976), nas semelhanças observadas entre as condições climáticas existentes em Pelotas e New Jersey, e na constatação da ocorrência de *Fusarium moniliforme* (WETZEL, 1973), além de *F. oxysporum*, *F. roseum* e *F. solani* em lavouras da região produtora (CASTRO, 1979), foram adquiridos genótipos de aspargo tolerantes à fusariose desenvolvidos na Rutgers University, pela UEPAE de Cascata. Estes genótipos foram incluídos em um Banco Ativo de Germoplasma de Aspargo (BAG-Aspargo), avaliados em competições de cultivares e híbridos, e utilizados para realização de cruzamentos e outras atividades do programa de melhoramento que passou a ser então desenvolvido no CPACT. A ocorrência de fusariose em aspargo cultivado na região do Vale do São Francisco, relatada por TAVARES *et al.* (1997), foi inicialmente observada por Couto (comunicação pessoal), na Clínica Fitossanitária da EMATER-RS/EMBRAPA-CPACT, em amostras de turiões, aranhas e base das hastes de plantas, coletadas em lavouras de produtores. Em cladódios coletados em 1991, foi constatada a ocorrência de cercosporiose (EMATER-RS, 1991 e 1996).

OLIVEIRA *et al.* (1982 e 1984) avaliaram o comportamento de três híbridos dióicos, originados por "policross" (New Jersey 220, Rutgers Beacon e Robert's Super), 59 híbridos dióicos, originados por cruzamentos simples entre plantas masculinas e femininas e 30 híbridos constituídos apenas por plantas masculinas, originados por cruzamentos simples entre fêmeas selecionadas e supermachos, em Pelotas, RS. Concluíram que híbridos constituídos apenas por plantas masculinas, originadas por cruzamentos simples entre o supermacho 22-8 e as fêmeas G27, 47 e Md 10, poderiam ser introduzidos na região produtora do Rio Grande do Sul, proporcionando aumentos em produtividade e qualidade de turiões brancos. Isto não se verificou, no entanto, devido ao alto custo da semente importada e por não terem sido disponibilizadas as plantas matrizes, inviabilizando a produção de sementes no país. Estes híbridos, no entanto, serviram como base para desenvolvimento de outras atividades do programa de melhoramento do CPACT.

O comportamento de doze híbridos dióicos, originados por cruzamentos simples entre a planta macho 14 e doze fêmeas G e W, também procedentes de New Jersey, foi avaliado, durante oito anos de colheita, em Pelotas, RS (EMBRAPA-CNPFT, 1991). Destacou-se G27x14, lançado pelo CPACT em 1996, como EMBRAPA 72 – Deco. Apresenta produtividade média de turiões

comercializáveis de cerca de 4.000 kg/ha, atingindo, no quinto ano de colheita, 7.500 kg/ha, o que significa acréscimos de 30 a 40% sobre as médias obtidas com as testemunhas Waltham Washington e New Jersey 220. Também apresenta boa qualidade, representada por acréscimos de 50 a 60% sobre a produtividade de turiões de primeira qualidade (diâmetro superior a 13 mm) das testemunhas, e excelentes características para industrialização no que se refere ao sabor, aparência e textura (EMBRAPA-CPACT, 1996).

Os mesmos genótipos foram avaliados, também, em Pernambuco e em Minas Gerais. Em Petrolina, PE, G101x14, G21x14 e G10x14 apresentaram as maiores produções por planta, no primeiro ano de colheita (ALBUQUERQUE e OLIVEIRA, 1980). Em Porteirinha, MG, em quatro anos de avaliação, as maiores produtividades foram atingidas pelos híbridos G10x14, G21x14 e G101x14 e pelas cultivares New Jersey 220 e Waltham Washington (MARCIANI-BENDEZÚ *et al.*, 1993 e 1995).

Em experimentos instalados em Pelotas, RS, comparações entre híbridos “persistent green” (V15x50-9, 61x50-9, V15x50-10, 61x50-10, V15x50-2 e 61x50-2) e as cultivares Jersey Centennial e Rutgers Synedecor 2, também introduzidos de New Jersey, em seis anos de colheita, permitiram concluir que todos genótipos apresentaram boa qualidade de turiões, mas as produtividades foram baixas, não permitindo sua indicação para cultivo no Rio Grande do Sul. O mesmo foi verificado em competição entre híbridos tolerantes à fusariose (27x22-8, 32x22-8, 56x22-8 e 51x22-8) e as cultivares Jersey Centennial e Rutgers Synedecor 2 (EMBRAPA-CNPFT, 1991).

Boa qualidade de turiões, mas baixas produtividades foram, também, verificadas em Pelotas, RS, em competição entre híbridos duplos (Minerve, Diane, Larac, Junon, Mira e Steline) desenvolvidos no Institut National de la Recherche Agronomique (INRA), França. Híbridos clonais (Cito, Larac, Desto, Aneto e Bruneto), também desenvolvidos no INRA, e seleções (Darbonne 4 e Darbonne 3) cultivadas na França, apresentaram baixas produtividades de turiões de qualidade inferior, quando comparados com New Jersey 220, em três anos de avaliação (EMBRAPA-CNPFT, 1991). O mesmo não foi observado em Petrolina, PE, onde D’ OLIVEIRA e OLIVEIRA (1985) obtiveram, na segunda colheita de dez destes híbridos, produtividades entre 5,5 e 7,1 t/ha, indicando a viabilidade técnica da cultura naquela região. Em análise conjunta, efetuada após quatro colheita anuais, destacaram-se Aneto, Cito, Larac, Mira e Minerve, com produtividades médias entre 5,5 e 4,8 t/ha. Foram também avaliados os híbridos Junon, Desto, Bruneto, Steline e Diane (D’ OLIVEIRA e OLIVEIRA, 1987).

Banco Ativo de Germoplasma

O BAG-Aspargo, composto por 172 acessos introduzidos de diversas regiões dos Estados Unidos e de países europeus, principalmente, da França, foi implantado em 1980 e mantido em campo experimental do CPACT até 1992. Foram avaliados o número e diâmetro de hastes, vigor e altura de plantas e produção de turiões, estabelecendo-se correlações entre estas variáveis. Comparações foram efetuadas entre duas cultivares e treze híbridos constituídos por plantas pistiladas e estaminadas, ou apenas por plantas estaminadas. No primeiro caso, correlações positivas foram encontradas entre produtividade e demais variáveis, à exceção do número de hastes. Em híbridos constituídos apenas por plantas estaminadas, no entanto, a produção de turiões correlacionou-

se positivamente apenas com o vigor das plantas. Em ambos os casos, o vigor e o número de hastes com diâmetro superior a 8 mm apresentaram a maior contribuição à produtividade (SILVEIRA, 1989; SILVEIRA e AUGUSTIN, 1993).

Padrões isoenzimáticos foram, também, utilizados para caracterização de acessos do BAG-Aspargo (ANDRIOLO, 1984; ANDRIOLO e OLIVEIRA, 1984). Os autores, analisando cladódios plenamente desenvolvidos e gemas da parte apical dos turiões, encontraram grande variabilidade, tanto entre diferentes híbridos, como entre diferentes plantas de um mesmo híbrido. Verificaram que os padrões de peroxidase estão diretamente relacionados com o estágio de desenvolvimento dos tecidos analisados.

Atualmente, os acessos de maior interesse são conservados *in vitro* e/ou em casa de vegetação do CPACT. Nesta, são mantidas, também, plantas das espécies *A. sprengeri* e *A. myersii*.

Desenvolvimento de híbridos

Em comparações entre híbridos originados por cruzamentos entre G17, G22, G23 e G102 x (G27x22-8), G9 e G23 x (V15x50-10), e G29 x (Md10x22-8), desenvolvidos no CPACT, foram observadas excelentes produtividades, destacando-se a produção de turiões comercializáveis de G23 x (27x22-8) e a percentagem de turiões de primeira qualidade de G27 x (Md10x22-8) (EMBRAPA-CNPFT, 1991).

Utilização de técnicas biotecnológicas

As principais finalidades do programa de melhoramento desenvolvido no CPACT envolveram maior produtividade e tolerância à fusariose, aliadas à alta qualidade de turiões. No entanto, em virtude da natureza perene e dióica dessa espécie, tais objetivos tornaram-se difíceis de serem alcançados através de métodos convencionais. Eram necessários quatro anos entre a semeadura e a primeira colheita, tornando prolongado o tempo requerido para a obtenção de resultados. Além disso, o aspargo apresenta baixa taxa de multiplicação vegetativa por fragmentação de gemas, multiplicando-se, basicamente, através de sementes. Estes problemas determinam uma diminuição na produção de sementes de alta qualidade. Portanto, passou-se a utilizar, a partir de 1984, técnicas biotecnológicas, como cultura de meristemas, de anteras e de protoplastos.

A cultura de meristemas teve como finalidade manter germoplasma *in vitro* e propagar, em larga escala, plantas geneticamente idênticas a partir de genótipos selecionados (AUGUSTIN *et al.*, 1990). Vinte e dois acessos do BAG-Aspargo, são ainda mantidos *in vitro* no Laboratório de Cultura de Tecidos do CPACT. As matrizes G27 e 14 foram multiplicadas para implantação, em área do CPACT, de um campo de produção de sementes do híbrido EMBRAPA 72 – Deco, atualmente em produção (EMBRAPA-CPACT, 1996).

A cultura de anteras, iniciada no CPACT, teve como objetivo a obtenção de plantas macho homozigotas (supermachos), visando-se obter, através de posteriores cruzamentos com plantas femininas, somente plantas masculinas, as quais deveriam apresentar maiores produtividades em relação às femininas. Posteriormente, as atividades com cultura de anteras passaram a ser desenvolvidas com a colaboração da Universidade Federal de Pelotas. Através desta parceria foram, também, desenvolvidas atividades de regeneração de

plantas, através de embriogênese somática, para a obtenção de semente sintética, e outras referentes à cultura de protoplastos, visando a obtenção de híbridos somáticos com tolerância à fusariose.

Várias dissertações, artigos técnico-científicos e resumos apresentados em congressos foram publicados contendo os resultados obtidos nesta área.

A metodologia usada para multiplicação *in vitro*, visando a manutenção do BAG-Aspargo e a multiplicação rápida de um híbrido selecionado, foi descrita por ASSIS e OLIVEIRA (1984). A obtenção de um número reduzido de plantas enraizadas, no entanto, limitava a utilização da técnica. Portanto, objetivando obter um maior índice de enraizamento no processo de micropropagação, foram conduzidos diversos experimentos, concluindo-se que, na fase de multiplicação, a adição de cinetina ao meio de cultura básico, aumenta significativamente o número de gemas e brotações. Na fase de enraizamento, observou-se que a adição de 60 g/l de sacarose ao meio proporcionou maior número de raízes (MÜLLER, 1997). Maior número e tamanho de raízes foi também verificado por MÜLLER (1997) quando foram utilizadas brotações com quatro hastes. Este resultado, associado às diferenças observadas entre os dois genótipos utilizados (clone 14 e EMBRAPA 72 - Deco), evidenciaram a importância dos explantes utilizados para obtenção de melhor enraizamento *in vitro* do aspargo (FORTES *et al.*, 1997).

Vários trabalhos se referem à utilização da cultura de anteras para obtenção de plantas homozigotas. Utilizando anteras contendo grãos de pólen no estágio uninucleado dos híbridos 56x22-8, 47x22-8 e G27x22-8 e meio básico líquido e semi-sólido, com diferentes concentrações de reguladores de crescimento, BOBROWSKI (1992) verificou maior frequência de regeneração de calos provenientes de meios semi-sólidos e diferenças nos clones regenerados, em relação ao vigor das plantas. A formação de calos e de gemas em calos variou de acordo com o genótipo e o meio de cultura utilizado (BOBROWSKI, 1992; BOBROWSKI *et al.*, 1990, 1993a e 1994). Meios líquidos apresentaram melhor eficiência na indução de calos, independentemente do genótipo e da composição do meio (BOBROWSKI *et al.*, 1995). SARTORETTO (1995), por outro lado, apesar de não observar diferenças na indução de calos em anteras do híbrido 47x22-8, cultivadas em meio básico acrescido de ácido naftaleno acético (2mg/l) e cinetina (0,5 mg/l), verificou maior eficiência na regeneração de calos provenientes de meio semi-sólido.

Para analisar, no nível cromossômico, a variação somaclonal que ocorre em calos originados de turiões de aspargo, ECKERT *et al.* (1993) apresentaram resultados preliminares sobre a adaptação de técnica para estudo de cromossomos mitóticos. Calos do genótipo M14 foram usados após cinco a sete dias do terceiro subcultivo. As contagens de cromossomos mostraram variação de 20 a 80, incluindo células poliplóides e aneuplóides ao nível de poliploidia. O grande número de cromossomos, nas células com ploidias elevadas, dificultou o espalhamento e conseqüente contagem cromossômica.

A análise de cromossomos de plantas de aspargo por métodos convencionais, como os de cromossomos mitóticos de pontas de raiz e meióticos de células mãe de grãos de pólen, é dificultada pela natureza perene e dióica da espécie. Portanto, uma técnica usando cromossomos metafásicos, a partir de pontas de turião, foi desenvolvida por BOBROWSKI *et al.* (1993b e 1996).

A análise mitótica das plantas obtidas através da cultura de anteras, via calogênese, nos trabalhos anteriormente citados, mostrou aumento do nível de

ploidia e irregularidades como cromossomos retardatários, pontes e tétrades com células de tamanhos diferentes e diminuição do aumento de micrósporos. Os grãos de pólen apresentaram tamanhos diferentes e viabilidade média (VIÉGAS *et al.*, 1994a).

Os resultados obtidos nos estudos de meiose em células mãe de pólen destes regenerantes foram relatados por GALLI (1994) e GALLI *et al.* (1993, 1994 e 1998). Foi observado que as células mãe de pólen dos regenerantes apresentaram grande instabilidade genômica, evidenciada por irregularidades nas fases de diacinese, assim como de metáfase, anáfase, telófase de primeira e segunda divisão meiótica. Além disso, o processo originou anormalidades cromossômicas estruturais em adição às aneuploidias e poliploidias.

A embriogênese somática é o processo de desenvolvimento de embriões, a partir de células somáticas, podendo ocorrer diretamente nos tecidos explantados (embriogênese direta) ou em calos (embriogênese indireta). Pode ser utilizada para produção de um grande número de embrióides que, ao serem individualizados, podem originar plantas completas, com custo reduzido em relação ao observado na obtenção de plantas por micropropagação. Sendo a regeneração de plantas de aspargo, a partir de cultura de células e tecidos, um fator que dificulta o uso de técnicas biotecnológicas, procurou-se desenvolver uma metodologia que permita produzir embriões somáticos, visando obtenção futura de sementes sintéticas. Inicialmente, INFANTINI *et al.* (1993), utilizando como explantes partes apicais e subapicais de turiões e anteras com grãos de pólen imaturos, verificou que podem ser obtidos calos embriogênicos e não embriogênicos, com diferentes qualidade e quantidade de citocininas endogênicas, dependendo dos procedimentos *in vitro* utilizados. A indução dos calos foi feita em meio MS, descrito por MURASHIGE e SKOOG (1962), suplementado com diferentes reguladores de crescimento. O desenvolvimento de embrióides foi realizado em meio MS básico (GOMEZ *et al.*, 1994). Posteriormente, GOMEZ *et al.* (1995) descreveram a metodologia utilizada para estudos anatômicos, que possibilitou observar os diferentes estágios no desenvolvimento dos calos embriogênicos e sua distinção em relação aos não embriogênicos. A análise citogenética revelou $2n=20$ cromossomos nos embrióides (INFANTINI *et al.*, 1995). Uma grande redução na produção de embrióides foi observada quando calos foram submetidos a estresse hídrico (SARTORETTO *et al.*, 1995).

Com o objetivo de adequar as técnicas de isolamento de protoplastos de aspargo, de forma a permitir sua utilização para seleção *in vitro* e fusão somática, e aproveitar a variação protoclonal que pode ocorrer, foram obtidos protoplastos a partir de cladódios e turiões de plantas dos genótipos G27, M14, G27x14, G27x22-8 e 47x22-8, com a utilização das enzimas Pectylolase Y-23 e Celullase Y-C (SCUR *et al.*, 1993a; VIÉGAS *et al.*, 1994b). Os protoplastos obtidos foram viáveis, sendo a maior produção obtida a partir de cladódios. Verificou-se, também, que ocorreram genótipos recalcitrantes à regeneração de protoplastos. Em protoplastos de calos de turião dos genótipos M14 e 47x22-8, submetidos a seis concentrações de filtrado de cultura de *Fusarium* spp., SCUR (1992) e SCUR *et al.* (1992 e 1993b) observaram uma reação diferencial dos protoplastos de aspargo aos filtrados, permitindo seu uso para seleção para resistência a esse patógeno, ao nível celular.

Conclusão

Apesar do esforço dispendido e do sucesso obtido nos trabalhos desenvolvidos pelo CPACT e órgãos que o antecederam, com a colaboração da UFPEL, acima descritos, estas atividades não tiveram continuidade devido à grande redução da área plantada na tradicional região produtora do sul do Brasil, no início da década de 1990. Esta redução é atribuída a vários fatores, destacando-se os de ordem econômica, que levaram à falência ou à diminuição de atividades, vários componentes do anteriormente maior parque de indústria agroalimentícias do País. Além disto, contribuiu a incapacidade de enfrentar a competitividade com o aspargo produzido no Peru, com custo reduzido em relação ao nacional. Entretanto, muitos genótipos e conhecimentos gerados estão disponíveis e podem ser utilizados para desenvolvimento de programas de melhoramento genético.

Referências bibliográficas

- ALBUQUERQUE, T.C.S. de; OLIVEIRA, J.J. **Comportamento do aspargo (*Asparagus officinalis* L.) no Vale do Sub-Médio São Francisco**. Petrolina: EMBRAPA-CPATSA, 1980, 3p. (EMBRAPA-CPATSA, Pesquisa em andamento, 10).
- ANDRIOLO, J.L. **Padrões eletroforéticos na identificação de híbridos de *Asparagus officinalis* L.** Pelotas: UFPEL, 1984, 58p. Dissertação Mestrado.
- ANDRIOLO, J.L.; OLIVEIRA, E.A. Padrões eletroforéticos das isoenzimas de peroxidase em híbridos de aspargo. **Ciência e Cultura**, v.36, n.7, p.5, 1984.
- ASSIS, M.; OLIVEIRA, E.A. Multiplicação *in vitro* do aspargo. In: REUNIÃO TÉCNICA ANUAL DE HORTALIÇAS, 2., 1984, Rio Grande. **Ata**. Rio Grande: IPAGRO, 1984, p.134.
- AUGUSTIN, E.; MORAES, E.; OSÓRIO, V.A.; COUTO, M.E.; PETERS, J.A.; SALLES, L.A. **A cultura do aspargo**. Pelotas, EMBRAPA-CNPFT, 1990, 24p. (Circular Técnica, 15).
- AUGUSTIN, E.; MORAES, E.; D'OLIVEIRA, L.O.B.; OSÓRIO, V.A.; COUTO, M.E.; PETERS, J.A.; SALLES, L.A. **A cultura do aspargo**. Brasília: EMBRAPA-SPI, 1993. 60p. (Coleção Plantar, 8)
- BOBROWSKI, V.L. **Obtenção de plantas de aspargo (*Asparagus officinalis* L.) através da cultura de anteras**. Pelotas: UFPEL, 1992, 55p. Dissertação Mestrado.
- BOBROWSKI, V.L.; PETERS, J.A.; AUGUSTIN, E. Efeito do genótipo e meio de cultura na resposta androgenética de aspargo. In: CONGRESSO NACIONAL DE HORTICULTURA, 3., 1990, Salto. **Resumenes**. Salto, Uruguai: Facultad de Agronomía, 1990, p.45.
- BOBROWSKI, V.L.; PETERS, J.A.; AUGUSTIN, E.; VIÉGAS, J. Efeito do meio de cultura na produção de calos a partir de anteras de aspargo (*Asparagus officinalis* L.). **Acta Botanica Brasilica**, Porto Alegre, v.9, n.1, p.115-122, 1995.

- BOBROWSKI, V.L.; ECKERT, M.I.; VIÉGAS, J.; AUGUSTIN, E.; PETERS, J.A. Cromossomos de ponta de turião de aspargo (*Asparagus officinalis* L.): metodologia. **Revista Brasileira de Genética**, Ribeirão Preto, v.16, n.3, Suplemento, p. 188, 1993.
- BOBROWSKI, V.L.; ECKERT, M.I.; VIÉGAS, J.; AUGUSTIN, E.; PETERS, J.A. A technique to obtain metaphasic chromosomes in asparagus (*Asparagus officinalis* L.) spear cells. **Brazilian Journal of Genetics**, Ribeirão Preto, v.19, n.2, p.323-325, 1996.
- BOBROWSKI, V.L.; SARTORETTO, L.; PETERS, J.A.; AUGUSTIN, E.; ARTUZI, J.P. Obtenção de calos de anteras de aspargo (*Asparagus officinalis* L.) utilizando-se diferentes maios de cultura. In: ENCONTRO BRASILEIRO DE BIOTECNOLOGIA VEGETAL, 1., 1993, Brasília. **Resumos**. Brasília: EMBRAPA, 1993. Não paginado.
- BOBROWSKI, V.L.; PETERS, J.A.; AUGUSTIN, E.; MAGALHÃES JR., A.M.; SARTORETTO, L.; ROSINHA, G.M.S.; ARTUZI, J.P. Cultura de anteras em arroz e aspargo. In: ENCONTRO ESTADUAL DE BIOTECNOLOGIA VEGETAL DO RIO GRANDE DO SUL, 7., 1994, Bento Gonçalves. **Resumos**. Bento Gonçalves: EMBRAPA-CNPV, 1994, p.59-60.
- CAMARGO, L.S. **Instrução para a cultura do aspargo**. Campinas: Instituto Agrônomo de Campinas, 1968, 20p.
- CASTRO, C. **Fusarium spp. e podridão de raízes em aspargo**. Pelotas: EMBRAPA-UEPAE de CASCATA, 1979, 4p. (EMBRAPA-UEPAE de CASCATA, Comunicado Técnico).
- D' OLIVEIRA, L.O.B. **A cultura do aspargo irrigado na região do Submédio São Francisco**. Petrolina, EMBRAPA-CPATSA, 1992, 22p. (EMBRAPA-CPATSA, Circular Técnica, 26).
- D' OLIVEIRA, L.O.B.; OLIVEIRA, J.J. Competição de dez híbridos e uma população de aspargo no Vale do Sub-Médio São Francisco – 1º e 2º ano de colheita. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.3, n.1, 67, 1985.
- D' OLIVEIRA, L.O.B.; OLIVEIRA, J.J. Competição de dez híbridos de aspargo no Vale do Sub-Médio São Francisco durante quatro anos de colheita. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.5, n.1, p.54, 1987.
- ECKERT, M.I.; SCUR, L.; VIÉGAS, J.; KARNOPP, L.M.; AUGUSTIN, E. Chromosomal variation in asparagus (*Asparagus officinalis* L.). In: ENCONTRO BRASILEIRO DE BIOTECNOLOGIA VEGETAL, 1., 1993, Brasília. **Resumos**. Brasília: EMBRAPA, 1993.
- EMATER-RS. Clínica Fitossanitária. **Relatório anual de atividades**. Pelotas, RS. 1991.
- EMATER-RS. Clínica Fitossanitária. **Relatório anual de atividades**. Pelotas, RS. 1996.
- EMBRAPA-CNPFT. Sistema de Informação da Pesquisa. **Relatório**. Pelotas, RS. Projeto de pesquisa: Obtenção de cultivares de aspargo com maior produtividade e melhor qualidade de turiões. 1991.
- EMBRAPA-CPACT. **Deco: híbrido de aspargo**. Pelotas: EMBRAPA-CPACT. 1996. (Folder).
- FORTES; G.R. de L.; MÜLLER, N.T.G.; AUGUSTIN, E.; SILVA, J.B. da. The influence of spear number on *in vitro* rooting of asparagus (*Asparagus officinalis* L.) In: **Hortscience**, Alexandria, v.32, n.3, p.471, 1997.

- GALLI, L. **Meiose em regenerantes de cultura de anteras de aspargo (*Asparagus officinalis* L.)**. Pelotas: UFPEL, 1994, 86p. Dissertação Mestrado.
- GALLI, L.; VIÉGAS, J.; AUGUSTIN, E.; ECKERT, M.I.; SILVA, J.B. da. Meiosis of anther culture regenerants in asparagus (*Asparagus officinalis* L.). **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v.21, n.1, p.93-97, 1998.
- GALLI, L.; VIÉGAS, J.; ECKERT, M.I.; PETERS, J.A.; BARRAZ, A.N. Meiosis in regenerants of asparagus (*Asparagus officinalis* L.) anther culture: preliminary data. In: ENCONTRO BRASILEIRO DE BIOTECNOLOGIA VEGETAL, 1., 1993, Brasília. **Resumos**. Brasília: EMBRAPA, 1993. Não paginado.
- GALLI, L.; VIÉGAS, J.; BARRAZ, A.N.; ECKERT, M.I.; AUGUSTIN, E.; PETERS, J.A. Regenerantes de cultura de anteras de aspargo: análise meiótica. **Revista Brasileira de Genética**, Ribeirão Preto, v. 17, n.3, Suplemento, p. 164, 1994.
- GOMEZ, A.S.; PETERS, J. A.; AUGUSTIN, E.; KERBAUY, G. Embriogênese somática em aspargo. In: ENCONTRO ESTADUAL DE BIOTECNOLOGIA VEGETAL DO RIO GRANDE DO SUL, 7., 1994, Bento Gonçalves. **Resumos**. Bento Gonçalves: EMBRAPA-CNPV, 1994, p.58.
- GOMEZ, A.S.; PETERS, J.A.; AUGUSTIN; KERBAUY, G.B. Estudos anatômicos de calos embriogênicos e não embriogênicos de aspargo. In: CONGRESSO NACIONAL DE BOTÂNICA, 46., 1995, Ribeirão Preto. **Resumos**. Ribeirão Preto: USP, 1995.
- INFANTINI, A.S.G.; PETERS, AUGUSTIN. Effect of nitrate and glutamine in the development of asparagus embryoids. In: ENCUESTRO LATINOAMERICANO DE BIOTECNOLOGIA VEGETAL, 2., 1995, Puerto Iguazu, Argentina. **Resumenes**. Puerto Iguazu: INTA, 1995. Não paginado
- INFANTINI, A.S.G.; PETERS, J.A.; AUGUSTIN, E.; KERBAUY, G.B. Somatic embryogenesis in asparagus (*Asparagus officinalis* L.). In: ENCONTRO BRASILEIRO DE BIOTECNOLOGIA VEGETAL, 1., 1993, Brasília. **Resumos**. Brasília: EMBRAPA, 1993. Não paginado.
- MARCIANI-BENDEZÚ, J.; RESENDE, G.M. de; OLIVEIRA, J.J. de. Estudo preliminar da cultura do aspargo (*Asparagus officinalis* L.) no norte de Minas Gerais. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.11, n.1, 1993. Não paginado.
- MARCIANI-BENDEZÚ, J.; RESENDE, G.M. de.; OLIVEIRA, J.J. de. Avaliação preliminar da cultura do aspargo no norte de Minas Gerais. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.13, n.2, p.206-208, 1995.
- MÜLLER, N.T.G. **Multiplicação e enraizamento *in vitro* de dois genótipos de aspargo (*Asparagus officinalis* L.)**. Pelotas: UFPEL, 1997, 55p. Dissertação mestrado.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. **Plant Physiology**, Bethesda, v.15, p.473-497, 1962.
- OLIVEIRA, E.A.; BIANCHINI, C. **Diagnóstico e recomendações para a cultura do aspargo na zona produtora da região sudeste do Rio Grande do Sul**. Pelotas, EMBRAPA-UEPAE de CASCATA: 1982, 43p. (EMBRAPA-UEPAE de CASCATA, Documentos, 13).
- OLIVEIRA, E.A.; OLIVEIRA, J.J.; LEAL, M. de L. **Comportamento de linhagens e cultivares de aspargo introduzidos de New Jersey, EUA, no município de Pelotas, RS**. Pelotas: EMBRAPA-UEPAE de CASCATA, 1982, 9p. (EMBRAPA-UEPAE de CASCATA, Pesquisa em andamento, 12).

- OLIVEIRA, E.A.; OLIVEIRA, J.J.; LEAL, M. de L. da S. Comportamento de linhagens e cultivares de aspargo. In: REUNIÃO TÉCNICA ANUAL DE HORTALIÇAS, 2., 1984, Rio Grande. **Ata**. Rio Grande: IPAGRO, 1984, p.72.
- OLIVEIRA, E.A.; OLIVEIRA, J.J.; MORAES, E.C.; MAGNANI, M.; FEHN, L.M.; FELICIANO, A. **A cultura do aspargo**. Pelotas: EMBRAPA-UEPAE de CASCATA, 1981, 48p. (Circular Técnica, 5).
- OLIVEIRA, J.J. **Avaliação de cultivares de aspargo (*Asparagus officinalis* L.) em Pelotas, RS**. Pelotas: UFPEL, 1976, 38p. Dissertação Mestrado.
- SARTORETTO, L. **Obtenção de plantas a partir de calos de anteras de aspargo (*Asparagus officinalis* L.)**. Pelotas: UFPEL, 1995. Dissertação Mestrado.
- SARTORETTO, L.M.; PETERS, J.A.; BOBROWSKI, V.L.; AUGUSTIN, E. Rhizogenic reversion and induction of somatic embryos in asparagus callus. In: ENCUESTRO LATINOAMERICANO DE BIOTECNOLOGIA VEGETAL, 2., 1995, Puerto Iguazu, Argentina. **Resumenes**. Puerto Iguazu: INTA, 1995. Não paginado.
- SCUR, L. **Protoplastos de aspargo (*Asparagus officinalis* L.): isolamento e reação a filtrado de cultura de *Fusarium* spp.** Pelotas: UFPEL, 1992. Dissertação Mestrado.
- SCUR, L.; VIÉGAS, J.; GOMES-OLIVEIRA, I.V.; CHAVES, M.B.C. *In vitro* spears and buds as sources of asparagus protoplasts. reaction to culture filtrates of *Fusarium* spp. In: ENCONTRO BRASILEIRO DE BIOTECNOLOGIA VEGETAL, 1., 1993a, Brasília. **Resumos**. Brasília: EMBRAPA, 1993a. Não paginado.
- SCUR, L.; VIÉGAS, J.; GOMES DE OLIVEIRA, I.; AUGUSTIN, E.; SILVA, J.B. da. Reação de protoplastos de aspargo a filtrados de culturas de *Fusarium* spp. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.17, n.2, p.200, 1992.
- SCUR, L.; VIÉGAS, J.; GOMES-OLIVEIRA, I.V.; AUGUSTIN, E.; SILVA, J.B. da. Asparagus protoplast reaction to culture filtrates of *Fusarium* spp. In: ENCONTRO BRASILEIRO DE BIOTECNOLOGIA VEGETAL, 1., 1993, Brasília. **Resumos**. Brasília: EMBRAPA, 1993b. Não paginado.
- SILVEIRA, R.F. **Caracterização de cultivares e híbridos de aspargo (*Asparagus officinalis* L.) e sua utilização no melhoramento genético**. Pelotas, UFPEL, 1989, 54p. Dissertação Mestrado.
- SILVEIRA, R F., AUGUSTIN, E. Relações entre diâmetro e número de hastes, altura e vigor de plantas e produtividade de aspargo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.28, n.1, p.129-133, 1993.
- TAVARES, S.C.C. de H.; AMORIM, R.L.; LIMA, J.A.S. Doenças do aspargo em área irrigada do Trópico Semi-Árido brasileiro. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.15, Suplemento, 1997. Não paginado.
- VIÉGAS, J.; BOBROWSKI, V.L.; ECKERT, M.I.; SCUR, L.; AVOZANI, O.A.; AZEVEDO, C.S.S.; BARRAZ, A.N.; GALLI, L.; KARNOPP, L.M.; MENDES, M.S.; AUGUSTIN, E.; COSTA, D.M.; MAGALHÃES JR., A.; PETERS, J.A.; ROTH, M.G.M. Citologia de plantas cultivadas *in vitro*. In: ENCONTRO ESTADUAL DE BIOTECNOLOGIA VEGETAL DO RIO GRANDE DO SUL, 7., 1994, Bento Gonçalves. **Resumos**. Bento Gonçalves: EMBRAPA-CNPV, 1994a, p.75-76.
- VIÉGAS, J.; CHAVES, M.F.B.; CRUZ, R.P.; GOMES-OLIVEIRA, I.V.; SCUR, L.; AZEVEDO, C.S.S.; BARRAZ, A.N.; CHALÁ, C.; MAUCH, C.R.; SALAMONI, A.; AUGUSTIN, E.; COSTA, D.M.; PETERS, J.A.; SILVA, J.B. da. Protoplastos

- de olerícolas. In: ENCONTRO ESTADUAL DE BIOTECNOLOGIA VEGETAL DO RIO GRANDE DO SUL, 7., 1994, Bento Gonçalves. **Resumos**. Bento Gonçalves: EMBRAPA-CNPUV, 1994b, p.73-74.
- WETZEL, D.P.; LUZZARDI, G.C.; OLIVEIRA, J.J. Infestação de *Fusarium* em aspargo no município de Pelotas, RS. In: CONGRESSO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE FITOPATOLOGIA, 4., 1973, Pelotas. **Anais**. Pelotas: MA-IPEAS, 1973. Não paginado.