

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS**  
**Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel**  
**Programa de Pós-Graduação em Agronomia**



**Tese**

**Enraizamento, Dinâmica e Protocolo de Propagação de *Prunus***

**CARI REJANE FISS TIMM**

**Pelotas, 2016**

**CARI REJANE FISS TIMM**

**Enraizamento, Dinâmica e Protocolo de Propagação de *Prunus***

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Ciências (Fruticultura de Clima Temperado).

Orientadora: Dr<sup>a</sup>. Márcia Wulff Schuch

Coorientadora: Dr<sup>a</sup>. Zeni Fonseca Pinto Tomaz

Pelotas, 2016

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas  
Catalogação na Publicação

T111e Timm, Cari Rejane Fiss

Enraizamento, Dinâmica e Protocolo de Propagação de prunus / Cari Rejane Fiss Timm ; Márcia Wulff Schuch, orientadora ; Zeni Fonseca Pinto Tomaz, coorientadora. — Pelotas, 2016.

82 f. : il.

Tese (Doutorado) — Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, 2016.

1. Fruticultura. 2. Produção de mudas. 3. Micropropagação. I. Schuch, Márcia Wulff, orient. II. Tomaz, Zeni Fonseca Pinto, coorient. III. Título.

CDD : 634

**Banca examinadora:**

---

Dr<sup>a</sup>. Márcia Wulff Schuch (Orientadora)  
Universidade Federal de Pelotas

---

Dr<sup>a</sup>. Adriane Marinho de Assis  
Universidade Federal de Pelotas

---

Dr<sup>a</sup>. Aline Ritter Curti  
Universidade Federal de Pelotas

---

Dr<sup>a</sup>. Josiane Vergara Casarin

---

Dr<sup>a</sup>. Lilian Vanussa Madruga de Tunes  
Universidade Federal de Pelotas

## **Agradecimentos**

Agradeço a Deus, por iluminar todos os dias de minha existência e por abrir as portas certas nos momentos certos.

À Universidade Federal de Pelotas, pela oportunidade de realizar o curso de pós-graduação em Agronomia.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), por conceder a bolsa de estudos possibilitando a condução deste trabalho.

À professora Márcia Wulff Schuch, por aceitar-me como sua orientada, por sua confiança, conselhos e apoio dispensado durante o doutorado.

De maneira especial quero agradecer a Co- Orientadora e amiga, Dr<sup>a</sup> Zeni Fonseca Pinto Tomaz, pela amizade, paciência e ajuda, contribuindo para a realização deste trabalho.

Aos professores da Pós-Graduação, pela contribuição e amizade.

Aos colegas do curso de Pós-Graduação em Agronomia da UFPel/FAEM, pelo incentivo, companheirismo e amizade.

Em especial pelas parcerias: Roseane M. Moreira, Jacqueline B. da Silva, Aline Ramm, Cíntia M. Fagundes e Josiane Vergara Casarin, seja pela ajuda nas avaliações, pelos conselhos de vida e apoio durante este período, agradeço enormemente pelos bons momentos que passamos juntas, por participarem da minha vida, me inspiraram e iluminaram com sua presença e ainda se tornaram amigas, compartilhando momentos preciosos de alegria, trabalho e virtudes. E também as mães Mariana Larrondo e Juliana Padilha agradeço pela agradável convivência.

Aos estagiários: Carlos Gustavo Raasch; Bruna Andressa dos Santos Oliveira; Michele Nadal; Lucas Celestino Scheunemann, por terem colaborado na condução dos experimentos.

Ao meu marido Carlos e meu filho Mateus, que estão sempre ao meu lado, cujo amor e apoio não têm limites.

A todos, aqui citados ou não, que contribuíram de alguma forma, direta ou indiretamente, para realização deste trabalho.

“O que mais preocupa não é o grito dos violentos,  
nem dos corruptos, nem dos desonestos, nem dos sem ética.

O que mais preocupa é o silêncio dos bons.”

(Martin Luther King)

## Resumo

TIMM, Cari Rejane Fiss. **Enraizamento, Dinâmica e Protocolo de Propagação de *prunus***. 2016. 82f. Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Agronomia. Universidade Federal de Pelotas. Pelotas, 2016.

Existem muitas informações referentes à cultura do pessegueiro. Entretanto, como o dinamismo da pesquisa, da fruticultura e do mercado consumidor causa mudanças, estas irão exigir um sistema moderno e tecnificado de produção de mudas de qualidade genética e sanitária para obtenção de frutos de qualidade e uma alta produtividade. Com o objetivo de adequar uma metodologia de propagação para a produção de mudas de qualidade, foram desenvolvidos vários experimentos com cultivares copa e porta-enxertos de *Prunus* spp. para avaliar os efeitos de diferentes concentrações de ácido indolbutírico e do tipo de miniestaca no enraizamento, determinar o tempo ótimo de enraizamento de miniestacas e identificar nas fases de estabelecimento e multiplicação o meio de cultura e a concentração de BAP adequados, na propagação *in vitro* para obtenção de mudas. Os experimentos foram realizados em casa de vegetação e no Laboratório de Micropropagação de Plantas Frutíferas do Departamento de Fitotecnia da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel da Universidade Federal de Pelotas, no período de março de 2014 a fevereiro de 2016. Para os experimentos de enraizamento foram utilizados os porta-enxertos das cultivares Nema-guard, Flordaguard, Okinawa, umezeiro, Mr.S 2/5 e as cultivares copa Capdeboscq, Bonão e Maciel, testando-se os tipos de miniestacas, as diferentes concentrações de AIB e determinando o tempo ótimo de enraizamento das miniestacas. No estabelecimento e na multiplicação foram utilizados os porta-enxertos umezeiro e Marianna para determinar o meio de cultura e a concentração de BAP. No enraizamento, as miniestacas apicais, medianas e basais resultaram com a maior porcentagem utilizando-se  $1.000 \text{ mg L}^{-1}$  de AIB e determinando o tempo ótimo de enraizamento Flordaguard obteve 70% aos 50 dias de cultivo. Na fase de estabelecimento observou-se que o meio de cultivo WPM acrescido de  $1.0 \text{ mg L}^{-1}$  de BAP demonstrou ser o mais adequado. Na multiplicação, verificou-se que a cultivar Marianna com  $1.5 \text{ mg L}^{-1}$  de BAP foram superiores para altura da brotação, número de gemas, número e comprimento das brotações massa fresca e taxa de multiplicação.

**Palavras-Chave:** fruticultura, produção de mudas, micropropagação.

### Abstract

Timm, Cari Rejane Fiss. **Rooting, Dynamics and *Prunus* Propagate Protocol**. 2016. 82f. Thesis (Doctoral)-Graduate Program in Agronomy. Federal University of Pelotas, Pelotas, RS.

There are many information regarding the peach crop. However, as the dynamism of research, horticulture and consumer market causes changes, these will require a modern and technified production of genetic and health quality system to obtain seedlings of fruit quality and high productivity. In order to adapt a method of propagation for the production of quality seedlings, they were developed several experiments with cultivars crown and rootstock *Prunus* spp. to evaluate the effects of different indolebutyric acid concentration and type of minicuttings rooting, determining the optimum time of cuttings rooting and identify the establishment and multiplication stage culture medium and concentration of appropriate BAP in vitro propagation in obtaining seedlings. The experiments were conducted in a greenhouse and Fruit trees Plant Micropropagation Laboratory of the Department of Plant Science, Faculty of Agronomy Eliseu Maciel, Federal University of Pelotas, from March 2014 to February 2016. For rooting experiments were used rootstocks of Nemaguard cultivars Flordaguard, Okinawa, mume, Mr.S 2/5 and cultivars Capdeboscq, Bonao and Maciel, testing themselves the types of cuttings, different concentrations of IBA and determining the optimum time for rooting of cuttings. In the establishment and multiplication were used the rootstocks mume and Marianna to determine the culture medium and the concentration of BAP. In the rooting cuttings apical, middle and basal resulted with the highest percentage using  $1,000 \text{ mg L}^{-1}$  IBA and determining the rooting great time Flordaguard obtained 70% after 50 days of cultivation. In the establishment phase it was observed that the WPM culture medium supplemented with  $1.0 \text{ mg L}^{-1}$  BAP proved to be the most suitable. In multiplying it was found that cultivating Marianna  $1.5 \text{ mg L}^{-1}$  BAP were superior to the height of the time of budding e, number and length of shoot fresh weight and multiplication rate.

**Keywords:** horticulture, seedling production, micropropagation.

## Lista de Figuras

<b>Figura 1</b>	Embalagem plástica articulada contendo miniestacas de umezeiro para enraizamento. UFPel, Pelotas-RS, 2016.....	24
<b>Figura 2</b>	Porcentagem de enraizamento do porta-enxerto umezeiro com diferentes concentrações de AIB e tipos de miniestacas.UFPEL, Pelotas-RS, 2016.....	26
<b>Figura 3</b>	Miniestacas apicais enraizadas do porta-enxerto umezeiro submetidos a 0; 1000; 2000 e 3000 mg L <sup>-1</sup> de AIB. UFPel, Pelotas-RS, 2016.....	26
<b>Figura 4</b>	Miniestacas medianas enraizadas, do porta-enxerto umezeiro submetidos a 0; 1000; 2000 e 3000 mg L <sup>-1</sup> de AIB. UFPel, Pelotas-RS, 2016.....	27
<b>Figura 5</b>	Miniestacas basais enraizadas do porta-enxerto umezeiro submetidos a 0; 1000; 2000 e 3000 mg L <sup>-1</sup> de AIB. UFPel, Pelotas-RS, 2016.....	27
<b>Figura 6</b>	Número de raízes das miniestacas de umezeiro em função de diferentes concentrações de AIB e tipos de miniestacas. UFPEL, Pelotas-RS, 2016.....	28
<b>Figura 7</b>	Comprimento médio das três maiores raízes das miniestacas de umezeiro em função de diferentes concentrações de AIB e tipos de miniestacas. UFPel, Pelotas-RS, 2016.....	29
<b>Figura 8</b>	Miniestacas herbáceas dos porta-enxertos de pessegueiro Flordaguard e Okinawa após serem colocadas na embalagem plástica articulada, para enraizarem em vermiculita fina com 2000 mg L <sup>-1</sup> AIB. UFPel, Pelotas-RS, 2016.....	34
<b>Figura 9</b>	Porcentagem de enraizamento de cultivares de porta-enxertos de pessegueiro em função dos dias de avaliação. UFPel, Pelotas-RS, 2016.....	35
<b>Figura 10</b>	Miniestacas enraizadas do porta-enxerto Okinawa aos 30 dias de avaliação. UFPel, Pelotas-RS,2016.....	35

<b>Figura 11</b>	Miniestaca enraizada do porta-enxerto Flordaguard aos 50 dias de avaliação. UFPel, Pelotas-RS, 2016.....	36
<b>Figura 12</b>	Miniestacas enraizadas da cultivar Capdeboscq aos 40 dias de avaliação. UFPel, Pelotas-RS, 2016.....	36
<b>Figura 13</b>	Número de raízes das miniestacas das cultivares de porta-enxertos de pessegueiro em função dos dias de avaliação. UFPel, Pelotas-RS, 2016.....	37
<b>Figura 14</b>	Comprimento médio das três maiores raízes das miniestacas das cultivares de porta-enxertos de pessegueiro em função dos dias de avaliação. UFPel, Pelotas-RS, 2016.....	38
<b>Figura 15</b>	Porcentagem de enraizamento das miniestacas das cultivares de porta-enxertos de pessegueiro em função dos dias de avaliação. UFPel, Pelotas-RS, 2016.....	39
<b>Figura 16</b>	Número de raízes das miniestacas das cultivares de porta-enxertos de pessegueiro em função dos dias de avaliação. UFPel, Pelotas-RS, 2016.....	40
<b>Figura 17</b>	Comprimento médio (cm) das três maiores de raízes das miniestacas das cultivares de porta-enxertos de pessegueiro em função dos dias de avaliação. UFPel, Pelotas-RS, 2016.....	41
<b>Figura 18</b>	Porcentagem de enraizamento de miniestacas das cultivares de porta-enxertos de pessegueiro em função dos dias de avaliação. UFPel, Pelotas-RS, 2016.....	42
<b>Figura 19</b>	Miniestacas herbáceas de porta-enxertos de pessegueiro após serem colocadas na embalagem plástica articulada, para enraizarem em vermiculita fina com 2000 mg L <sup>-1</sup> AIB. UFPel, Pelotas-RS, 2016.....	42
<b>Figura 20</b>	Miniestaca enraizada da cultivar Bonão aos 45 dias de avaliação. UFPel, Pelotas-RS, 2016.....	43
<b>Figura 21</b>	Miniestacas enraizadas da cultivar Capdeboscq aos 45 dias de avaliação. UFPel, Pelotas-RS, 2016.....	43
<b>Figura 22</b>	Miniestacas enraizadas da cultivar Maciel aos 35 dias de avaliação. UFPel, Pelotas-RS, 2016.....	44
<b>Figura 23</b>	Miniestacas enraizadas do porta-enxerto Okinawa aos 55 dias de avaliação. UFPel, Pelotas-RS, 2016.....	44

<b>Figura 24</b>	Número de raízes das miniestacas dos porta-enxertos de pessegueiro em função dos dias de avaliação. UFPel, Pelotas-RS, 2016.....	45
<b>Figura 25</b>	Comprimento médio (cm) das três maiores raízes dos porta-enxertos de pessegueiro em função dos dias de avaliação. UFPel, Pelotas-RS, 2016.....	46
<b>Figura 26</b>	Explante de porta-enxerto Marianna, UFPel, Pelotas-RS, 2016.....	54
<b>Figura 27</b>	Explantos <i>in vitro</i> de umezeiro mantidos em meio de cultura WPM, UFPel, Pelotas-RS, 2016.....	54
<b>Figura 28</b>	Porcentagem de explantes de umezeiro contaminados por fungos, aos sete dias, em função das concentrações e dos meios de cultivo <i>in vitro</i> . UFPel, Pelotas/RS, 2016. (As barras verticais representam a DMS do teste t ( $p \leq 0,05$ ).....	56
<b>Figura 29</b>	Porcentagem de explantes de umezeiro contaminados por fungos, aos 14 dias, em função das concentrações e dos meios de cultivo <i>in vitro</i> . UFPel, Pelotas/RS, 2016. (As barras verticais representam a DMS do teste t ( $p \leq 0,05$ ).....	57
<b>Figura 30</b>	Porcentagem de explantes de umezeiro contaminados por bactérias, aos sete dias, em função das concentrações e dos meios de cultivo <i>in vitro</i> . UFPel, Pelotas/RS, 2016. (As barras verticais representam a DMS do teste t ( $p \leq 0,05$ ).....	58
<b>Figura 31</b>	Porcentagem de explantes de umezeiro contaminados por bactérias, aos 14 dias, em função das concentrações e dos meios de cultivo <i>in vitro</i> , UFPel, 2016. (As barras verticais representam a DMS do teste t ( $p \leq 0,05$ ).....	59
<b>Figura 32</b>	Porcentagem de explantes de umezeiro estabelecidos, aos 45 dias, em função das concentrações e dos meios de cultivo <i>in vitro</i> . UFPel, Pelotas/RS, 2016. (As barras verticais representam a DMS do teste t ( $p \leq 0,05$ ).....	60
<b>Figura 33</b>	Explantos de umezeiro mantidos meio de cultura WPM, UFPel, Pelotas-RS, 2016.....	60
<b>Figura 34</b>	Número de brotações formadas pelos porta-enxertos Marianna e umezeiro, cultivados em diferentes concentrações de BAP. UFPel, Pelotas-RS, 2016.....	62
<b>Figura 35</b>	Comprimento de brotações formadas pelos porta-enxertos Marianna e umezeiro, cultivados em diferentes concentrações de BAP. UFPel, Pelotas-RS, 2016.....	63

<b>Figura 36</b>	Altura da brotação dos porta-enxertos Marianna e umezeiro, cultivados em diferentes concentrações de BAP. UFPel, Pelotas-RS, 2016.....	64
<b>Figura 37</b>	Número de gemas dos porta-enxertos Marianna e umezeiro, cultivados em diferentes concentrações de BAP. UFPel, Pelotas-RS, 2016.....	65
<b>Figura 38</b>	Massa fresca dos explantes de porta-enxertos Marianna e umezeiro, cultivados em diferentes concentrações de BAP. UFPel, Pelotas-RS, 2016.....	66
<b>Figura 39</b>	Massa seca dos explantes de porta-enxertos Marianna e umezeiro, cultivados em diferentes concentrações de BAP. UFPel, Pelotas-RS, 2016.....	67
<b>Figura 40</b>	Taxa de multiplicação dos porta-enxertos Marianna e umezeiro, cultivados em diferentes concentrações de BAP. UFPel, Pelotas-RS, 2016.....	68
<b>Figura 41</b>	Explante de porta-enxerto Marianna,UFPel, Pelotas-RS, 2016.....	68

## Sumário

1. Introdução.....	14
1.1. Revisão de literatura.....	17
2. Capítulo 1 - Enraizamento de umezeiro com diferentes tipos de miniestacas e àcido indolbutírico.....	21
2.1. Introdução.....	21
2.2. Material e Métodos.....	23
2.3. Resultados e discussão.....	24
2.4. Conclusões.....	30
3. Capítulo 2 - Dinâmica de tempo de enraizamento de miniestacas de <i>Prunus</i> .....	31
3.1. Introdução.....	31
3.2. Material e Métodos.....	32
3.3. Resultados e discussão.....	34
3.4. Conclusões.....	47
4. Capítulo 3 - Citocinina e meios de cultura no estabelecimento e multiplicação <i>in vitro</i> de <i>Prunus</i> .....	48
4.1. Introdução.....	48
4.2. Material e Métodos.....	51
4.3. Resultados e Discussão.....	55
4.4. Conclusões.....	69
5. Considerações Finais.....	70
Referências.....	71

## 1. Introdução

A fruticultura é uma atividade de grande importância no que se refere a aspectos econômicos e sociais, sendo que esse ramo da agricultura tem o intuito de produzir frutos, em geral, de forma econômica, racional e objetiva a sua comercialização. No Brasil se destaca pela sua participação na economia do país, pois ao longo dos anos vem se estruturando para competir de forma mais ativa no mercado internacional. Em 2015, o Brasil colheu cerca de 43 milhões de toneladas de frutas, empregando 27% da mão de obra agrícola. (ANUÁRIO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 2016). O setor de fruticultura está entre os principais geradores de renda, emprego e de desenvolvimento rural do agronegócio nacional. A atividade frutícola possui elevado efeito multiplicador de renda e, portanto, com força suficiente para dinamizar economias locais estagnadas e com poucas alternativas de desenvolvimento (BUAINAIN; BATALHA, 2007).

Dentre as frutas de clima temperado destaca-se a produção de pêssegos no Rio Grande do Sul, uma das culturas de maior relevância econômica, o estado é o maior produtor do país seguido de São Paulo; Minas Gerais; Paraná e Santa Catarina e, esta se encontra fragmentada devido ao grande número de explorações existentes, na sua maioria em pequenas dimensões, como pequenas propriedades de exploração familiar, o que torna essa cultura mais importante, principalmente, por viabilizar tais propriedades (FACHINELLO et al., 2011).

Existem alguns fatores que dificultam a expansão da cultura do pessegueiro, dentre eles podemos citar a desuniformidade do pomar, morte de plantas, falta de adaptação e problemas decorrentes do uso de porta-enxertos oriundos de sementes. Enquanto que em outros países a realidade é diferente, pois nas principais regiões produtoras do mundo a obtenção de mudas é feita em cima de clones e/ou seleções de cultivares geneticamente estáveis, que garantem uniformidade aos pomares, longevidade e produtividade (FACHINELLO & LORETI, 2000). No Brasil, as mudas dessa frutífera são formadas tradicionalmente pela união

do porta-enxerto com a cultivar copa, dando origem a uma única planta, enquanto a propagação do porta-enxerto, usualmente, é feita pelo método de germinação das sementes. A cultivar copa é geralmente, propagada pela enxertia, sendo uma técnica que garante a total preservação da identidade genética e das características do genótipo de interesse. O mesmo não acontece quando o porta enxerto é propagado via semente que não garante a perpetuação das características genéticas conferindo heterogeneidade às plantas (MAYER et al. 2010).

Diversas pesquisas estão sendo realizadas para obtenção de mudas de pessegueiro, e uma alternativa viável é a propagação vegetativa por miniestacas herbáceas, pela facilidade de realização e rapidez na produção da muda, porém possui o inconveniente, a baixa capacidade de enraizamento de várias cultivares de pessegueiro (TOMAZ et al.,2014; TIMM et al., 2015).

A miniestaquia, tida como um aprimoramento da técnica de estaquia, tem sido utilizada na multiplicação de diversas espécies vegetais, incluindo o pessegueiro (*Prunus persica*) (TIMM et al., 2015; TOMAZ, 2013; TOMAZ et al., 2014), além da pitangueira (*Eugenia uniflora*) (LATTUADA, 2010; CARVALLHO et al., 2014), oliveira (*Olea europaea*) (CAPPELLARO et al., 2011; CAPPELLARO, 2013; CASARIN, 2015), uvaieira (*Eugenia pyriformis*) (BORGES et al., 2013; TIMM et al., 2014), aceroleira (*Malpiglia glabra*) (RITZINGER; GRAZZIOTTI, 2005), ameixeira (*Prunus salicina*) (TONIETTO et al.,2001), maracujazeiro amarelo (*Passiflora edulis* f, *Flavicarpa*,) (CARVALHO et al., 2007; RAASCH et al., 2013), mirtilheiro (*Vaccinium spp.*) (FISCHER et al., 2013), goiabeira (*Psidium guajava*) (ALTOÉ et al., 2011; ALTOÉ; MARINHO, 2012), araçazeiro (*Psidium cattleianum*) (ALTOÉ et al., 2011), eucalipto (*Eucalyptus spp.*) (BRONDANI et al., 2008; BORGES et al., 2011), gravioleira (*Annona muricata*) (FIGUEIRÊDO et al., 2013), pinus (*Pinus taeda*) (ALCANTARA et al., 2007) e erva-mate (*Ilex paraguariensis*) (BRONDANI et al., 2007).

Outra proposta que busca diminuir custos e resolver o inconveniente do processo de enxertia e a possível incompatibilidade entre enxerto e porta-enxerto é a produção de mudas auto-enraizadas, que segundo Hartmann & Kester, (2011), a enxertia pode ocasionar vários problemas, resultando em mudas de baixa qualidade. A principal vantagem da muda auto-enraizada é a ausência de incompatibilidade de enxertia (COLOMBO & NÉRI, 2003), e também pode ser uma opção para locais onde o uso de porta-enxertos não apresenta nenhuma vantagem específica. A

propagação do pessegueiro por meio de estacas pode ser realizada tanto para porta-enxertos, quanto para cultivares copa. Pessegueiros auto-enraizados apresentam como características alta capacidade de absorção dos nutrientes do solo, grande uniformidade no crescimento de ramos e eliminação na possibilidade de morte de planta devido à incompatibilidade enxerto/porta-enxerto (COUVILLON, 1985).

A micropropagação é outra técnica a ser considerada, pois através dela é possível a rápida produção de plantas geneticamente homogêneas. A utilização da micropropagação para produção de mudas em escala comercial visando atender as necessidades internas é uma realidade em alguns países (Silva, 2004), principalmente em países da Europa, mais especificamente na Itália onde boa parte da produção dos porta-enxertos é realizada por este método de propagação (LORETI, 2008).

No Brasil, o uso de métodos de propagação vegetativa e micropropagação de cultivares de porta-enxertos do gênero *Prunus*, em escala comercial, são relativamente escassos. Apesar dos inúmeros trabalhos de pesquisa já realizados com a estaquia, miniestaquia, alporquia e a micropropagação, viveiristas e fruticultores ainda encontram muitas dificuldades para adotar um método vegetativo viável para a propagação do gênero *Prunus spp.*

O cultivo *in vitro*, através da micropropagação, é um método viável para propagação de diversas espécies frutíferas, proporcionando a formação de pomares com populações de plantas homogêneas, possibilitando a produção de mudas com alta sanidade, além de acelerar os métodos de propagação convencional como a enxertia. Todavia, a possível substituição dos métodos tradicionais de produção dos porta-enxertos de *Prunus* pela micropropagação requer que se tenha um domínio da técnica de cultura de tecidos voltado para as cultivares de importância econômica, para que possibilite a disponibilização do material propagado em grande quantidade, para aos produtores de pessegueiro.

Vários são os desafios da pesquisa para melhorar o desempenho da cadeia produtiva de pêssegos no Brasil. Para tanto, na obtenção de mudas uniformes, de qualidade, em menos tempo e com alta sanidade, este trabalho objetivou determinar o tempo ótimo de enraizamento de miniestacas, avaliar os efeitos de diferentes concentrações de ácido indolbutírico e do tipo de miniestaca no enraizamento de

umezeiro e identificar nas fases de estabelecimento e multiplicação o melhor meio de cultura e a concentração adequada de BAP na propagação *in vitro* de *Prunus*.

### 1.1. Revisão de literatura

O pessegueiro (*Prunus persica* L. Batsch) pertence à família Rosaceae, subfamília Prunoideae, gênero *Prunus* e subgênero *Amygdalus*. As plantas desse gênero são conhecidas como frutos de caroço, uma vez que suas sementes estão envoltas em uma capa lignificada, o endocarpo (SRINIVASAN et al., 2005). No subgênero *Prunus* se encontram espécies frutíferas de importância, como as ameixeiras européia (*Prunus domestica* L.), a ameixeira japonesa (*Prunus salicina* Lindl), a ameixeira do tipo mirabolano (*Prunus cerasifera* Ehrh), o damasqueiro (*Prunus Armeniaca* L.), o damasqueiro japonês (*Prunus mume* Sieb & Zucc.) e a cerejeira negra (*Prunus serotina* Ehrh.); (GILANI et al., 2010).

No Brasil, o pessegueiro foi introduzido em 1532, por Martim Afonso de Souza, por meio de mudas trazidas da Ilha da Madeira e plantadas na Capitania de São Vicente, que corresponde ao atual Estado de São Paulo. O Estado de São Paulo ainda é o segundo maior produtor do Brasil, precedido apenas pelo Rio Grande do Sul. Entretanto, foi nesse último estado que o plantio de pessegueiros, principalmente para fins industriais, mais se desenvolveu no país (RASEIRA et al., 2014).

Dentre as frutas de clima temperado destaca-se a produção de pêssegos no Rio Grande do Sul, uma das culturas de maior relevância econômica, segundo Fachinello et al. (2011), o estado é o maior produtor do país seguido de São Paulo; Minas Gerais; Paraná e Santa Catarina. Segundo Fachinello et al. (2009), a enxertia é o principal método de obtenção de mudas para a formação de pomares comerciais. Sendo que 100% das plantas de pessegueiro são propagadas por enxertia.

O emprego de porta-enxertos iniciou-se na Europa a partir dos anos 60, mas assumiu maior importância com o desenvolvimento da fruticultura industrial (LORETI, 2008). O estudo de porta-enxerto no Brasil ainda é muito recente, enquanto que nos países europeus e nos Estados Unidos os estudos estão mais adiantados (ROCHA, 2006). Segundo Teles (2005), um bom porta-enxerto é aquele

que se propaga facilmente, apresenta rápido desenvolvimento, é tolerante a pragas e doenças, compatível com a cultivar-copa, confere boas características à planta enxertada e adaptado as condições de solo. Segundo Loreti. (2008) novas alternativas de porta-enxertos, selecionados tanto sob o perfil genético quanto sanitário, mas também sobre materiais com características de maior qualidade, devem ser estudados.

A cultivar Okinawa é originária do Japão e foi levado para os Estados Unidos em 1953 onde foi selecionado como porta-enxerto de sementes pelo Programa de Melhoramento Genético da Universidade da Flórida. Este porta-enxerto é resistente ao nematóide de galhas; entretanto, mostrou-se suscetível à raça 3 de *Meloidogyne incognita*. A exigência de frio é estimada em 100 horas, sendo o ciclo da floração à maturação de, aproximadamente, 120 dias. Uma das desvantagens deste porta-enxerto é a produção de caroços com sementes duplas (EMBRAPA, 2005). Principal porta-enxerto utilizado na produção de mudas, na região do sul de Minas, sendo utilizado em 70% das plantas enxertadas, Reis (2010), também é utilizado em São Paulo (PEREIRA & MAYER, 2005).

Selecionada a partir de um lote de sementes recebido, em 1949, pelo Departamento de Agricultura (USDA) na Califórnia, a cultivar Nemaguard é supostamente, híbrido de um pessegueiro chinês silvestre (*Prunus davidiana*) e alguma cultivar de pessegueiro. Induz bom vigor e entrada em frutificação precocemente. Em regiões quentes, sai do repouso antes que outros porta-enxertos francos, adiantando um pouco a maturação e aumentando o calibre dos frutos das cultivares-copa precoces. A principal característica é a tolerância aos nematóides *Meloidogyne javanica*, *M. arenaria* e *M. incognita*, como também a bactéria *Agrobacterium*. É sensível ao nematóide *Pratylenchus* e aos fungos *Armillaria*, *Verticillium* e *Phytophthora*. Este porta-enxerto é recomendado para plantio em solos ácidos ou neutros. É vigoroso, homogêneo e compatível com as cultivares comerciais de pessegueiro (REIGHARD & LORETI, 2008).

O porta-enxerto Flordaguard é originário, em sexta geração, de um cruzamento entre Chico 11 e *Prunus davidiana* (Carr.) Franch, C-26712. Foi lançado pela Universidade da Flórida em 1991 (FERGUSON & CHAPARRO, 2007). A necessidade de frio é estimada em 300 horas. Foi testado e mostrou boa adaptação nas condições de clima e solo de Pelotas, RS. Esta cultivar tem folhas avermelhadas e ramos com hábito de crescimento tipo chorão (EMBRAPA, 2005).

Como cultivar para a indústria, Capdebosq foi lançada em 1966, (Livro de Registros-Embrapa,1966)(RASEIRA,2011. Comunicação pessoal) originária do Programa de Melhoramento de Pessegueiro da Estação Experimental de Pelotas, atual Embrapa Clima Temperado, tendo sido obtida por polinização livre de um cruzamento entre 'Lake City' e uma seleção local chamada 'Intermediário'. Esta cultivar, hoje pouco plantada, é utilizada, na região Sul, como porta-enxerto para pessegueiro e ameixeira.

Outra cultivar copa de interesse é a Bonão. Originária de cruzamento realizado em 1995, entre a seleção Conserva 594 e a cv. Pepita, esta cultivar é vigorosa, produtiva e com boa adaptação a condições de inverno ameno. A plena floração ocorre em geral entre a segunda e terceira semana de julho e a colheita inicia no final de outubro ou início de novembro. Adaptam-se em áreas com cerca de 200 horas de frio hibernal. Não são resistentes à podridão parda ou antracnose, mas devido à época de maturação necessitam poucos tratamentos fitossanitários (EMBRAPA, 2008).

Como frutífera de dupla finalidade a cultivar Maciel, adapta-se a regiões onde o acúmulo de frio hibernal esteja entre 200 a 300 horas. Destaca-se pela produtividade, tamanho, aparência e resistência ao transporte. Os frutos são de ótima qualidade após a industrialização, mas poderão, também, ter boa aceitação no mercado de consumo in natura (EMBRAPA, 2003).

O umezeiro ou damasqueiro-japonês (*Prunus mume* Sieb. et Zucc.) é uma frutífera da família Rosaceae, originária da China Continental, típica de clima temperado. O uso do umezeiro como porta-enxerto de pessegueiro foi validado internacionalmente no 3º Congresso Internacional de Pêssego em 1993 na China. A planta do umezeiro é considerada a planta nacional da China, assim como é o Ipê-amarelo no Brasil (CAMPO DALL'ORTO et al., 1997; PEREIRA; MAYER; CAMPO DALL'ORTO, 2007).

Com rápida entrada em produção, a cultivar Marianna se adapta bem a todos os tipos de solo, sendo bastante resistente à asfixia radicular, aos nematóides do gênero *Meloidogyne*, fungos *Armillaria* e bactérias *Agrobacterium*. Entre os 'Marianna', os mais utilizados são o 2624 e o GF 8/1 (ESCOBAR, 2011). No Chile é empregado, principalmente, como porta-enxertos de ameixeira, onde 79% das mudas de ameixeira são produzidas, sob este porta-enxerto (SOTOMAYOR & CASTRO, 2004).

Selecionados pelo Departamento de Cultivo e Defesa das Espécies Lenhosas da Universidade de Pisa, o porta-enxerto Mr.S. 2/5 tem origem incerta; trata-se de um híbrido pentaplóide ( $2n = 40$ ) espontâneo, provavelmente referente ao *Prunus cerasifera* x *Prunus spinosa*. Possui resistência ao *Agrobacterium tumefaciens*, ao calcário e à asfixia radicular e induz elevada produtividade e eficiência produtiva, também demonstraram antecipar a maturação em alguns dias (ZOINA e RAIIO, 1999).

## **2. Capítulo 1 - Enraizamento de umezeiro com diferentes tipos de miniestacas e ácido indolbutírico**

### **2.1. Introdução**

O umezeiro ou damasqueiro-japonês (*Prunus mume* Sieb. et Zucc.) é uma frutífera, caducifólia, originária da China e muito cultivada nos países asiáticos, especialmente no Japão. Essa rosácea apresenta características agronômicas importantes, como rusticidade, resistência a pragas, adaptação ao inverno brando e alta produtividade, sendo que algumas seleções do Instituto Agronômico de Campinas (IAC) atingem 100 kg.planta<sup>-1</sup> (CAMPO DALL'ORTO et al., 1995/1998). Por estas características vem despertando grande interesse na fruticultura intensiva devido à possibilidade de utilização como porta-enxerto para pessegueiro e nectarineira, sendo compatível com esta espécie e conferindo-lhe uma diminuição no vigor das plantas, o que possibilitaria a formação de pomares em alta densidade (CAMPO DALL'ORTO et al., 1992 e 1994; NAKAMURA et al., 1999).

A utilização de porta-enxertos decorrente da propagação sexuada é um dos principais problemas que a cultura do pessegueiro apresenta no Brasil, refletindo na falta de homogeneidade das plantas, comprometendo a produção e a longevidade dos pomares. Apesar dos notáveis avanços obtidos com o melhoramento genético de cultivares-copa, poucas são as pesquisas na área de porta-enxertos, fato exemplificado pela ausência de uma cultivar clonal para recomendação (MAYER et al., 2007).

Neste contexto, a propagação vegetativa seria uma alternativa importante na manutenção da uniformidade do material genético, garantindo a homogeneidade das plantas. Dentre os métodos de propagação vegetativa, a miniestaquia constitui uma inovação da estaquia convencional que, em determinadas espécies, tem possibilitado aumento de produtividade, uniformidade e porcentagem de

enraizamento quando são atingidas condições nutricionais e fitossanitárias específicas (TITON et al., 2003). Apresenta como principais vantagens, o baixo custo, a necessidade de pequeno espaço, não necessita de câmara de nebulização intermitente e, devido ao pequeno tamanho das miniestacas, proporciona alto rendimento por planta matriz. Em espécies frutíferas, a redução do tamanho da estaca também pode ser utilizada com sucesso em associação a outras técnicas (CARVALHO et al., 2007).

Nesta técnica diversos fatores podem influenciar a formação de raízes: o vigor da planta matriz, idade e posição dos ramos utilizados, presença de folhas e gemas, época do ano, temperatura, umidade, luz, substrato, aplicação de fitorreguladores e o tipo de estacas, dentre outros. Como a composição química do tecido varia ao longo do ramo, estacas provenientes de diferentes porções do mesmo tendem a diferir quanto ao enraizamento (FACHINELLO et al., 2005). A escolha do ramo e a posição da retirada da estaca no ramo são fatores que induzem grande variação no desenvolvimento de mudas, os quais devem ser bem definidos (LIMA et al., 2006).

Alem da escolha do tipo de estaca outra maneira de tentar maximizar o percentual de enraizamento é a aplicação exógena de reguladores de crescimento. Dentre estes, atribui-se um papel importante para as auxinas no processo de formação de raízes (STEFANCIC et al., 2005). O uso de auxinas para estimular o enraizamento adventício é uma poderosa ferramenta para propagação, pois quando usados corretamente este regulador poderá aumentar a porcentagem de estacas que formam raízes, acelerar a iniciação radicular, aumentar o número e a qualidade das raízes produzidas e aumentar a uniformidade de enraizamento (BLAZICH, 2001). Segundo Brondani et al. (2008), aplicações desses reguladores proporcionam efeitos positivos ou negativos aos processos de enraizamento em propágulos vegetativos, sendo o ácido indolbutírico (AIB) o mais empregado, variando em suas formas de aplicação, veiculado em talco e líquido e, mais recentemente, via gel.

De acordo com Lone et al. (2010), o ácido indolbutírico é provavelmente a principal auxina sintética de uso geral, porque não é tóxica para a maioria das plantas, mesmo em altas concentrações, enquanto Ferriani et al. (2006), consideram um dos melhores estimuladores do enraizamento. Por isso, é uma das auxinas mais utilizadas pelos produtores de mudas, devido aos resultados obtidos e a facilidade de manipulação.

Em função destes aspectos, objetivou-se avaliar os efeitos de diferentes concentrações de ácido indolbutírico e do tipo de miniestaca no enraizamento de umezeiro.

## 2.2. Material e Métodos

O trabalho foi conduzido em casa de vegetação, com temperatura constante de 25°C (+/- 2°C), no inverno e verão, pertencente ao Departamento de Fitotecnia, (FAEM/UFPel/RS), em abril de 2015. Adotou-se o delineamento inteiramente casualizado com fatorial: tipo de miniestaca (apical, mediana e basal) e concentrações de AIB (0, 1.000, 2.000 ou 3.000 mg.L<sup>-1</sup>) com quatro repetições de 20 miniestacas, totalizando 12 tratamentos.

Ramos herbáceos de umezeiro foram coletados de plantas matrizes com um ano de idade, conduzidas em sistema semi-hidropônico, mantidas em estufa agrícola pertencente ao Laboratório de propagação de Plantas Frutíferas da Universidade Federal de Pelotas. Foram preparadas miniestacas herbáceas de três a cinco centímetros, contendo duas gemas e uma folha cortada ao meio, feito corte em bisel no ápice e transversal na base. Com o auxílio de um canivete, foram feitas duas lesões superficiais na base (0.5 cm) e, posteriormente, imersas por 10 segundos em solução de ácido indolbutírico (AIB), dissolvido em álcool etílico a 30% e o restante do volume, completado com água destilada.

A seguir, foram acondicionadas em embalagens plásticas transparentes articuladas com 22 x 14 x 10 cm de comprimento, largura e altura, respectivamente, contendo vermiculita fina expandida (volume de 1 dcm<sup>3</sup>) e previamente umedecidas com 500 mL de água destilada. Procedeu-se o borrifamento com água sempre que necessário, deixando as fechadas para evitar a desidratação, sendo as miniestacas mortas retiradas seguidamente para evitar a contaminação das demais. Semanalmente aplicou-se fungicida Orthocide (3g L<sup>-1</sup> do produto comercial em água).

Aos 60 dias após a instalação, avaliou-se a porcentagem de miniestacas enraizadas, o número e o comprimento das três maiores raízes (medido com régua milimetrada).

Os dados obtidos foram analisados quanto à normalidade pelo teste de Shapiro-Wilk, à homocedasticidade pelo teste de Hartley e a independência dos resíduos foi verificada graficamente. Posteriormente os dados foram submetidos à análise de variância ( $p \leq 0,05$ ). Constatando-se significância estatística, os efeitos do tipo de miniestaca foram avaliados pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ). Para o fator concentrações de AIB foi realizada a análise de regressão, com a finalidade de escolher o melhor ajuste dos dados, com base na significância e o coeficiente de regressão.



Cari Rejane Fiss Timm, 2016.

**Figura 1:** Embalagem plástica articulada contendo miniestacas de umezeiro para enraizamento. UFPel, Pelotas-RS, 2016.

### 2.3. Resultados e discussão

Para as variáveis porcentagem de miniestacas enraizadas e comprimento médio das três maiores raízes houve interação entre os fatores: tipos de miniestacas e concentrações de AIB, indicando que os mesmos não são independentes. Para a variável número de raízes foi verificado efeito simples, para doses de AIB.

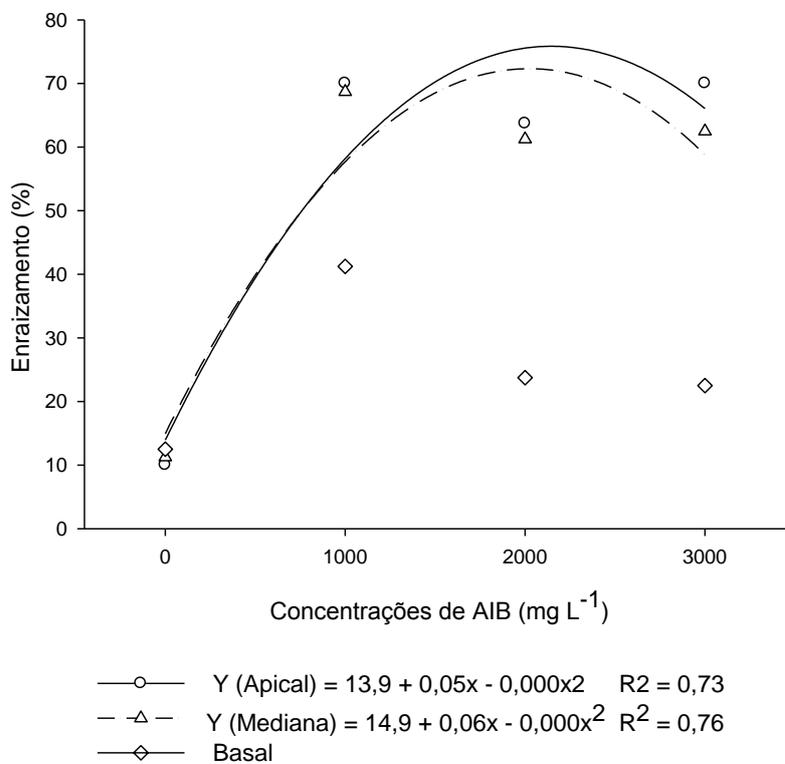
Com a utilização de AIB houve um acréscimo na porcentagem de enraizamento. Não ocorreu diferença estatística para miniestacas apical e mediana

em todas as concentrações testadas, apresentando as mesmas um comportamento quadrático na análise de regressão. Sendo que com  $1.000 \text{ mg L}^{-1}$  de AIB todos os tipos de miniestacas obtiveram a maior porcentagem de enraizamento (Figuras 2; 3; 4 e 5). Segundo Fachinello et al.(2005) a composição química do tecido varia ao longo do ramo e estacas provenientes de diferentes porções do mesmo tendem a diferir quanto ao enraizamento. De forma geral, sabe-se que estacas caulinares colhidas da posição apical do ramo têm menor grau de lignificação, células meristemáticas com metabolismo mais ativo e ausência ou menor quantidade de compostos fenólicos, o que facilita o enraizamento e a emissão de brotações (HARTMAN et al., 2011). Provavelmente, devido a isso as miniestacas apicais resultaram com a maior porcentagem de enraizamento (70%), com as concentrações de  $1.000$  e  $3.000 \text{ mg L}^{-1}$  de AIB. Fachinello et al. (2005), trabalhando com pessegueiro, afirmaram que, ao longo do ramo, o conteúdo de carboidratos e de substâncias promotoras e inibidoras de enraizamento nos tecidos apresenta variação, sendo um dos motivos pelos quais as estacas coletadas de diferentes porções do ramo tendem a diferir quanto ao potencial de enraizamento.

Segundo Hartmann et al. (2011), dependendo da posição no ramo em que são retiradas as estacas, estas possuem condições fisiológicas diferenciadas, podendo apresentar maior conteúdo de carboidratos, substâncias nitrogenadas, aminoácidos, auxinas e compostos fenólicos. Tais compostos, quando em proporções e concentrações adequadas, acumulam-se na zona de regeneração de raízes, contribuindo para a emissão de raízes adventícias. Conforme a figura 2, com os resultados obtidos na ausência de AIB, para todos os tipos de miniestacas, é possível afirmar que os níveis de auxinas endógenas presentes nestas foram insuficientes para promover o enraizamento, demonstrando a necessidade do uso de auxinas exógenas, pois os teores endógenos de auxinas produzidos pelas gemas e folhas foram insuficientes para a desdiferenciação e a indução à divisão celular. Brondani et al. (2010) ressaltaram que o equilíbrio endógeno entre os reguladores vegetais apresenta forte influência na emissão de raízes adventícias, porém as concentrações exógenas podem variar em função das condições de trabalho e das características de cada material genético.

Vários trabalhos vêm demonstrando a necessidade de aplicação exógena de reguladores vegetais nas estacas de pessegueiro, objetivando-se aumentar o percentual de enraizamento. O ácido indolbutírico (AIB) é uma substância de origem

sintética, que tem se mostrado eficiente na promoção do enraizamento (FACHINELLO et al., 2005).



**Figura 2:** Porcentagem de enraizamento do porta-enxerto umezeiro com diferentes concentrações de AIB e tipos de miniestacas. UFPEL, Pelotas-RS, 2016.



**Figura 3:** Miniestacas apicais enraizadas do porta-enxerto umezeiro submetidas a 0; 1000; 2000 e 3000 mg L<sup>-1</sup> de AIB. UFPEL, Pelotas-RS, 2016.



**Figura 4:** Miniestacas medianas enraizadas, do porta-enxerto umezeiro submetidos a 0; 1000; 2000 e 3000 mg L<sup>-1</sup> de AIB. UFPel, Pelotas-RS, 2016.

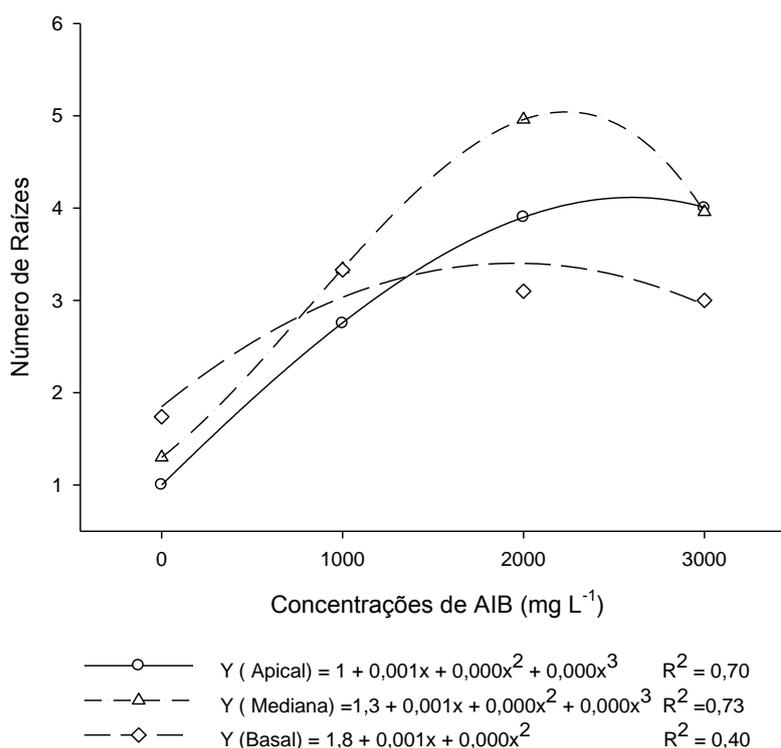


**Figura 5:** Miniestacas basais enraizadas do porta-enxerto umezeiro submetidos a 0; 1000; 2000 e 3000 mg L<sup>-1</sup> de AIB. UFPel, Pelotas-RS, 2016.

Em relação ao número de raízes, houve diferença significativa apenas para as concentrações de AIB sendo as maiores médias obtidas nas miniestacas que foram submetidas à aplicação de AIB, enquanto que sem o uso do fitorregulador a maior

média foi de 1,7(Figura 6). Resultado semelhante foi encontrado por Chagas et al. (2008) trabalhando com clones de umezeiro obtiveram o maior número médio de raízes por estacas, com a concentração de 2.000 mg L<sup>-1</sup> de AIB. Mayer e Pereira (2004) avaliando o enraizamento de estacas herbáceas de quatro clones de damasco japonês (*Prunus mume* Sieb. Et Zucc.) observaram no Clone 05, média de 8,0 raízes por estaca com 2.000 mg L<sup>-1</sup> e, consideraram esse resultado bom para assegurar o desenvolvimento de um sistema radicular adequado.

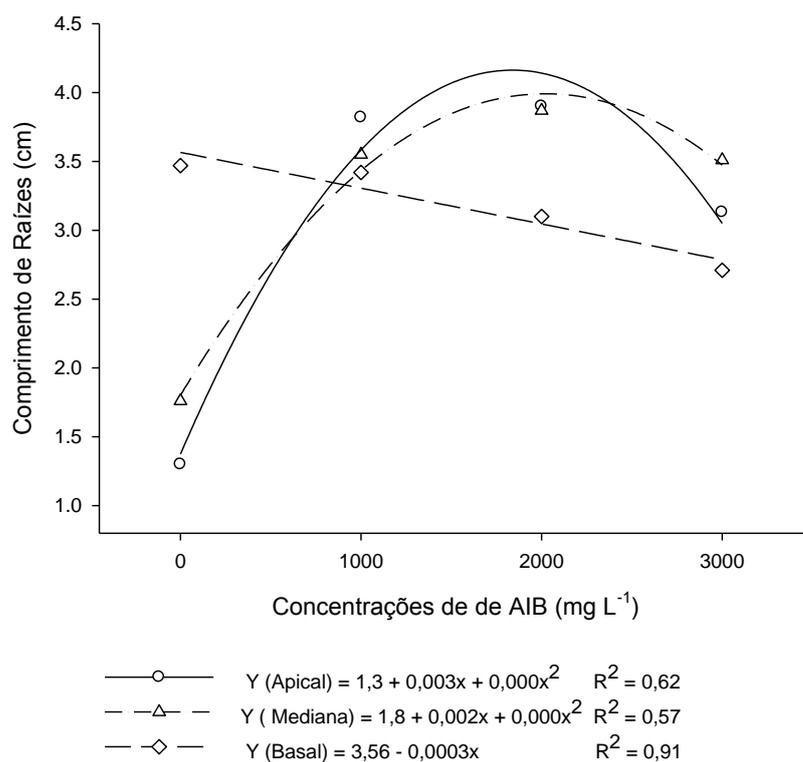
Miranda et al. (2004) verificaram que quando não tratadas com AIB, as estacas de porta-enxerto de pessegueiro Okinawa produziram apenas uma raiz por estaca. Com os resultados encontrados observou-se que, no caso do umezeiro o uso do fitorregulador estimula a emissão de raízes e, também notou-se que o potencial rizogênico é variável entre os tipos de miniestacas avaliadas.



**Figura 6:** Número de raízes das miniestacas de umezeiro em função de diferentes concentrações de AIB e tipos de miniestacas. UFPEL, Pelotas-RS, 2016.

O AIB e o tipo de miniestaca interagiram significativamente para a variável comprimento médio das três maiores raízes. Com 2.000 mg L<sup>-1</sup> de AIB as

miniéstacas apicais e medianas alcançaram o maior comprimento de raiz (3,9 e 3,8cm respectivamente), enquanto que as miniéstacas basais obtiveram o maior comprimento sem o uso de AIB (3,5cm) (Figura 7). Sabe-se que a composição química do tecido varia ao longo do ramo, ocasionando diferenças em miniéstacas oriundas de distintas partes deste, provavelmente, neste caso essa variável não foi influenciada pelo AIB. Oliveira et al. (2005) trabalhando com estacas semilenhosas e lenhosas de pessegueiro tratadas com AIB, verificaram que o comprimento da maior raiz foi positivamente influenciado pelo AIB, possivelmente pela antecipação na emissão das raízes, o que possibilitou maior período de crescimento. Apesar do número e comprimento de raízes estarem relacionados à capacidade de sobrevivência e de desenvolvimento da planta, não existe uma quantidade adequada para podermos comparar.



**Figura 7:** Comprimento médio das três maiores raízes das miniéstacas de umezeiro em função de diferentes concentrações de AIB e tipos de miniéstacas. UFPel, Pelotas-RS, 2016.

O número e o comprimento médio das três maiores raízes é um parâmetro que indica o vigor e qualidade das mudas, conforme observações já realizadas por outros autores, entre eles (CAMPOS et al., 2005). Um aspecto importante em estudos de enraizamento refere-se à análise conjunta das variáveis número e comprimento de raízes, pois não é de interesse prático uma estaca que produza uma única raiz longa ou várias raízes de pequeno comprimento. Portanto, deve-se buscar uma determinada condição ou tratamento que resulte no equilíbrio destas variáveis, ou seja, uma estaca que produza várias raízes com um bom crescimento, em um curto espaço de tempo, o que aumenta as chances de sobrevivência.

## **2.4. Conclusões**

As diferentes concentrações de ácido indolbutírico proporcionaram resultados favoráveis em todos os tipos de miniestacas de umezeiro, para todas variáveis analisadas.

A utilização de  $1.000 \text{ mg L}^{-1}$  de AIB demonstrou ser a concentração mais indicada para os tipos de miniestacas apical, mediana e basal.

Miniestacas apicais e medianas apresentaram maior porcentagem de enraizamento.

### 3. Capítulo 2 - Dinâmica de tempo de enraizamento de miniestacas de *Prunus*

#### 3.1. Introdução

A produção de mudas de frutíferas tem exigido mudanças nos sistemas de produção, sobretudo quanto ao uso de tecnologias apropriadas para obtenção de material propagativo de alta qualidade e a custos compatíveis (FRANCO et al. 2008). Neste contexto, o uso de novas técnicas de propagação seria uma alternativa, sendo a propagação vegetativa uma delas, pois por meio deste método tem-se a garantia na manutenção da uniformidade do material genético e a homogeneidade das plantas. Essa técnica permite produzir mudas idênticas à planta-matriz, formando pomares homogêneos e, assim, elevando a produtividade e qualidade dos pomares.

Fracaro e Pereira (2004) comprovaram que plantas adultas, produzidas pelo método da estaquia herbácea, possuem o sistema radicial fasciculado muito bem formado e garantem que mudas originadas a partir deste processo têm condições plenas de explorar um grande volume de solo, apresentando ótimas produções.

Na silvicultura, a propagação vegetativa já é realidade, principalmente com *Eucalyptus*, que se encontra bem estabelecida; a partir dos resultados verificados á campo levou-se a sua implementação de forma intensiva em diferentes regiões do mundo (XAVIER et al., 2009). Dentre os métodos de propagação vegetativa, a miniestaquia constitui uma inovação da estaquia convencional que, em determinadas espécies, tem possibilitado aumento de produtividade, uniformidade e porcentagem de enraizamento quando são atingidas condições nutricionais e fitossanitárias específicas (TITON et al., 2003).

A miniestaquia vem sendo utilizada para inúmeras culturas de importância econômica, como erva-mate (*Ilex paraguariensis*) (BRONDANI et al., 2007), cedro australiano (*Toona ciliata*) (SILVA et al., 2012), eucalipto (*Eucalyptus benthamii*)

(BRONDANI et al., 2012) e também para diversas frutíferas como a goiabeira (*Psidium guajava*) (MARINHO et al., 2009; ALTOÉ; MARINHO, 2012), a ameixeira (*Prunus salicina*) (TONIETTO et al., 2001), a gravioleira (*Annona muricata*) (FIGUEIRÊDO et al., 2013), o maracujazeiro amarelo (*Passiflora edulis* f. *Flavicarpa*) (CARVALHO et al., 2007), o pessegueiro (*Prunus persica*) (TIMM et al., 2015; TOMAZ et al., 2014) e mais recentemente a oliveira (*Olea europaea*) (CAPPELLARO, 2013; RAASCH et al., 2014; CASARIN, 2015).

A técnica da miniestaquia associada ao tempo de enraizamento são alternativas promissoras para a produção de mudas homogêneas, com baixo custo, rapidez e manutenção de características agronômicas importantes. Sendo que o ajuste de modelos que expressem o enraizamento dos diferentes materiais genéticos a serem propagados em um viveiro pode minimizar os custos, em razão da otimização do uso das instalações, evitando a permanência das mudas na casa de vegetação além do tempo necessário, ou a morte de miniestacas em função da retirada destas, antes do processo rizogênico se completar (MELO et al., 2011). Considerando a otimização das instalações do viveiro, pode-se adotar como critério a determinação do tempo ótimo de permanência dos propágulos na casa de enraizamento.

Diante desse contexto, o trabalho foi realizado com o objetivo de determinar o tempo necessário de enraizamento de miniestacas de *Prunus*, visando à obtenção de mudas de qualidade.

### 3.2. Material e Métodos

Os trabalhos foram conduzidos em casa de vegetação, com temperatura constante de 25°C (+/- 2°C), no inverno e verão, pertencente ao Departamento de Fitotecnia, (FAEM/UFPel/RS), em março de 2014.

A dinâmica de enraizamento foi realizada em três experimentos distintos e a metodologia aplicada a cada um é apresentada abaixo.

Adotou-se o delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial: cultivares X dias de avaliação

**Experimento 1:** Cultivares (Okinawa; Flordaguard e Capdeboscq) e dias de avaliação ( 20; 30; 40; 50 e 60).

**Experimento 2:** Cultivares (umezeiro; Nemaguard e Mr.S 2/5) e dias de avaliação ( 20; 30; 40; 50 e 60).

**Experimento 3:** Cultivares (Capdeboscq; Okinawa; Bonão e Maciel) e dias de avaliação ( 25; 35; 45; 55; 65). Cada tratamento composto com quatro repetições de 20 miniestacas.

Foram coletados ramos herbáceos de plantas matrizes mantidas em vasos com capacidade para 50L, mantidas no banco de germoplasma pertencente ao Laboratório de Propagação de Plantas Frutíferas. Foram preparadas miniestacas herbáceas de três a cinco centímetros, contendo duas gemas e uma folha cortada ao meio, feito corte em bisel no ápice e transversal na base. Com o auxílio de um canivete, foram feitas duas lesões superficiais na base de meio centímetros e, posteriormente, imersas por 10 segundos em solução de  $2000 \text{ mgL}^{-1}$  de ácido indolbutírico (AIB), dissolvido em álcool etílico a 30% e o restante do volume, completado com água destilada.

A seguir, foram acondicionadas em embalagens plásticas transparentes articuladas com 22 x 14 x 10 cm de comprimento, largura e altura, respectivamente, contendo vermiculita fina expandida (volume de  $1 \text{ dcm}^3$ ) e previamente umedecidas com 500 mL de água destilada. Procedeu-se o borrifamento com água sempre que necessário, deixando as fechadas para evitar a desidratação, sendo as miniestacas mortas retiradas seguidamente para evitar a contaminação das demais. Semanalmente aplicou-se fungicida Orthocide ( $3 \text{ g L}^{-1}$  do produto comercial em água).

Em cada data foram avaliadas a porcentagem de miniestacas enraizadas, o número e o comprimento médio das três maiores raízes (medida realizada com régua milimetrada) e, depois de avaliadas as miniestacas foram descartadas.

Os dados obtidos foram analisados quanto à normalidade pelo teste de Shapiro-Wilk, à homocedasticidade pelo teste de Hartley e a independência dos resíduos foi verificada graficamente. Posteriormente os dados foram submetidos à análise de variância ( $p \leq 0,05$ ). Constatando-se significância estatística, os efeitos da cultivar foram avaliados pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ). Para o fator dias de avaliação foi realizada a análise de regressão, com a finalidade de escolher o melhor ajuste dos dados, com base na significância e o coeficiente de regressão.



**Figura 8:** Miniestacas herbáceas dos porta-enxertos de pessegueiro Flordaguard e Okinawa após serem colocadas na embalagem plástica articulada, para enraizarem em vermiculita fina com  $2000 \text{ mg L}^{-1}$  AIB. UFPel, Pelotas-RS, 2016.

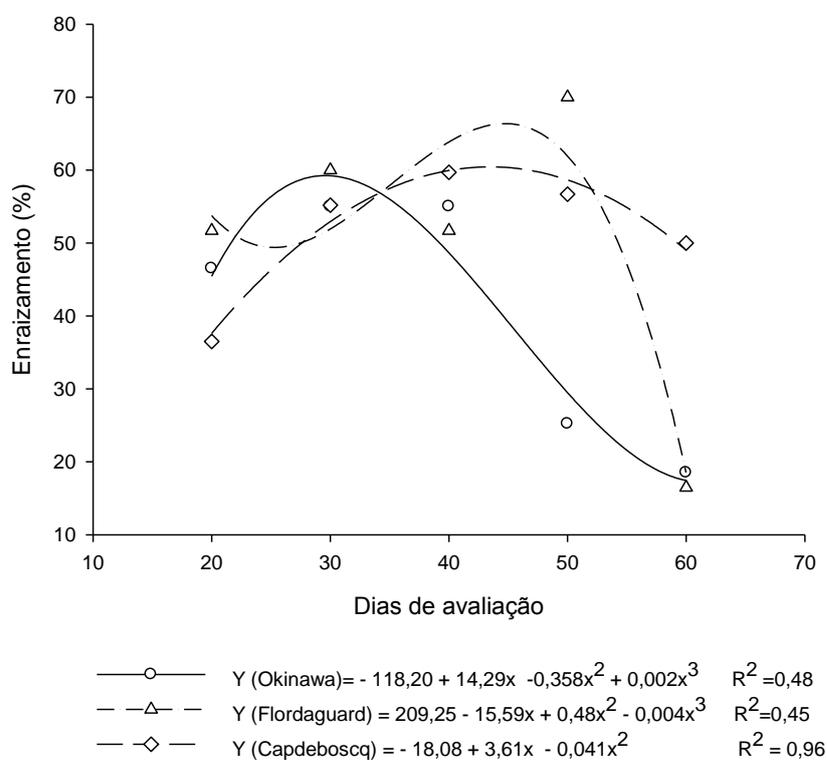
### 3.3. Resultados e discussão

**Experimento 1:** Através da interpretação dos dados da análise de variância constatou-se que houve interação entre as cultivares e os dias de avaliação, para as variáveis porcentagem de miniestacas enraizadas e comprimento médio das três maiores raízes. Sendo que, para a variável número de raiz ocorreu efeito significativo para cultivar.

Aos 50 dias ocorreu a maior porcentagem de enraizamento (70%), com a cultivar Flordaguard (Figura 11). Sendo 30 dias suficientes para o enraizamento de 55% de Okinawa (Figura 10) e 40 dias suficientes para enraizar 60% de Capdeboscq (Figura 12), (Figura 9). Resultados diferentes foram observados por Timm et al.(2015), aos 45 dias, onde as cultivares Okinawa e Flordaguard resultaram com 42% e 28% de enraizamento, respectivamente. Já Aguiar et al.(2005) avaliando enraizamento de estacas semilenhosas do porta-enxerto Okinawa encontraram resultados inferiores (25%) aos 56 dias de avaliação.

Na análise de regressão observou-se um efeito cúbico para Okinawa e Flordaguard, sendo quadrático para Capdeboscq e todas as cultivares diminuíram a porcentagem de enraizamento na última data de avaliação. De acordo com os resultados observou-se que o fator genético afetou a capacidade e a velocidade de enraizamento das diferentes cultivares testadas. A determinação do tempo de permanência para o enraizamento dos propágulos vegetativos na casa de vegetação

possibilita ganhos consideráveis principalmente no que se refere ao custo de produção nos viveiros, onde as operações com a manutenção e manejo são relativamente elevados, além dos riscos de incidência de doenças e pragas.



**Figura 9:** Porcentagem de enraizamento de cultivares de porta-enxertos de pessegueiro em função dos dias de avaliação. UFPel, Pelotas-RS, 2016.



**Figura 10:** Miniestacas enraizadas do porta-enxerto Okinawa aos 30 dias de avaliação. UFPel, Pelotas-RS, 2016.



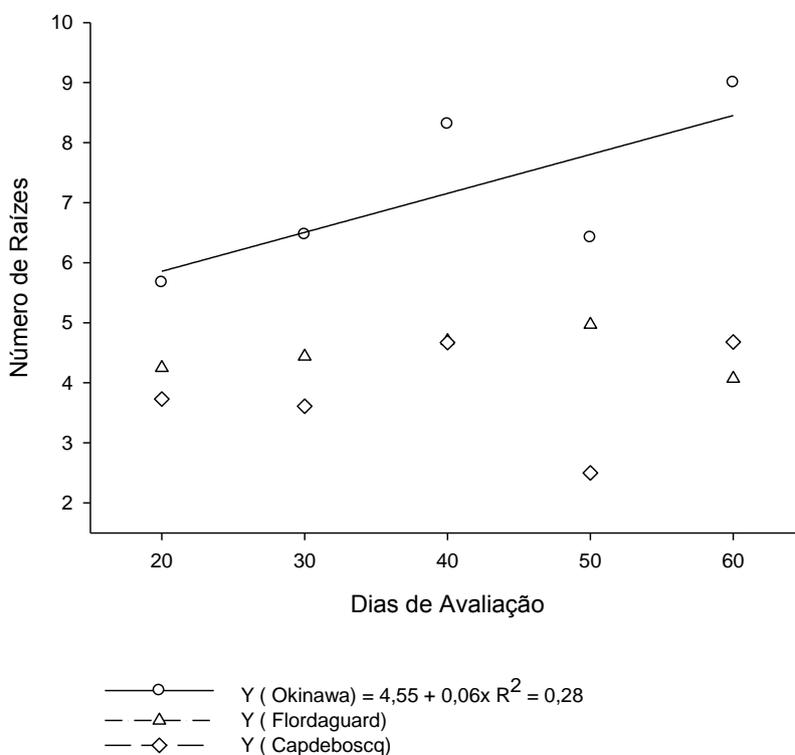
**Figura 11:** Miniestaca enraizada do porta-enxerto Flordaguard aos 50 dias de avaliação. UFPel, Pelotas-RS, 2016.



**Figura 12:** Miniestacas enraizadas da cultivar Capdeboscq aos 40 dias de avaliação. UFPel, Pelotas-RS, 2016.

Verificou-se efeito significativo das cultivares para a variável número de raízes. Sendo observado o maior número de raízes nas cultivares Okinawa (9 raízes) e Capdeboscq (4,68 raízes) aos 60 dias e Flordaguard (4,97 raízes) aos 30 dias de avaliação. Foi verificado menor número na cultivar Capdeboscq (2,5 raízes) aos 50 dias de avaliação (Figura 13). Resultados diferentes foram encontrados por Tofanelli et al. (2003) trabalhando com estacas lenhosas de pessegueiro da cultivar

Okinawa, verificando 5,4 raízes por estaca. Já para Chagas et al. (2008) ao avaliarem estacas de Okinawa observaram a emissão de até 9,0 raízes com a concentração de 2.000 mg L<sup>-1</sup> de AIB enquanto que Cardoso et al.(2011) encontraram 3,30 raízes, em média, por estaca de Okinawa, coletadas no outono. Embora não se tenha resultados comparando número de raízes por miniestaca, Mayer e Pereira (2004) consideraram que, uma média de 8,0 raízes por estaca é um resultado bom para assegurar o desenvolvimento de um sistema radicular adequado.

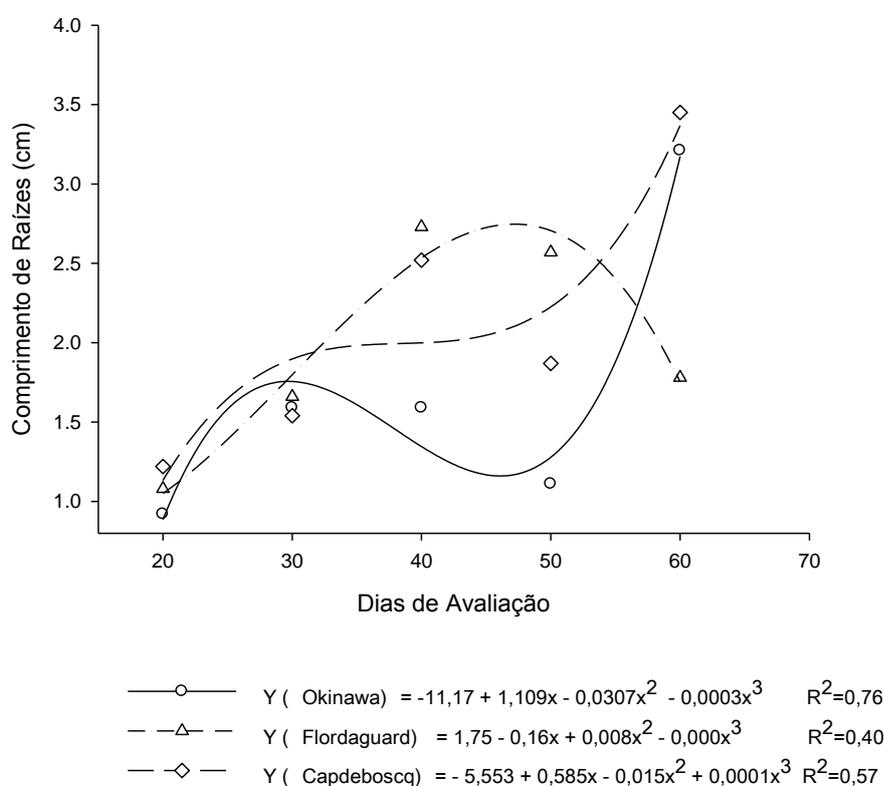


**Figura 13:** Número de raízes das miniestacas das cultivares de porta-enxertos de pessegueiro em função dos dias de avaliação. UFPel, Pelotas-RS, 2016.

Na análise de regressão para a variável comprimento médio das três maiores raízes observou-se um comportamento cúbico da linha de tendência para todas as cultivares. A cultivar Capdeboscq apresentou o maior comprimento de raiz (3,45 cm), não diferindo de Okinawa (3,22 cm) aos 60 dias de avaliação. A cultivar Flordaguard resultou com maior comprimento de raiz aos 40 e 50 dias (2,73 e 2,57cm, respectivamente) (Figura 14). Avaliando o enraizamento de estacas de pessegueiro 'Okinawa' coletadas no outono em diferentes substratos e concentrações de AIB

Cardoso et. al. (2011), encontraram maior comprimento de raiz (3,80 cm) em vermiculita, avaliados aos 108 dias.

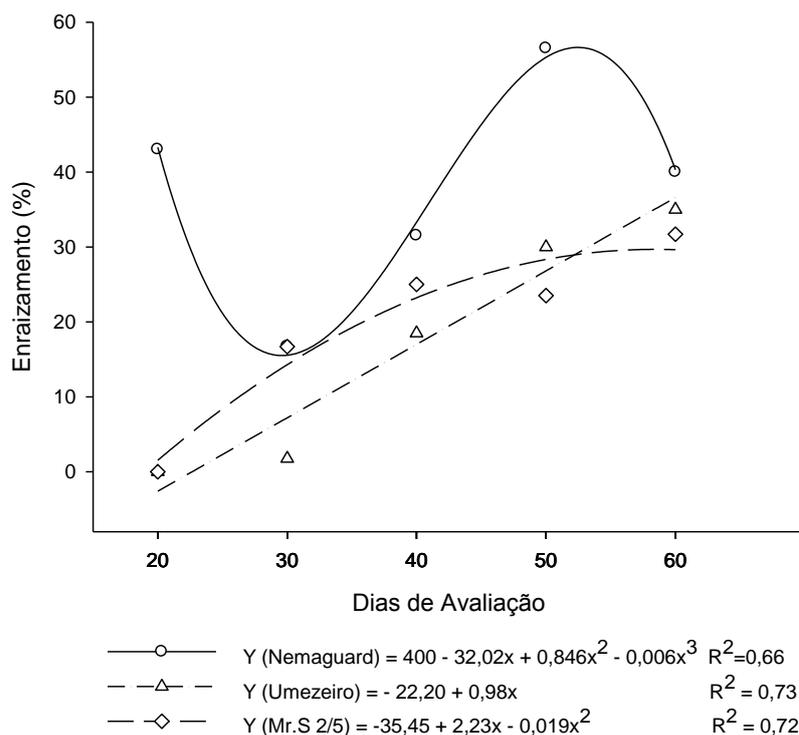
Ao produzir mudas em escala comercial, a emissão de raízes em maior número e comprimento é fator preponderante na constituição dos pomares, pois o sistema radicular bem formado favorece a absorção de nutrientes e água, propiciando, desta forma, um melhor desenvolvimento destas no campo (FRACARO, 2004; ZIETEMANN; ROBERTO, 2007; CARVALHO JUNIOR et al., 2009).



**Figura 14:** Comprimento médio das três maiores raízes das miniestacas das cultivares de porta-enxertos de pessegueiro em função dos dias de avaliação. UFPel, Pelotas-RS, 2016.

**Experimento 2:** Constatou-se interação entre as cultivares e os dias de avaliação para todas as variáveis analisadas. Aos 50 dias de avaliação, Nemaguard resultou com 56% de enraizamento, enquanto umezeiro e Mr.S 2/5 aos 60 dias de avaliação enraizaram 35% e 32%, respectivamente (Figura 15). Resultados inferiores foram encontrados por Chagas et al.(2008) que ao avaliarem o enraizamento de estacas lenhosas de pessegueiro e clones de umezeiros, após 90 dias, submetidos à aplicação de  $2.000 \text{ mg L}^{-1}$  AIB observaram o seguinte: Clone IAC

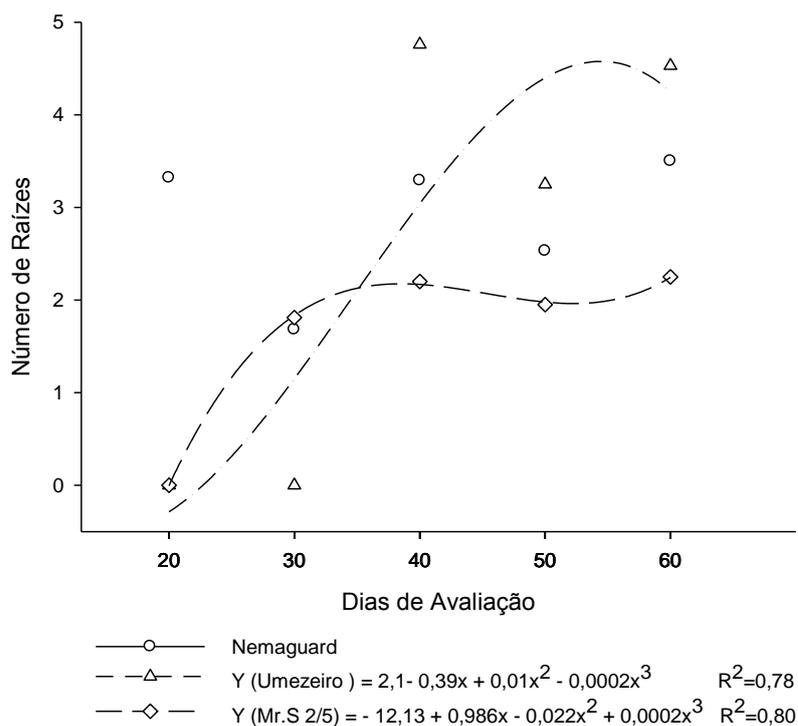
2: 21,75%, Clone IAC X: 25,28%, Clone IAC 10: 25,21% e Clone IAC XIX: 12,28%. Já Mayer et al. (2001) verificaram em estacas herbáceas do Clone IAC 2 e o Clone IAC 10 enraizamento de 78,13% e 83,13%, respectivamente, utilizando 2.000 mg L<sup>-1</sup> de AIB, avaliados aos 60 dias.



**Figura 15:** Porcentagem de enraizamento das miniestacas das cultivares de porta-enxertos de pessegueiro em função dos dias de avaliação. UFPel, Pelotas-RS, 2016.

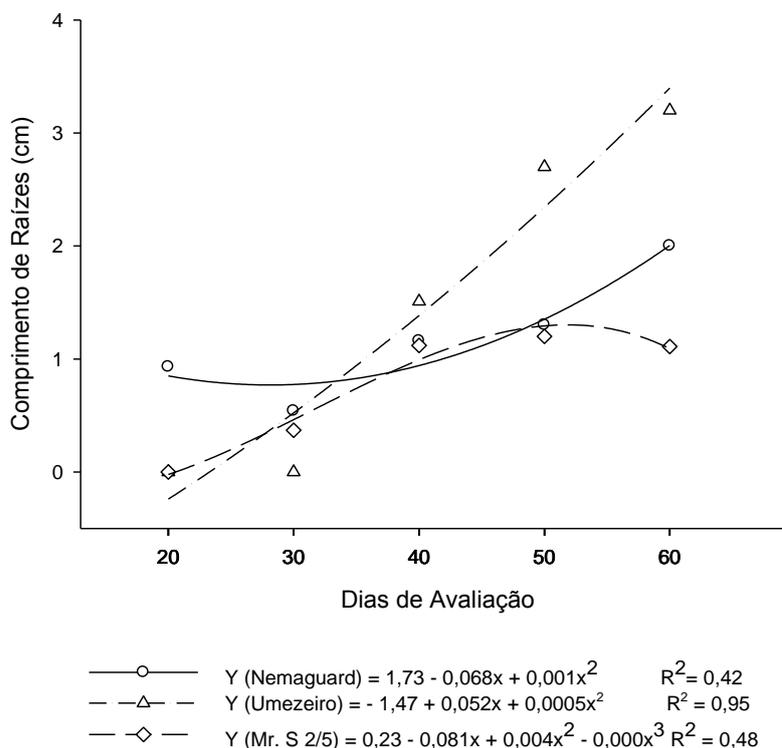
Para as variáveis número e comprimento médio das três maiores raízes observaram-se diferenças significativas na interação entre cultivar e dias de avaliação. Observou-se para umezeiro o maior número de raízes (4,76) por miniestaca aos 40 dias, não diferindo dos 50 e 60 dias de avaliação, sendo que aos 20 e 30 dias não emitiu raízes e o mesmo ocorreu com Mr.S 2/5 aos 20 dias (Figura 16). Esse fato está relacionado ao curto período de enraizamento, pois estas cultivares não enraizaram aos 20 dias. O maior número de raízes para Mr.S 2/5 foi observado aos 60 dias (2,25), mas sem diferenças significativas aos 30, 40 e 50 dias. Já para Nemaguard 20 e 60 dias de avaliação resultaram em maior número de raízes e não se observou diferenças para os outros dias avaliados.

Na análise de regressão observou-se um comportamento cúbico na linha de tendência para Mr.S 2/5 e umezeiro e, para Nemaguard não foi possível realizar ajuste de modelo de regressão. Com isso podemos observar que houve grande variação entre os dias de avaliação e as cultivares. (Figura 16).



**Figura 16:** Número de raízes das miniestacas das cultivares de porta-enxertos de pessegueiro em função dos dias de avaliação. UFPel, Pelotas-RS, 2016.

Para comprimento médio das três maiores raízes na análise de regressão notaram-se comportamentos diferentes. Os ajustes das equações foram quadrático para Nemaguard e para umezeiro e cúbica para Mr.S 2/5 (Figura 17). No enraizamento, umezeiro também se comportou da mesma forma, ou seja, aumentando ao decorrer dos dias avaliados, entretanto Mr.S 2/5 diminuiu comprimento das raízes ao decorrer dos dias de avaliação. Aos 60 dias de avaliação, umezeiro alcançou o maior comprimento de raízes (3,20 cm), (Figura 17).

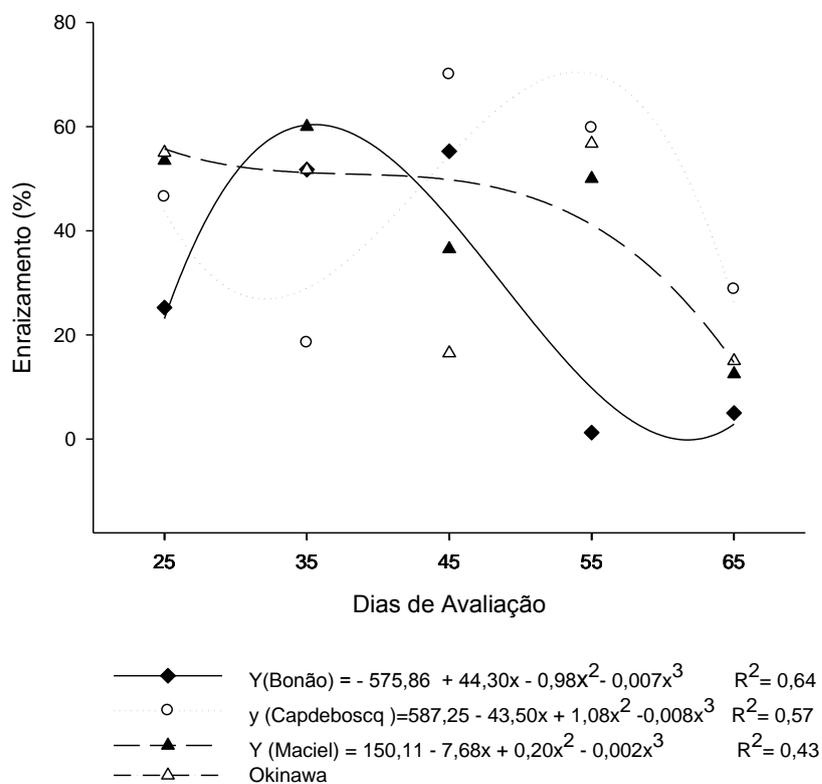


**Figura 17:** Comprimento médio (cm) das três maiores de raízes das miniestacas das cultivares de porta-enxertos de pessegueiro em função dos dias de avaliação. UFPel, Pelotas-RS,2016.

**Experimento 3:** Por meio da interpretação dos dados da análise de variância, constatou-se que houve efeito significativo na interação entre as cultivares e os dias de avaliação, para todas as variáveis analisadas. A porcentagem de enraizamento nas cultivares foi diferenciada, demonstrando que as características genéticas afetam a capacidade de emissão das raízes. Na terceira avaliação (45 dias), as cultivares Bonão e Capdeboscq resultaram com a maior porcentagem de enraizamento 55% e 70%, respectivamente. Sendo 35 dias suficientes para enraizar 60% de Maciel e 55 dias para 57% de enraizamento de Okinawa (Figura 18). Para Mindello Neto et al. (2004) em trabalho realizado enraizando estacas herbáceas de Capdeboscq e Okinawa, estes encontraram 81% e 47%, respectivamente, aos 54 dias de avaliação. Normalmente, existe uma tendência de superestimar o tempo de permanência na casa de enraizamento para indução da rizogênese.

As cultivares Bonão, Maciel e Capdeboscq apresentaram comportamento semelhante, ajustando as linhas de tendência de forma Cúbica, diferente de Okinawa que não houve ajuste de reta. Ao realizar a comparação entre os dias de

avaliação, observou-se que todas as cultivares obtiveram decréscimos na porcentagem de enraizamento após os 65 dias de avaliação.



**Figura 18:** Porcentagem de enraizamento de miniestacas das cultivares de porta-enxertos de pessegueiro em função dos dias de avaliação. UFPel, Pelotas-RS, 2016.



**Figura 19:** Miniestacas herbáceas de porta-enxertos de pessegueiro após serem colocadas na embalagem plástica articulada, para enraizarem em vermiculita fina com  $2000 \text{ mg L}^{-1}$  AIB. UFPel, Pelotas-RS, 2016.



**Figura 20:** Miniestaca enraizada da cultivar Bonão aos 45 dias de avaliação. UFPel, Pelotas-RS, 2016.



**Figura 21:** Miniestacas enraizadas da cultivar Capdeboscq aos 45 dias de avaliação. UFPel, Pelotas-RS, 2016.



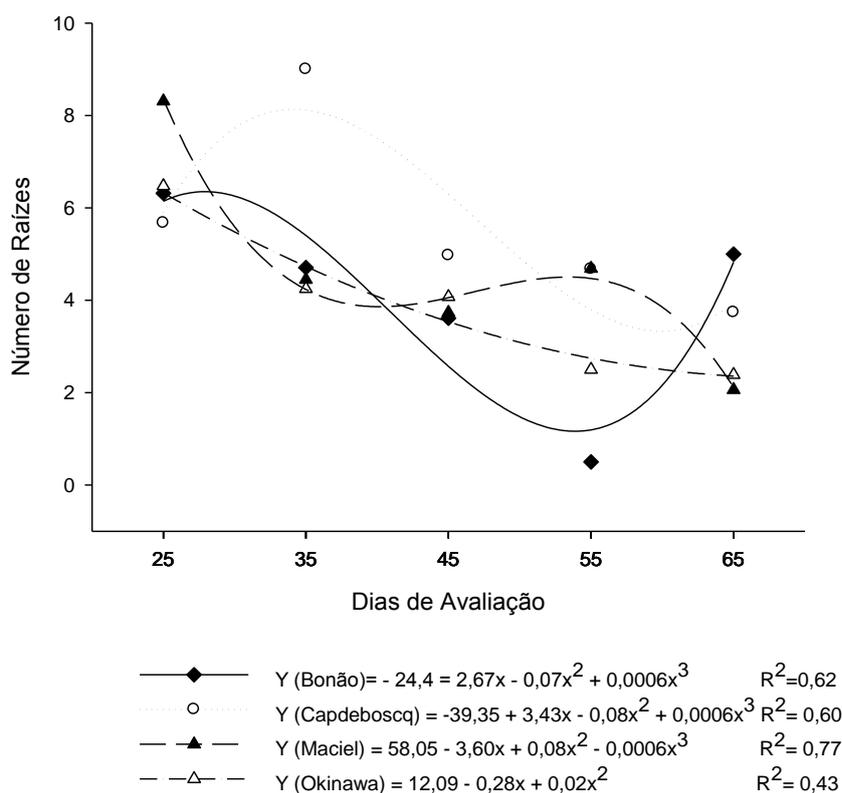
**Figura 22:** Miniestacas enraizadas da cultivar Maciel aos 35 dias de avaliação. UFPel, Pelotas-RS, 2016.



**Figura 23:** Miniestacas enraizadas do porta-enxerto Okinawa aos 55 dias de avaliação. UFPel, Pelotas-RS, 2016.

Verificou-se interação entre os fatores para número de raízes. O estabelecimento de mudas esta diretamente relacionado ao número e ao comprimento das raízes, sendo estes, dados importantes a serem considerados no processo de enraizamento. Aos 35 dias Capdeboscq obteve o maior número de

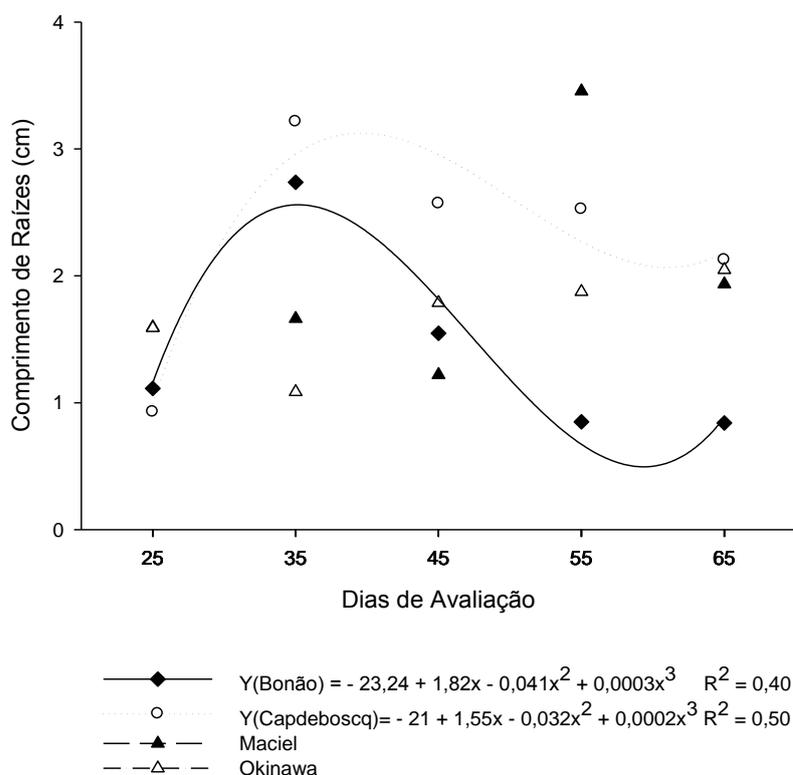
raízes (9 raízes) e aos 25 dias as cultivares Okinawa, Maciel e Bonão apresentaram maior número. Sendo que Okinawa não diferiu estatisticamente dos demais dias avaliados, diferindo somente entre as cultivares. Conforme a figura 25, na regressão, Bonão, Maciel e Capdeboscq tiveram comportamento cúbico e Okinawa comportamento quadrático, evidenciados nas linhas de tendência.



**Figura 24:** Número de raízes das miniestacas dos porta-enxertos de pessegueiro em função dos dias de avaliação. UFPel, Pelotas-RS, 2016.

Em relação à variável comprimento médio das três maiores raízes foram encontradas respostas diferentes entre as cultivares e os dias de avaliação. Aos 55 dias, Maciel alcançou o maior comprimento (3,45 cm), diferido dos demais dias de avaliação, já Okinawa resultou com 2,04 cm aos 65 dias sem diferença estatística entre os dias avaliados. Enquanto que Bonão e Capdeboscq aos 35 dias obtiveram 2,73 e 3,21 cm de comprimento de raízes respectivamente. Entre as cultivares houve diferenças estatísticas para os 35, 45, 55 e 65 dias de avaliação e, entre os dias não ocorreram diferenças para Okinawa e Bonão, sendo que Maciel diferiu de

Capdeboscq aos 35, 45 e 55 dias (Figura 25). Camolesi et al.(2007), ao avaliarem estacas semilenhosas de pessegueiro Okinawa após 60 dias de avaliação, encontraram estacas com 2,9 cm de comprimento de raiz. Neste caso, um maior número de raízes não resultou em um maior comprimento de raiz nas miniestacas e também cada cultivar apresentou comportamento diferente quanto à formação de raízes.



**Figura 25:** Comprimento médio (cm) das três maiores raízes dos porta-enxertos de pessegueiro em função dos dias de avaliação. UFPel, Pelotas-RS, 2016.

O sucesso de uma cultura, em grande parte está na implantação de mudas de qualidade tanto da parte aérea quanto das raízes. Plantas com maior aporte no sistema radicular tendem a ter melhores condições de crescimento em campo após transplante, o que pode contribuir para antecipar o florescimento e, conseqüentemente, aumentar o ciclo de produção, com reflexos diretos na produtividade da cultura (VERDIAL et al., 2000; MELO et al.; 2007). Para interferir na antecipação do ciclo de produção, o tempo de formação das mudas é fator importante a considerar, pois diminuindo esse tempo, reduzindo o período de

enraizamento em casa de vegetação estaremos otimização do uso das instalações e minimizando os custos, assim contribuindo para o sucesso da produção de mudas.

### **3.4. Conclusões**

**Experimento 1:** As cultivares apresentaram diferenças no processo rizogênico entre os diferentes dias de avaliação.

Aos 50 dias Flordaguard, aos 30 dias Okinawa e, aos 40 dias Capdeboscq resultaram com o máximo de enraizamento das miniestacas.

**Experimento 2:** Nas condições em que foi realizado o experimento, 60 dias de avaliação foram suficientes para o máximo de enraizamento de umezeiro e Mr.S 2/5, e 50 dias para Nemaguard.

**Experimento 3:** Para obtenção de mudas de qualidade de Bonão e Capdeboscq, 45 dias foi o tempo necessário para o enraizamento das miniestacas (55 e 70%), respectivamente.

Maciel resultou com o máximo de enraizamento aos 35 dias (60%) e Okinawa aos 55 dias de avaliação enraizou 57%.

## **4. Capítulo 3 - Citocinina e meios de cultura no estabelecimento e multiplicação *in vitro* de *Prunus***

### **4.1. Introdução**

As vantagens conseguidas do ponto de vista técnico-econômico com o uso de porta-enxertos apropriados, selecionados tanto sob o perfil genético quanto sanitário e a maior disponibilidade no mercado, fizeram com que a procura aumentasse não só em volume, mas também por materiais com características de maior qualidade. Portanto, mantém-se oportuno reportar a descrição dos porta-enxertos também daqueles que através da recente experimentação, são interessantes.

O uso do umezeiro como porta-enxerto de pessegueiro foi validado internacionalmente no 3º Congresso Internacional de Pêssego em 1993 na China. (CAMPO DALL'ORTO et al., 1997; PEREIRA; MAYER; CAMPO DALL'ORTO, 2007). Também conhecido como damasqueiro-japonês (*Prunus mume* Sieb. et Zucc.) é uma frutífera da família Rosaceae, originária da China Continental, típica de clima temperado e apresenta características agrônômicas importantes, como rusticidade, adaptação às regiões de inverno ameno e, vem despertando grande interesse na persicultura, devido à possibilidade de ser utilizado como porta-enxerto para pessegueiro e nectarineira, sendo compatível com esta espécie e conferindo-lhe redução no porte das plantas, possibilitando assim a formação de pomares em alta densidade e também influencia na qualidade dos frutos (CAMPO DALL'ORTO et al., 1992/1994/ 1998)

A cultivar Marianna se adapta bem a todos os tipos de solo, com rápida entrada em produção, resistente à asfixia radicular, aos nematóides do gênero *Meloidogyne*, fungos *Armillaria* e bactérias *Agrobacterium*. Entre os 'Marianna', os mais utilizados são o 2624 e o GF 8/1 (ESCOBAR, 2011). No Chile é empregado, principalmente, como porta-enxertos de ameixeira, onde 79% das mudas de

ameixeira são produzidas, sob este porta-enxerto (SOTOMAYOR & CASTRO, 2004).

A possível substituição dos métodos tradicionais de produção de diversos porta-enxertos de *Prunus* pela micropropagação requer que se tenha um domínio da técnica de cultura de tecidos voltado para as cultivares de importância econômica, para que possibilite a disponibilização do material propagado em grande quantidade.

A micropropagação ou propagação *in vitro* tem sido muito estudada e utilizada porque permite o controle de variáveis responsáveis pelo desenvolvimento da planta. Muitos estudos para uma investigação aprofundada foram realizados antes que se tornasse possível propor esta técnica de propagação como um método comercial. Um passo fundamental neste processo de desenvolvimento foi feita por Morel em 1964, que foi o primeiro a ter sucesso em propagação clonal de orquídeas a partir de brotos (LORETI & MORINI, 2008).

Este método de propagação consiste em utilizar pequenas partes ou células isoladas das mesmas, cultivando-as de forma controlada, ou seja, fornecendo a esses tecidos ou células, os elementos responsáveis pelo controle do crescimento e desenvolvimento vegetal. A propagação de plantas ou parte de plantas, chamada de explantes, é feita em meio de cultura e ambiente asséptico, onde se controla a temperatura, o fotoperíodo, a umidade e a irradiância, em local apropriado, chamado de sala de crescimento.

A utilização desse método tem como vantagens obter a partir de um explante várias plantas independentemente das estações do ano, redução do tempo necessário à propagação da espécie, melhores condições sanitárias por meio do cultivo de meristemas previamente tratados por termoterapia, para eliminação de doenças, reprodução do genótipo da planta mãe, com fidelidade na multiplicação e a propagação vegetativa de espécies vegetais difíceis de serem propagadas por outros métodos (SCHUCH et al., 2005).

A produção de mudas através da micropropagação começou há mais de 20 anos na Itália, onde já existem viveiros produzindo mudas de porta-enxertos de pessegueiro com grandes vantagens fitossanitárias e morfológicas e, também tem sido acompanhada por uma intensa experimentação, que ainda continua com o objetivo de tornar a técnica mais eficiente (DE PAOLI et al., 2002).

No Brasil, os trabalhos de micropropagação de cultivares de porta-enxerto do gênero *Prunus*, especialmente para o pessegueiro, são relativamente escassos, e

tem apresentado alguns problemas durante a fase de multiplicação, devido principalmente ao baixo desenvolvimento das brotações e à pequena taxa de multiplicação dos explantes (RODRIGUES et al., 2003). Uma das formas de aumentar a taxa de estabelecimento e multiplicação dos explantes é com o ajuste do protocolo para cada espécie em estudo. Dentre os fatores mais importantes para ajustes, destacam-se o tipo de meio de cultura, o tipo e a concentração de citocinina (SILVEIRA et al., 2001).

Os explantes dos porta-enxertos de pessegueiro podem ser estabelecidos em diferentes tipos de meio de cultura (SILVA et al., 2003). O crescimento *in vitro* dos explantes também está relacionado com a formulação do meio de cultura, que tem a função de nutrir a gema, sendo este composto de macro e micronutrientes, vitaminas, aminoácidos, sacarose, agente gelificante e reguladores de crescimento vegetal (TEIXEIRA et al., 2001). O meio nutritivo pode apresentar variações nas respostas para tecidos de diferentes cultivares. Diversos meios vêm sendo testados, tais como, sais e vitaminas do MO (RUGINI, 1984), sais e vitaminas do MS (MURASHIGE & SKOOG, 1962) e sais e vitaminas do WPM, o qual foi originalmente desenvolvido para plantas lenhosas em geral (LLOYD & MCCOWN, 1980).

Além do meio de cultura, destaca-se o uso de citocininas, na fase de multiplicação *in vitro*, objetivando produzir o maior número possível de plantas, no menor espaço de tempo. Este regulador de crescimento é indispensável nessa fase para a quebra da dominância apical e indução e proliferação das gemas axilares (CHAVES et al., 2005), pois estão associados ao crescimento e desenvolvimento das plantas, participando no controle da divisão celular, estimulam o crescimento pela expansão mais que pelo alongamento (STOYNOVA et al., 2004). Das citocininas utilizadas, a 6-benzilaminopurina (BAP) é a que tem contribuído eficientemente na indução de gemas adventícias e multiplicação dos explantes, além de se destacar das demais por ser mais barata (GRATTAPAGLIA e MACHADO, 2011).

Dessa forma, objetivou-se identificar nas fases de estabelecimento e multiplicação o melhor meio de cultura e a concentração adequada de 6-benzilaminopurina na propagação *in vitro* de *Prunus*.

## 4.2. Material e Métodos

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Micropropagação de Plantas Frutíferas do Departamento de Fitotecnia da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, no período de abril de 2015 a fevereiro de 2016.

A fase de estabelecimento e a fase de multiplicação *in vitro* foram realizadas em dois experimentos distintos e a metodologia aplicada segue abaixo.

**Experimento 1:** Estabelecimento *in vitro* de umezeiro em diferentes meios de cultura e concentrações de BAP.

Para o estabelecimento *in vitro* de umezeiro, utilizaram-se plantas mantidas em estufa agrícola pertencente ao Laboratório de Propagação de Plantas Frutíferas, da Universidade Federal de Pelotas. As plantas tinham trinta meses de idade, e estavam em sacos plásticos com 25cm x 12cm de altura e diâmetro, respectivamente, conduzidas em sistema semi-hidropônico, irrigadas sempre que necessário com solução nutritiva, formulada por Schuch & Peil (2012), de acordo com as necessidades da cultura. Para diminuir a contaminação *in vitro*, as plantas matrizes foram pulverizadas a cada dois dias, por no mínimo três aplicações, com Kasumin<sup>®</sup> (bactericida) e Cercobin<sup>®</sup> (fungicida), nas concentrações de 3 ml L<sup>-1</sup> e 0,7 g L<sup>-1</sup>, respectivamente. Foram coletadas brotações novas com aproximadamente 2 cm, com duas gemas, as quais tiveram suas folhas removidas no ato da coleta. Primeiramente os explantes foram desinfestados, utilizando álcool a 70%, sob agitação, durante 1 minuto e posteriormente imersos em hipoclorito de sódio, na concentração de 2,5% de cloro ativo, adicionando-se duas gotas de Tween 20, durante 15 minutos em contato com os explantes, sob agitação. Na sequência, o material desinfestado foi lavado três vezes com água destilada autoclavada e esterilizada em câmara de fluxo laminar, para posterior isolamento dos explantes.

Após a desinfestação, os explantes com aproximadamente 2cm foram inoculados em meios de cultura constituídos pelos sais e vitaminas do WPM (LLOYD & MCCOWN, 1980) e por meio MS (MURASHIGE & SKOOG, 1962), adicionado BAP, e 30 g.L<sup>-1</sup> de sacarose, sendo o pH ajustado para 5,8 antes da adição de 7 g.L<sup>-1</sup> do ágar e, posteriormente, autoclavados a 121°C e 1,5 atm por 20 minutos. Adotou-se o delineamento inteiramente casualizado com fatorial: meios de

cultura (MS e WPM) e concentrações de BAP (0, 0.5, 1.0 e 1.5 mg L<sup>-1</sup>) com quatro repetições de 25 tubos, contendo um explante por tubo. Foram utilizados tubos de ensaio (150x20 mm) com 10 mL de meio de cultura. Após a inoculação, os tubos foram vedados com filme plástico e a seguir levados para sala de crescimento com fotoperíodo de 16 horas de luz e 8 horas de escuro com radiação de 27 μmol.m<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup> e temperatura de 25 ± 2°C. Os explantes foram colocados em caixas de papelão, vedados com fita adesiva, permanecendo no escuro por sete dias, para diminuir a oxidação fenólica. Após este período as grades contendo os tubos com os explantes ficaram nas condições da sala de crescimento até serem avaliados.

Realizaram-se avaliações aos 7, 14, 21 e 28 dias de cultivo, quanto à porcentagem de contaminação bacteriana e fúngica e porcentagem de explantes oxidados. Os frascos que apresentaram contaminação e/ou oxidação foram eliminados após registro. Aos 45 dias de cultivo o material foi avaliado quanto à porcentagem de estabelecimento, que foi determinado pelo desenvolvimento de primórdios foliares e presença de brotações.

Os dados obtidos foram analisados quanto à normalidade pelo teste de Shapiro Wilk; à homocedasticidade pelo teste de Hartley; e, a independência dos resíduos por análise gráfica. Posteriormente, os dados foram submetidos à análise de variância através do teste F ( $p \leq 0,05$ ). Constatando-se significância estatística, os efeitos dos meios foram comparados pelo teste t ( $p \leq 0,05$ ) e, a diferença mínima significativa (DMS) do teste foi plotada no gráfico, as diferenças entre os níveis do tratamento foram consideradas significativas quando não houve sobreposição entre as barras verticais. Os efeitos das concentrações (mg L<sup>-1</sup>) foram avaliados por modelos de regressão ( $p \leq 0,05$ ), conforme segue:  $y = y_0 + ax$ ;  $y = y_0 + ax + bx^2$ , onde:  $y$  = variável resposta;  $y_0$  = variável resposta correspondente ao ponto mínimo da curva;  $a$  = valor máximo estimado para a variável resposta;  $b$  = declividade da curva;  $x$  = doses (mg L<sup>-1</sup>).

**Experimento 2:** Multiplicação de umezeiro e Marianna com diferentes concentrações de BAP.

Foram utilizados segmentos, com aproximadamente 2 cm de comprimento retirados de brotações de explantes mantidos em sala de crescimento em tubos de ensaio por um período de 60 dias. Os explantes foram inoculados em frascos com 40 mL de meio de cultura WPM (LLOYD & MCCOWN, 1980), adicionado BAP, e 30 g.L<sup>-1</sup> de

sacarose, sendo o pH ajustado para 5,8 antes da adição de  $7 \text{ g.L}^{-1}$  do Agar. Adotou-se o delineamento inteiramente casualizado com fatorial: Porta-enxertos (umezeiro e Marianna) e concentrações de BAP (0, 0.5, 1.0 e  $1.5 \text{ mg L}^{-1}$ ) com quatro repetições por tratamento, sendo a unidade experimental composta por um frasco contendo cinco explantes. Os frascos com o meio de cultura foram autoclavados à temperatura de  $121 \text{ }^\circ\text{C}$  e  $1,5 \text{ atm}$  durante 20 minutos. Após a inoculação, os frascos com os explantes foram transferidos para sala de crescimento com fotoperíodo de 16 horas de luz e 8 horas de escuro com radiação de  $27 \mu\text{mol.m}^{-2}\text{s}^{-1}$  e temperatura de  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ , permanecendo nestas condições por 45 dias. Ao final deste período de cultivo foram avaliados: número e comprimento de brotação (cm), altura da brotação (cm), (nesse caso, foi medida a altura da brotação principal), as medidas foram realizadas com uma régua graduada, número de gemas, massa fresca (g) e seca (g) As avaliações de peso foram realizadas com balança analítica e o material vegetal foi colocado para secar em estufa até obter o peso seco constante, e a taxa de multiplicação, que foi obtida pela divisão do número de gemas finais pelo número de gemas iniciais.

Os dados obtidos foram analisados quanto à normalidade pelo teste de Shapiro Wilk; à homocedasticidade pelo teste de Hartley; e, a independência dos resíduos por análise gráfica. Posteriormente, os dados foram submetidos à análise de variância através do teste F ( $p \leq 0,05$ ). Constatando-se significância estatística, os efeitos das cultivares foram comparados pelo teste t ( $p \leq 0,05$ ) e, a diferença mínima significativa (DMS) do teste foi plotada no gráfico, as diferenças entre os níveis do tratamento foram consideradas significativas quando não houve sobreposição entre as barras verticais. Os efeitos das concentrações ( $\text{mg L}^{-1}$ ) foram avaliados por modelos de regressão ( $p \leq 0,05$ ), conforme segue:  $y = y_0 + ax$ ;  $y = y_0 + ax + bx^2$ , onde:  $y$  = variável resposta;  $y_0$  = variável resposta correspondente ao ponto mínimo da curva;  $a$  = valor máximo estimado para a variável resposta;  $b$  = declividade da curva;  $x$  = doses ( $\text{mg L}^{-1}$ ).



**Figura 26:** Explante de porta-enxerto Marianna, UFPel, Pelotas-RS, 2016.



**Figura 27:** Explantes *in vitro* de umezeiro mantidos em meio de cultura WPM, UFPel, Pelotas-RS, 2016.

### 4.3. Resultados e Discussão

**Experimento 1:** Estabelecimento *in vitro* de umezeiro em diferentes meios de cultura e concentrações de BAP.

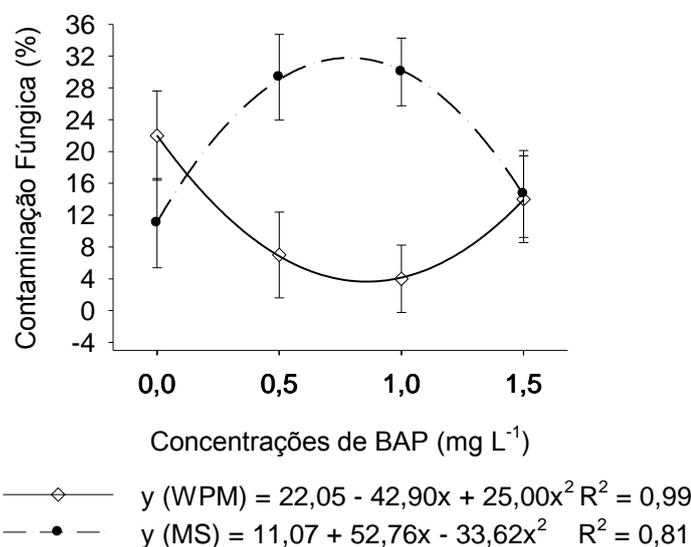
Ocorreram interações significativas para as variáveis dependentes, contaminação fúngica e bacteriana e explantes estabelecidos, entre os fatores de tratamento meios e concentrações. Não foi observada diferença estatística para oxidação fenólica dos explantes, sendo que o maior número de explantes oxidados foram observados aos 45 dias, ou seja, 18% de oxidação. Também não se observou diferenças significativas para todas variáveis analisadas aos 21 e 28 dias.

Na primeira avaliação, aos sete dias, a maior porcentagem de contaminação fúngica foi verificada em meio de cultura MS (30%), utilizando 0.5 e 1.0 mg L<sup>-1</sup> de BAP diferindo das demais concentrações testadas e o meio WPM resultou com 22% de explantes contaminados por fungos sem adição de BAP ao meio de cultura (Figura 28). Estes resultados mostram que os meios influenciam a contaminação fúngica, provavelmente devido as diferentes concentrações de sais de cada meio de cultura. Estes resultados diferem dos encontrados por Donini et al., (2008a), que estabelecendo oliveira “Arbequina” em três meios de cultura (MO, MS e WPM) e três concentrações de zeatina (zero, dois e quatro mg L<sup>-1</sup>), encontraram 92,95% de explantes contaminados por fungos, cultivados em meio MS. De acordo com Erig e Schuch (2003), as plantas lenhosas, em que são incluídas a maioria das plantas frutíferas, apresentam dificuldades para o estabelecimento *in vitro*, principalmente devido à contaminação e oxidação.

Ao realizar a comparação entre as concentrações observou-se que os explantes em meio MS, que foram mantidos nas doses 0.5 e 1.5 mg L<sup>-1</sup> de BAP obtiveram decréscimos significativo de contaminação bacteriana, ou seja, 92% destes explantes não contaminaram, quando comparados a concentração zero. Para o meio WPM observou-se maior contaminação sem o uso e com 1.5 mg L<sup>-1</sup> de BAP e a menor taxa foi observada nas concentrações de 0.5 e 1.0 mg L<sup>-1</sup>.

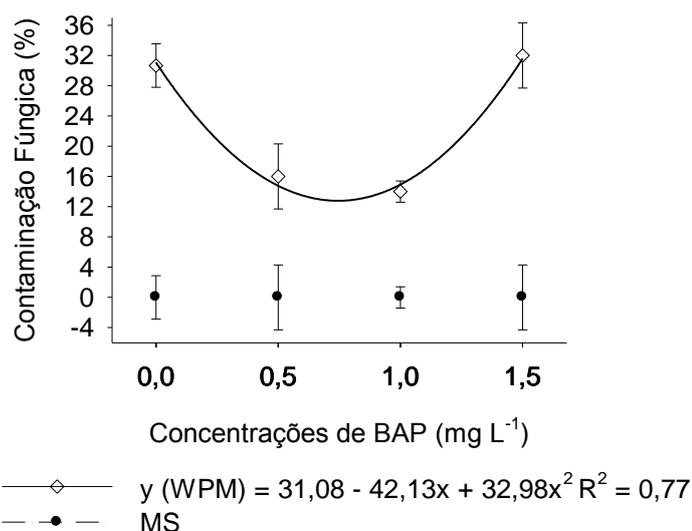
Observando-se a figura 28, notou-se uma resposta quadrática da linha de tendência para o meio WPM e MS, ao realizar a comparação entre as concentrações observou-se que quando os explantes mantidos em meio WPM e expostos as concentrações de BAP, ocorreu uma diminuição significativa na contaminação por fungos quando comparados ao controle (concentração zero). No entanto, os

explantes mantidos em meio MS tiveram um aumento significativo na contaminação fúngica quando expostos a 1.0 mg L<sup>-1</sup> de BAP, comparados ao controle (concentração zero).



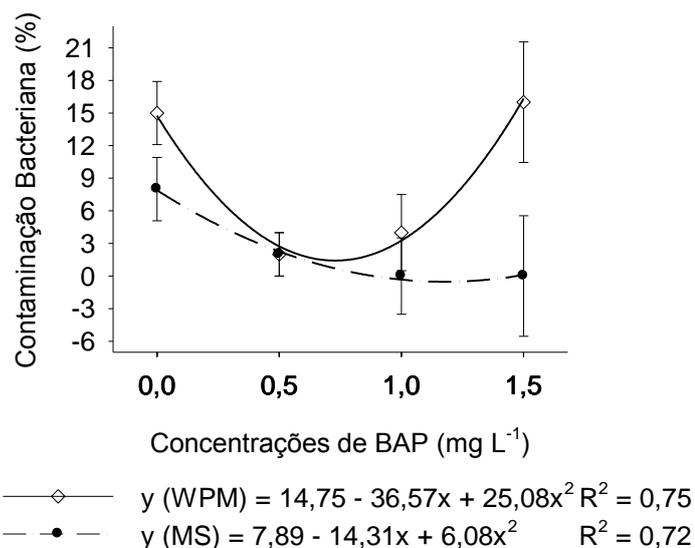
**Figura 28:** Porcentagem de explantes de umezeiro contaminados por fungos, aos sete dias, em função das concentrações e dos meios de cultivo *in vitro*. UFPel, Pelotas/RS, 2016. (As barras verticais representam a DMS do teste t ( $p \leq 0,05$ )).

Quanto ao meio MS para todas as concentrações de BAP utilizadas no experimento, observou-se que não ocorreu contaminação fúngica, na segunda avaliação (14 dias de cultivo), já no meio WPM foi diferente, pois a maior contaminação (29%) notou-se com a maior concentração de BAP (1.5 mg L<sup>-1</sup>), mas não diferiu estatisticamente da concentração zero (Figura 29). Estes dados são considerados baixos em relação aos encontrados por Dias et al. (2013) em estudo com carvão ativado e estiolamento no estabelecimento de romãzeira (*Punica granatum* L.), estes autores verificaram 51,56% de contaminação fúngica aos 10 dias de cultivo *in vitro*. Enquanto que Moreira (2014) estabelecendo oliveira da cultivar Arbequina em meio WPM, observou que a porcentagem de contaminação aumentava a cada período de avaliação, resultando com a maior porcentagem (9,89%) aos 28 dias de cultivo. Ao comparar a concentração 1.0 e 1.5 mg L<sup>-1</sup> de BAP ocorreu acréscimo superior a 150% no percentual de contaminação fúngica aos 14 dias (Figura 29).



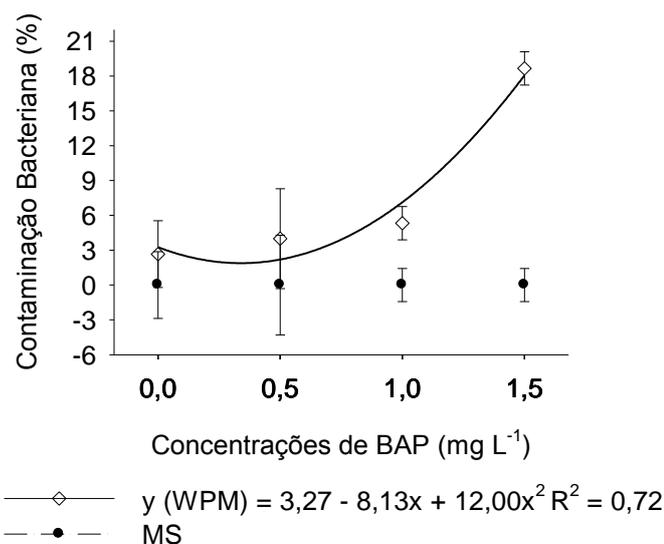
**Figura 29:** Porcentagem de explantes de umezeiro contaminados por fungos, aos 14 dias, em função das concentrações e dos meios de cultivo *in vitro*. UFPel, Pelotas/RS, 2016. (As barras verticais representam a DMS do teste t ( $p \leq 0,05$ )).

Ao comparar os meios de cultivo, aos sete dias, os explantes mantidos no meio MS apresentaram contaminação bacteriana maior sem BAP, enquanto que mantidos no meio WPM contaminaram mais sem o uso e com  $1,5 \text{ mg L}^{-1}$  de BAP. Observou-se nos meios MS e WPM, que os explantes mantidos nas concentrações de  $0,5$  e  $1,0 \text{ mg L}^{-1}$  de BAP resultaram com menor contaminação por bactérias. Os dados para os meios WPM e MS ajustaram-se adequadamente ao modelo de regressão polinomial quadrático (Figura 30). Esse resultado encontrado pode ter ocorrido porque as bactérias endógenas dos explantes encontraram condições de crescimento ideais, aos sete dias de cultivo *in vitro*, embora possa ser difícil de fazer um diagnóstico.



**Figura 30:** Porcentagem de explantes de umezeiro contaminados por bactérias, aos sete dias, em função das concentrações e dos meios de cultivo *in vitro*. UFPel, Pelotas/RS, 2016. (As barras verticais representam a DMS do teste t ( $p \leq 0,05$ )).

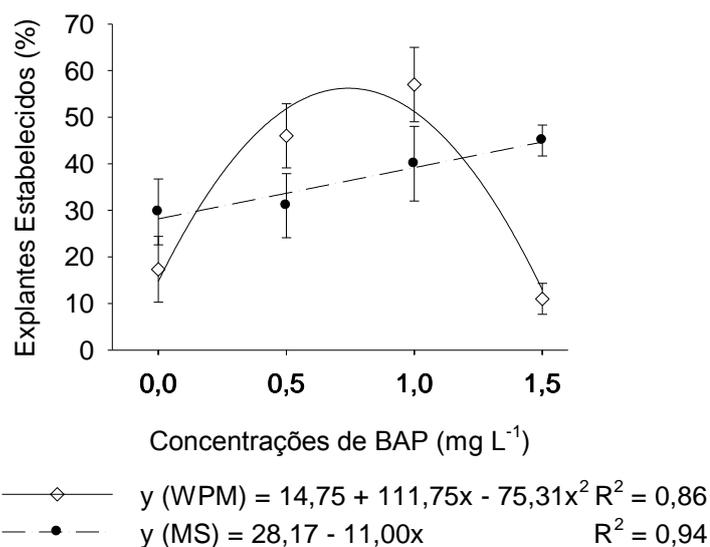
Na contaminação bacteriana aos 14 dias, encontrou-se diferenças significativas entre as concentrações de 1.0 e 1.5 mg L<sup>-1</sup> de BAP, quando os explantes eram mantidos em meio WPM. Os dados para o meio WPM ajustaram-se adequadamente ao modelo de regressão polinomial quadrático ( $F = 11,7225$  e  $p = 0,0031$ ). Para o meio MS não foram registradas contaminações bacterianas ao longo das concentrações testadas, em função desse comportamento não foi possível realizar ajuste de modelo de regressão (Figura 31). Resultados satisfatórios foram encontrados por Rocha et al.(2007) onde aos 30 dias de cultivo do porta-enxerto da cultivar Tsukuba, observou que somente (0,35%) dos explantes estavam contaminados por bactéria. Enquanto que Silva et al.(2003) obtiveram percentuais de contaminações diferentes ao estabelecerem os porta-enxertos Capdeboscq, GF677 e VP411, resultando com 14,8% a 29,8%, respectivamente.



**Figura 31:** Porcentagem de explantes de umezeiro contaminados por bactérias, aos 14 dias, em função das concentrações e dos meios de cultivo *in vitro*, UFPel, 2016. (As barras verticais representam a DMS do teste t ( $p \leq 0,05$ )).

Para a variável estabelecimento, houve interação entre os fatores de tratamento onde a maior porcentagem de explantes estabelecidos ocorreu em meio WPM (57%) acrescidos de 1.0 mg L<sup>-1</sup> de BAP, mas não diferindo estatisticamente da concentração 0.5 mg L<sup>-1</sup> (Figura 32). O meio MS resultou com mais explantes estabelecidos (45%) utilizando 1.5 mg L<sup>-1</sup> de BAP. Testando o efeito das concentrações de sais do meio de cultura e BAP utilizando o porta-enxerto Tsukuba, Rocha (2006) encontrou porcentagens de estabelecimento diferentes, onde 96% dos explantes estabeleceram em meio MS. Esse resultado pode ser considerado elevado, quando comparado ao resultado obtido neste estudo utilizando meio MS, onde 45% dos explantes estabeleceram.

Os dados para o meio WPM ajustaram-se adequadamente ao modelo de regressão polinomial quadrático, enquanto que para o meio MS uma resposta linear da linha de tendência foi observada, demonstrando que o aumento na concentração de BAP favorece o estabelecimento dos explantes de umezeiro.



**Figura 32:** Porcentagem de explantes de umezeiro estabelecidos, aos 45 dias, em função das concentrações e dos meios de cultivo in vitro. UFPel, Pelotas/RS, 2016. (As barras verticais representam a DMS do teste t ( $p \leq 0,05$ )).



**Figura 33:** Explantes de umezeiro mantidos meio de cultura WPM, UFPel, Pelotas-RS, 2016.

**Experimento 2:** Multiplicação de umezeiro e Marianna com diferentes concentrações de BAP.

Constatou-se que houve interação entre as cultivares e as concentrações de BAP para número e comprimento de brotações e efeito simples para cultivar

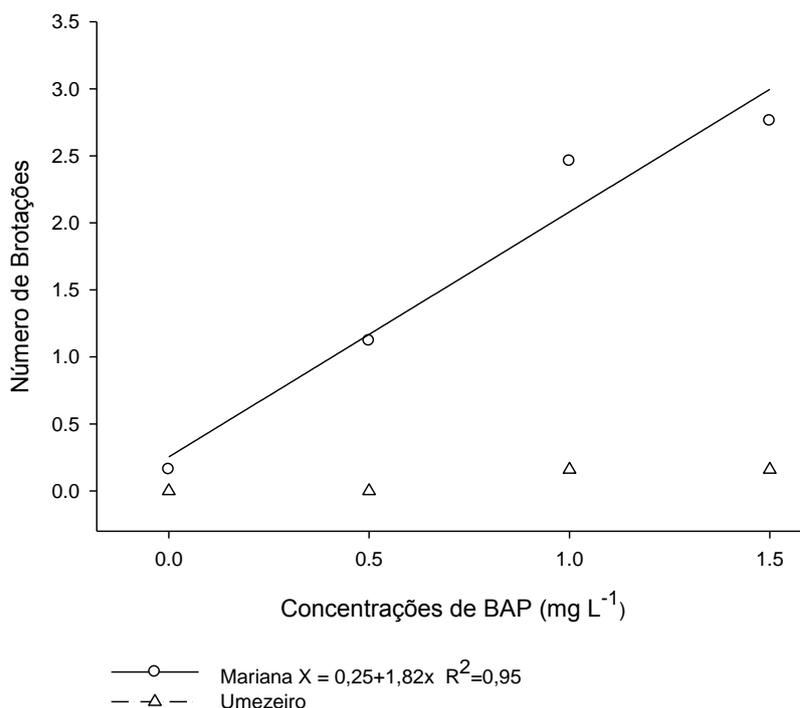
observado nas variáveis: altura da brotação, número de gemas, massa fresca e seca e a taxa de multiplicação.

Marianna obteve maior número e comprimento de brotações acrescidos de 1.0 e 1.5 mg L<sup>-1</sup> de BAP diferindo do umezeiro (Figura 35). Sem a aplicação de BAP, Marianna e umezeiro resultaram com menos brotações provando que esta citocinina estimula o crescimento pela expansão celular.

A regressão polinomial para a variável número de brotações apresentou uma resposta linear da linha de tendência para Marianna, atingindo os pontos de máximo com 2,76 brotações com 1.5 mg L<sup>-1</sup> de BAP, enquanto para umezeiro não foram registradas diferenças para esta variável ao longo das concentrações testadas, em função desse comportamento não foi possível realizar ajuste de modelo de regressão (Figura 34).

Resultados diferentes foram encontrados por Oliveira et al. (2007), em experimentos visando à indução de brotações em *Annona glabra* L., observaram a formação de 1,33 e 1,26 brotos por explante quando adicionaram ao meio de cultura WPM 1.0 mg L<sup>-1</sup> de BAP (6-benzilaminopurina) e CIN (cinetina), respectivamente. Enquanto que Santos et al. (2005) trabalhando com explantes caulinares de *Anana erectifolius* L. B. Smith, verificaram a formação de maior número de brotos (5,83 por explante) em meio de cultura suplementado com 2.0 mg L<sup>-1</sup> de BAP.

O número de brotações é uma variável importante, pois indica a viabilidade técnica da cultura de tecidos como um método de propagação massal de determinadas espécies frutíferas.

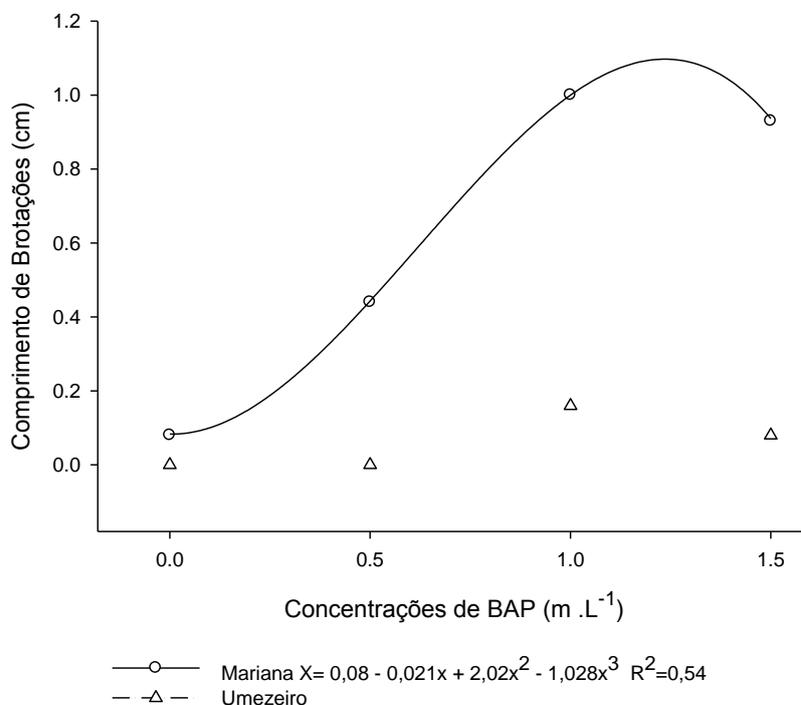


**Figura 34:** Número de brotações formadas pelos porta-enxertos Marianna e umezeiro, cultivados em diferentes concentrações de BAP. UFPel, Pelotas-RS, 2016.

Com relação ao comprimento médio das brotações, observou-se que o ajuste da equação para Marianna foi cúbica, demonstrando que com a maior concentração de BAP ocorreu uma diminuição do comprimento das brotações, embora estatisticamente não tiverem diferindo entre 1.0 e 1.5 mg L<sup>-1</sup> de BAP, e para as mesmas concentrações houve diferença entre as cultivares utilizadas, sendo que a cultivar Marianna resultou com brotações mais compridas em todas as concentrações utilizadas (Figura 35). Para umezeiro não foram registradas diferenças no comprimento de brotações formadas ao longo das concentrações testadas, em função desse comportamento não foi possível realizar ajuste de modelo de regressão.

Esta diferença no comprimento médio das brotações pode ser atribuída a características de ordem genética, pois mesmo sendo da mesma espécie, os porta-enxertos de *Prunus* podem ter comportamentos *in vitro* diferentes de acordo com a cultivar (ROCHA,2006). Segundo Silva et al. (2003), o comprimento da brotação é determinado pelo fator genético, concentração do regulador de crescimento e tipo de

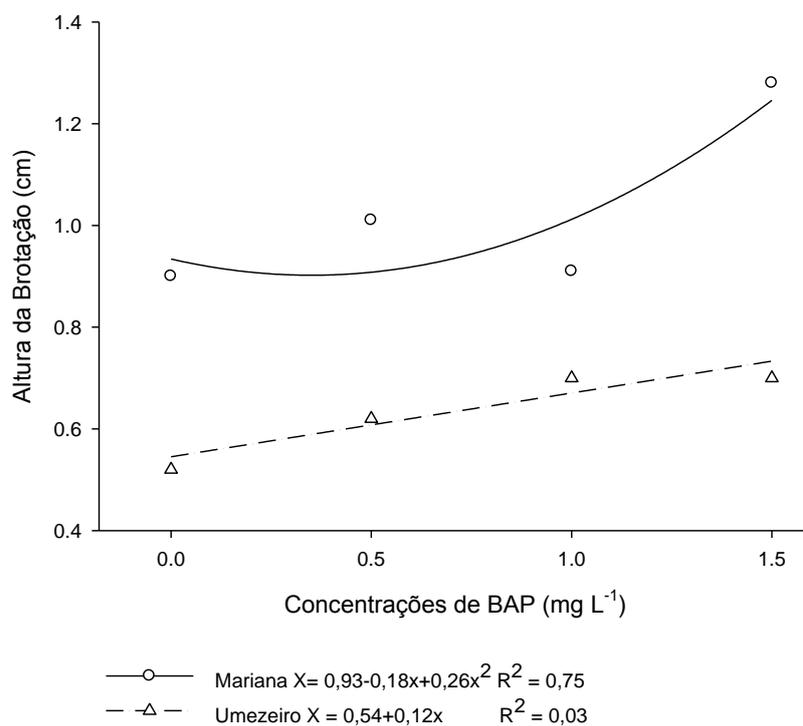
meio de cultura. O tamanho das brotações oriundas da fase de multiplicação é fator determinante para a próxima etapa de enraizamento.



**Figura 35:** Comprimento de brotações formadas pelos porta-enxertos Marianna e umezeiro, cultivados em diferentes concentrações de BAP. UFPel, Pelotas-RS, 2016.

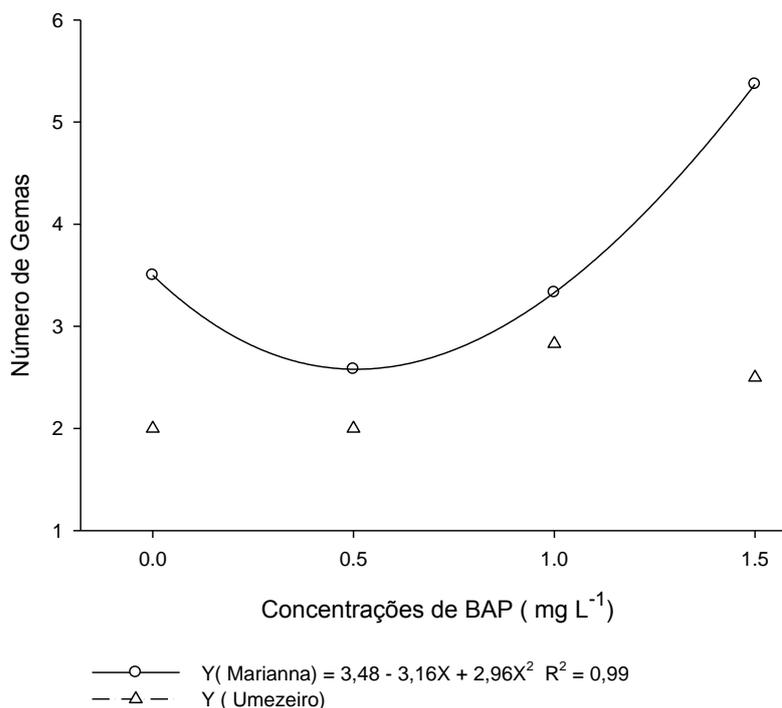
Ao avaliar a altura da brotação, verificou-se efeito simples para cultivar. A cultivar Marianna obteve a maior altura da brotação (1,28 cm) em resposta à concentração de 1,5 mg L<sup>-1</sup> de BAP, já o umezeiro com a mesma concentração resultou com 0,70 cm de altura (Figura 36). Avaliando o potencial de multiplicação *in vitro* do porta-enxerto 'Carelli' sob efeito de diferentes concentrações de BAP Teixeira et al. (2004) observaram um decréscimo na altura dos brotos com o aumento nas concentrações de BAP. Também os mesmos autores observaram que a maior altura média de brotos (16,2 mm) foi obtida na ausência de BAP.

Os dados para Marianna ajustaram-se adequadamente ao modelo de regressão polinomial quadrático, enquanto que para umezeiro ocorreu uma resposta linear da linha de tendência, demonstrando que o aumento na concentração de BAP favorece o crescimento na altura da brotação (Figura 36).



**Figura 36:** Altura da brotação dos porta-enxertos Marianna e umezeiro, cultivados em diferentes concentrações de BAP. UFPel, Pelotas-RS, 2016.

Para a variável número de gemas houve efeito apenas para cultivar. Sendo a cultivar Marianna com adição de  $1,5 \text{ mg L}^{-1}$  de BAP resultou com maior número de gemas (3,37), enquanto que umezeiro apresentou apenas 0,50 gemas com a mesma concentração de BAP. Resultados semelhantes foram encontrados por Silveira et.al. (2001), avaliando os porta-enxertos Marianna e Mr.S 2/5, onde à medida que aumentou a concentração de BAP, houve um acréscimo também no número de gemas. Para umezeiro não foram registrados diferenças no número de gemas formadas ao longo das concentrações testadas, em função desse comportamento não foi possível realizar ajuste de modelo de regressão e para Marianna ocorreu uma resposta quadrática da linha de tendência (Figura 37). Ao realizar a comparação entre as concentrações observou-se que quando os explantes foram expostos a  $1,5 \text{ mg L}^{-1}$  de BAP, estes obtiveram acréscimos no número de gemas de 63% quando comparados a concentração zero.

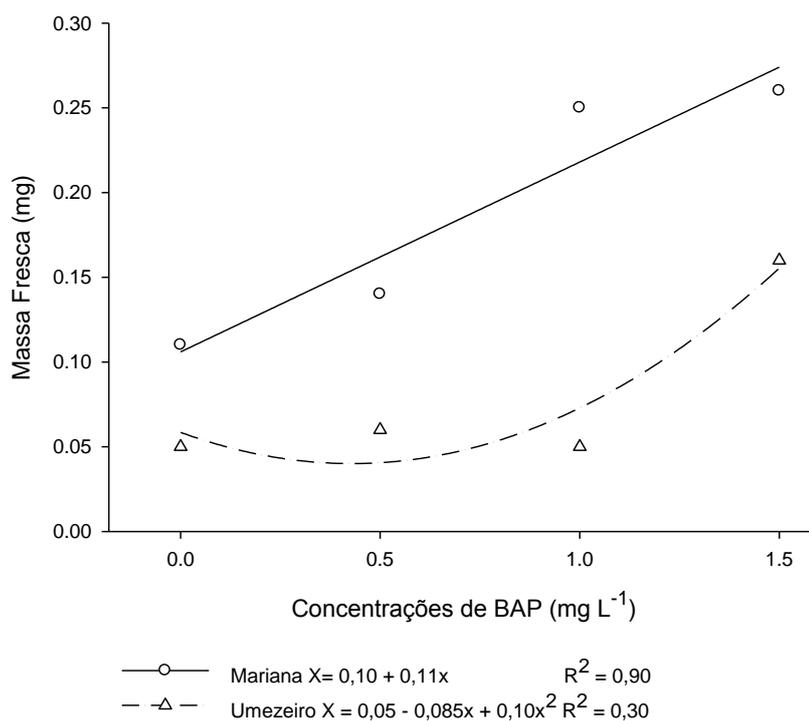


**Figura 37:** Número de gemas dos porta-enxertos Marianna e umezeiro, cultivados em diferentes concentrações de BAP. UFPel, Pelotas-RS, 2016.

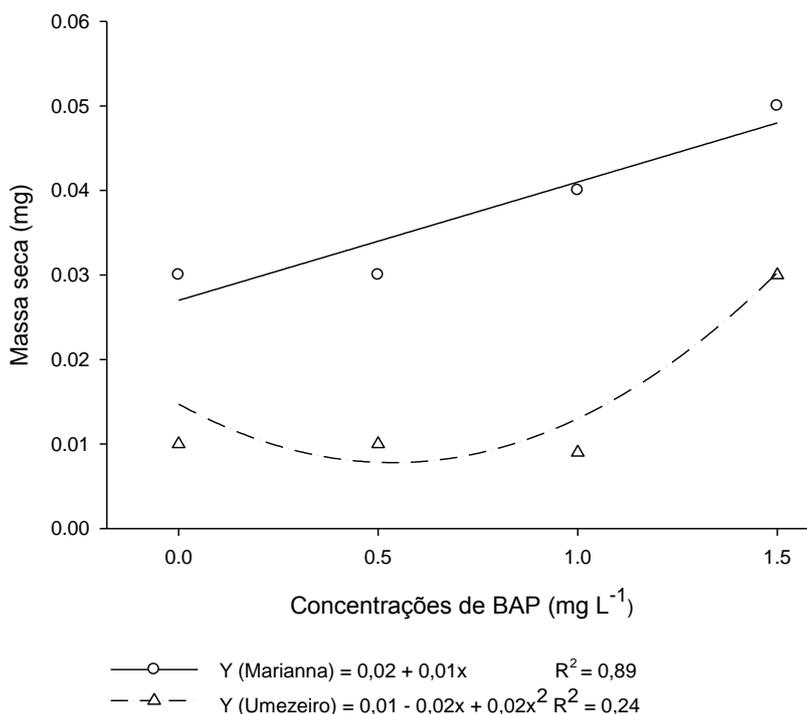
As variáveis massa fresca e seca apresentaram um efeito significativo simples para o fator cultivar. As regressões polinomiais apresentaram um ajuste de retas linear para Marianna e quadrática para umezeiro, tanto para massa fresca, quanto para massa seca, conforme (Figuras 38 e 39). Marianna atingiu o ponto de máximo de massa fresca e seca na concentração de 1.0 mg L<sup>-1</sup>, mas não diferiu estatisticamente da concentração de 1.5 mg L<sup>-1</sup> de BAP, enquanto que umezeiro resultou com maior massa fresca e seca com a concentração de 1.5 mg L<sup>-1</sup> de BAP. Ao avaliarem porta-enxerto de videira, Villa et al. (2007) encontraram maior massa da matéria fresca (1,52 g) da parte aérea com 2.0 mg L<sup>-1</sup> de BAP e na ausência de carvão ativado. As respostas observadas para essas variáveis, no presente trabalho, diverge da encontrada por Dutra et al. (2004), em trabalhos de multiplicação *in vitro* de oliveira (*Olea europaea* L.), no qual, a medida em que se aumentou a concentração de BAP, houve redução da massa seca.

Esse comportamento se justifica pelo fato das demais variáveis analisadas terem sido menores para umezeiro, e assim as citocininas não estimularam a

multiplicação celular e proliferação de gemas axilares, promovendo menor produção de parte aérea e, conseqüentemente, de massa fresca e seca. Os porta-enxertos responderam diferentemente às concentrações de BAP demonstrando que as necessidades das cultivares dentro de uma mesma espécie são diferentes.



**Figura 38:** Massa fresca dos explantes de porta-enxertos Marianna e umezeiro, cultivados em diferentes concentrações de BAP. UFPel, Pelotas-RS, 2016.



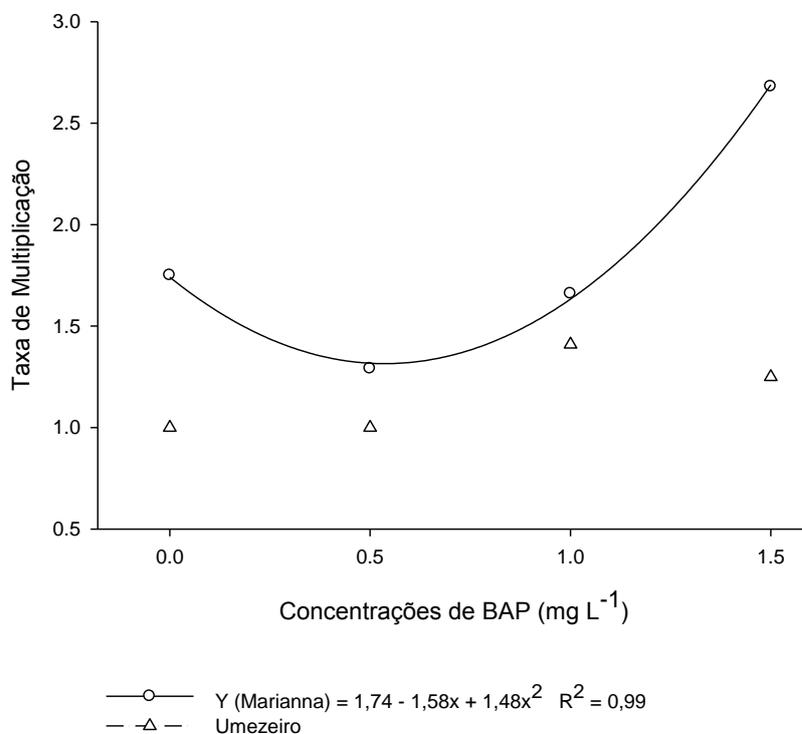
**Figura 39:** Massa seca dos explantes de porta-enxertos Marianna e umezeiro, cultivados em diferentes concentrações de BAP. UFPel, Pelotas-RS, 2016.

A taxa de multiplicação foi maior para Marianna (2,7), utilizando 1.5 mg L<sup>-1</sup> de BAP. O porta-enxerto umezeiro não resultou com diferenças na taxa de multiplicação nas diferentes concentrações testadas, em função desse comportamento não foi possível realizar ajuste de modelo de regressão e para Marianna ocorreu uma resposta quadrática da linha de tendência (Figura 40). De acordo com Santos et al. (2006), uma maior taxa de multiplicação *in vitro* implica na maior velocidade do processo de micropropagação e na redução da necessidade de constante estabelecimento de novas culturas.

De acordo com Halupa (2002), a taxa de multiplicação é dependente do estado nutricional dos explantes e das condições ambientais, contudo o mesmo autor destaca a juvenildade dos explantes, como fator determinante para a obtenção de elevadas taxas de multiplicação e alongamento das brotações.

Com os resultados obtidos observou-se uma resposta dependente do genótipo dos porta-enxertos de pessegueiro e dos meios de cultura utilizados no experimento e, isto poderia ser atribuído à necessidade de diferentes níveis de reguladores de crescimento suplementados ao meio de cultura, bem como possíveis

interações entre os reguladores de crescimento e os sais presentes no meio de cultura.



**Figura 40:** Taxa de multiplicação dos porta-enxertos Marianna e umezeiro, cultivados em diferentes concentrações de BAP. UFPel, Pelotas-RS, 2016.



**Figura 41:** Explante de porta-enxerto Marianna, UFPel, Pelotas-RS, 2016.

#### 4.4. Conclusões

**Experimento 1:** O meio WPM, suplementado com  $1.0 \text{ mg L}^{-1}$  de BAP, na fase de estabelecimento induz as melhores respostas para a propagação *in vitro* do porta-enxerto umezeiro.

**Experimento 2:** A concentração de  $1.5 \text{ mg L}^{-1}$  de BAP é mais indicado para a multiplicação do porta-enxerto Marianna.

## 5. Considerações Finais

As miniestacas apicais, medianas e basais de umezeiro apresentaram índices consideráveis de enraizamento com o uso de  $1.000 \text{ mg L}^{-1}$  de AIB.

Para o enraizamento de *Prunus*, o uso de auxinas é imprescindível.

As cultivares apresentaram diferenças no processo rizogênico entre os diferentes dias de cultivo, pois cada cultivar demonstrou o máximo de enraizamento em diferentes dias de avaliação.

Os porta-enxertos podem ser estabelecidos e multiplicados em meio de cultura WPM e com o uso de reguladores de crescimento (BAP).

## Referências

AGUIAR, R.S.de; SANTOS,C.E.dos; ZIETEMANN,C; ASSIS,A.M.de; MORAIS , V.J.de; ROBERTO,S.R; Enraizamento de estacas semilenhosas do pessegueiro 'Okinawa' submetidas a diferentes dosagens de ácido indolbutírico, **Acta Scientia Agronomy**, Maringá, v. 27, n. 3, p. 461-466, July/Sept., 2005.

ALCANTARA, G. B. de.; RIBAS, L. L. F.; HIGA, A. R.; RIBAS, K. C. Z.; KOEHLER, H. S. Efeito da idade da muda e da estação do ano no enraizamento de miniestacas de *Pinus taeda* L. **Revista Árvore**, v. 31, n. 3, p. 399-404, 2007.

ALTOÉ, J. A.; MARINHO, C. S. Miniestaquia seriada na propagação da goiabeira 'Paluma'. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 34, n. 2, p. 576-580, 2012.

ALTOÉ, J. A.; MARINHO, C. S.; TERRA, M. I. C. da.; CARVALHO, A. J. C. Multiplicação de cultivares de goiabeira por miniestaquia. **Bragantia**, v. 70, n. 4, p. 801-809, 2011.

ANUÁRIO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA 2014. Santa Cruz do Sul: **Editora Gazeta**, 92p, 2016.

BLAZICH, FRANK A.; Rooting for You: Auxins and Adventitious Rooting, 2001. Department of Horticultural Science. North Carolina State University Raleigh, NC 27695-76092001 NC Nursery Short Course 25.

BORGES, A. F.; TIMM, C. R. F.; CASARIN, J. V.; MOREIRA, R. M.; ANTUNES, L. E. C.; SCHUCH, M. W. Influência do substrato no enraizamento de miniestacas de uvaieira (*Eugenia pyriformis* Cambess.). In: XV Encontro de Pós-Graduação UFPel, , Pelotas. **Resumos...**, 2013.

BORGES, S. R.; XAVIER, A.; OLIVEIRA, L. S.; MELO, L. A.; ROSADO, A. M. Enraizamento de miniestacas de clones híbridos de *Eucalyptus globulus*. **Revista Árvore**, v. 35, n. 3, p. 425-434, 2011.

BRONDANI, G. E.; WENDLING, I.; ARAUJO, M. A.; PIRES, P. P. Ácido indolbutírico em gel para o enraizamento de miniestacas de *Eucalyptus benthamii* Maiden & Cambage x *Eucalyptus dunnii* Maiden. **Scientia Agraria**, v. 9, n. 2, p. 153-158, 2008.

BRONDANI, G. E.; WENDLING, I.; SANTIN, D.; BENEDETTI, E. L.; ROVEDO, L. F.; ORRUTÉA, A. G. Ambiente de enraizamento e substrato na miniestaquia de erva-mate. **Scientia Agraria**, v. 8, n. 3, p. 257-267, 2007.

BRONDANI, G.; E.; GROSSI, F.; WENDLING, I.; DUTRA, L.; F.; ARAUJO, M.; A.; Aplicação de IBA para o enraizamento de miniestacas de *Eucalyptus benthamii* Maiden & Cambage x *Eucalyptus dunnii* Maiden. **Acta Scientiarum Agronomy Maringá**, v. 32, n. 4, p. 667-674, 2010.

BRONDANI, G.E.; BACCARIN, F.J.B.; WIT ONDAS, H.W. de; GONÇALVES, A.N.; ALMEIDA, M. de. Avaliação morfológica e produção de minijardim clonal de *Eucalyptus benthamii* em relação a Zn e B. **Pesquisa Florestal Brasileira**, v.32, p.151-164, 2012. DOI: 10.4336/2012.pfb.32.70.35.

BUAINAIN, A. M.; BATALHA, M. O. Cadeia produtiva de frutas. Brasília : IICA/MAPA/SPA,. v.7, 102 p. 2007.

CAMOLESI, R.M.; Unemoto, K. L.; Sachs, D. J. P.; Roberto, R.; Sato, J. A.; Faria, RODRIGUES P.A., B.E.; SILVA, V. J. da ; Enraizamento de estacas semilenhosas de pessegueiro “Okinawa” sob efeito de lesão e ácido indolbutírico. **Ciência Rural**, v.37, n.6, P 1805-1808 nov-dez, 2007. ISSN 0103-8478.

CAMPO DALL´ORTO, F.A; OJIMA, M.; BARBOSA, W.; MARTINS, F.P. Damasco japonês (Umê) – *Prunus x Mume* Sieb. & Zucc. In: INSTITUTO AGRONÔMICO. **Instruções agrícolas para as principais culturas econômicas**. 6.ed. Campinas: IAC, p.176-179. 1997.

CAMPO DALL´ORTO, F.A.; BARBOSA, W.; OJIMA, M.; MARTINS, F.P.; FOBÉ, L.A. Comportamento de pessegueiros IAC enxertados no damasqueiro japonês e no pessegueiro ‘Okinawa’. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 13, 1994, Salvador. **Anais...** Salvador: SBF. v.3, p.879-880, 1994.

CAMPO DALL´ORTO, F.A.; OJIMA, M.; BARBOSA, W.; MARTINS, F.P. Damasco japonês (umê) em São Paulo: opção para o século 21. **O Agrônomo**, Campinas, v.47/50, p.18-20, 1995/1998. (Boletim Técnico Informativo).

CAMPO DALL'ORTO, F.A.; OJIMA, M.; BARBOSA, W.; MARTINS, F.P. O nanismo do pessegueiro induzido pela enxertia no damasqueiro-japonês. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.27, n.3, p.517-521, 1992.

CAMPOS, A. D; ANTUNES, L. E. C; RODRIGUES, A. C.; UENO, B.. Enraizamento de estacas de mirtilo provenientes de ramos lenhosos. **Comunicado Técnico**, Embrapa Clima Temperado, Pelotas, documento n.133, p.3, 2005.

CAPPELLARO, T. H. **Produção de mudas de oliveira em sistemas de cultivo sem solo**. 105f. Tese (Doutorado em Agronomia), Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, 2013.

CAPPELLARO, T. H.; SCHUCH, M. W.; PEREIRA, R. R.; MORO, T. C.; CAMARGO, S. S. Enraizamento de miniestacas de oliveira. In: XII ENFRUTE, Encontro Nacional sobre Fruticultura de Clima Temperado, Fraiburgo/SC. **Resumos...**, p.117. 2011.

CARDOSO, C.; YAMAMOTO, L. Y.; PRETI, E. A.; ASSIS, A. M. DE.; NEVES, C. S. V. J.; ROBERTO, S. R.; AIB e substratos no enraizamento de estacas de pessegueiro 'Okinawa' coletadas no outono. **Revista Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 32, n. 4, p. 1307-1314, out./dez. 2011.

CARVALHO JUNIOR, W. G. O.; MELO, M. T. P. de; MARTINS, E. R. Comprimento da estaca no desenvolvimento de mudas de alecrim-pimenta. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 39, n. 7, p. 2199-2202, out. 2009.

CARVALHO, G. L.; AFFONSO, L. B.; RAASCH, C. G.; SCHEUNEMANN, L. C.; SCHUCH, M. W. Crescimento de mudas obtidas por miniestaquia em pitangueira no sistema floating. In: VI Encontro sobre pequenas frutas e frutas nativas do Mercosul, Pelotas. **Resumos...**, p.89. 2014.

CARVALHO, R. I. N. de.; SILVA, I. D. de.; FAQUIM, R. Enraizamento de Miniestacas herbáceas de maracujazeiro amarelo. **Revista Semina: Ciências Agrárias** v. 28, n. 3, p. 387-392, 2007.

CASARIN, J. V. **Enraizamento de miniestacas de oliveira (*Olea europaea* L.) coletadas em minijardim clonal nos sistemas de cultivo sem solo e convencional em diferentes épocas do ano**. 2015. 130f. Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Agronomia. Universidade Federal de Pelotas. Pelotas, 2015.

CHAGAS, E. A.; PIO, R.; NETO, J. E. B.; SOBIERAJSKI, G. DA R.; DALL'ORTO, F. A. C.; SIGNORINI, G.; Enraizamento de estacas lenhosas de pessegueiro e clones de umezeiros submetidos à aplicação de AIB. **Ciência Agrotecnica**, Lavras, v. 32, n. 3, p. 986-991, maio/jun., 2008.

CHAVES, A.da C.; SCHUCH, M.W.; ERIG, A.C. Estabelecimento e multiplicação in vitro de *Physalis peruviana* L. **Revista Ciência Agrotécnica**, 2005.

COLOMBO, R.; NÉRI, C. M. Portinnesti del Pero, un modello vincente. La Tecnica / L'Impianto del Frutteto, Imola (BO), pág 72-74. Disponível em: <http://www.ermesagricoltura.it/rivista/2003/settembre/RA030972s.pdf>

COUVILLON, G. A. Propagation and performance of inexpensive peach trees from cuttings for high density peach plantings. **Acta Horticulturae**, v.173, p.271–282, 1985.

DE PAOLI, A. B. G.; Large Scale Micropropagation of Several Peach Rootstocks. **Acta Horticulturae** 592, ISHS 2002.

DIAS, M.M.; NIETSCHKE, S.; PEREIR, M.C.T.; Carvão ativado e estiolamento no estabelecimento *in vitro* de romãzeira. **Tecnologia & Ciência agropecuária**, v.7, n.1, p.1-5, 2013.

DONINI, P.L.; SCHUCH, M.W.; RIBEIRO, M.D.F.; SOUZA, J.A.D.; SOARES, G.C. Avaliação da resposta de três cultivares de oliveira ao cultivo in vitro sob diferentes comprimentos de onda luminosa e efeitos da combinação de Zeatina e ácido giberálico. **Scientia Agraria**, v.9, n.2, p.229, 2008 a.

DUTRA, L. F.; OLIVEIRA, A. F.; FRÁGUAS, C. B.; PASQUAL, M. Comunicação: Multiplicação in vitro de Oliveira (*Olea europaea* L.) Olive (*Olea europaea* L.). **Ciência Agrotecnologia**. vol.28 n.1 Lavras Jan./Feb. 2004.

EMBRAPA- 2003. Sistema de Produção de Pêssego de Mesa na Região da Serra Gaúcha. ISSN 1678-8761 Versão Eletrônica Jan/2003.

EMBRAPA-2005. **Cultivo do Pessegueiro**; Produção e Obtenção de Mudanças; Porta-enxertos para o pessegueiro Embrapa Clima Temperado. Sistemas de Produção, 4ISSN 1806-9207 Versão Eletrônica Nov./2005.

ERIG, A.C.; SCHUCH, M.W. Tipo de explante e controle da contaminação e oxidação no estabelecimento *in vitro* de plantas de macieira (*Malus domestica* BORKH.) cvs. Galaxy, Maxigala e Mastergala. **Revista Brasileira de Agrociência**, v.9, n.3, p.221-227, 2003.

ESCOBAR, M.A. La coltivazione del susino in Extremadura. Disponível: Acesso em: 19 abr. 2011.

FACHINELLO, J.C.; PASA, M.S.; SCHMITZ, J.D.; BETEMPS, B.L. Situação e perspectivas da fruticultura de clima temperado no Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**. Jaboticabal - SP, Volume Especial, E. 109-120, Outubro 2011.

FACHINELLO, J. C.; NACHTIGAL, J. C.; KERSTEN, E. **Fruticultura: Fundamentos e Práticas**. Pelotas: Editora e Gráfica UFPEL, 311p. 2009.

FACHINELLO, J.C.; HOFFMANN, A.; NACHTIGAL, J.C. **Propagação de plantas frutíferas**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 221 p. 2005.

FACHINELLO, J. C; LORETI, F.; Porta-enxertos para frutas de caroço.I-Novas opções com materiais de origem clonal, sementes e híbridos.Comunicação Científica. **Revista Brasileira de Fruticultura** , Jaboticabal - SP, v. 22, n. 3, p.483-486, Dezembro 2000.

FAO. FAOSTAT: Production-crops. 2014. Disponível em: <<http://faostat.fao.org/site/567/Desktop>> Acesso em: 12 jan. 2016.

FERGUSON, J.; CHAPARRO, J.; Rootstocks for Florida Peaches, Nectarines, and Plums , 2007. Horticultural Sciences Department, Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida, Gainesville, FL 32611 HS1110.

FERRIANI, A. P.; BORTOLINI, M. F.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C.; KOEHLER, H. S. Propagação vegetativa de estaquia de azaléia arbórea (*Rhododendron Thomsonii* HOOK. f.). **Revista Semina: Ciências Agrárias**, v. 27, n. 1, p. 35-42, 2006.

FIGUEIRÊDO, G. R. G. de.; VILASBOAS, F. S.; OLIVEIRA, S. J. R. de.; SODRÉ, G. A.; SACRAMENTO, C. K. do. Propagação da gravioleira por miniestaquia. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 35, n. 3, p. 860-865, 2013.

FISCHER, D. L. O.; FACHINELLO, J. C.; ANTUNES, L. E. C.; FISCHER, C.; C.; GIACOBBO, C. L. Rooting of blueberry minicuttings. **Revista de la Facultad de Agronomía**, v. 112, n. 1, p. 1-5, 2013.

FRACARO, A. A.; PEREIRA, F. M. Distribuição do sistema radicular da goiabeira 'Rica' produzida a partir de estaquia herbácea. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 26, n. 1, p. 183-185, abr. 2004.

FRANCO, C. F.; PRADO, R. de M.; BRAGHIROLI, L. F.; ROZANE, D. E. Marcha de absorção dos micronutrientes para mudas de goiabeiras cultivares Paluma e Século XXI. **Bragantia**, Campinas, v.67, n.1, p.83-90, 2008.

GILANI, S. A.; QURESHI, R. A.; KHEN, A. M.; POTTER, D. A molecular phylogeny of selected species of genus *Prunus* L. (Rosaceae) from Pakistan using the internal transcribed spacer (ITS) spacer DNA. *Afr. J. Biotechnol.*, v.9, n.31, p.4867-4872, 2010.

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M.A. Micropropagação. In: TORRES, A.C.; CALDAS, L.S.; BUSO, J.A., (Ed.) **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**, V.1, Brasília: Embrapa - Serviço de Produção de Informação/Embrapa - CNPH, p.183-260, 1998.

HALUPA, V. C. *In vitro* propagation of mature trees of *Sorbus aucuparia* L. and field performance of micropropagated trees. **Journal of Forest Science**, Praga, v. 48, n. 12, p. 529-535, 2002.

HARTMANN, H. T.; KESTER, D. E.; DAVIES JR, F. T.; GENEVE, R. L. Hartmann and Kester's. **Plant propagation: principles and practices**. 8th ed. New Jersey: Prentice Hall, 915p. 2011.

LATTUADA, D. S. **Micropropagação e Miniestaquia de pitangueira (*Eugenia uniflora* L.)**. Porto Alegre, 75f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia), Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2010.

LIMA, R. de L.S.; SIQUEIRA, D.L. de; WEBER. O.B.; CAZETTA, J.O. Comprimento de estacas e parte do ramo na formação de mudas de aceroleira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 28, n. 1, p.83-86, 2006.

LLOYD, G.; McCOWN, B. Commercially feasible micropropagation of mountain laurel (*Kalmia latifolia*) by use of Shoot-tip culture. *Proceeding of International Plant Propagators Society*. v.30, p.421-427, 1980.

LONE, A. B.; UNEMOTO, L. K.; YAMAMOTO, L. Y.; COSTA, L.; SCHNITZER, J.; SATO, A. J.; RICCE, W. S.; ASSIS, A. M.; ROBERTO, S. R. Enraizamento de estacas de azaleia (*Rhododendron simsii* Planch.) no outono em AIB e diferentes substratos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 40, n. 8, p. 1720-1725, 2010.

LORETI, F.; MORINI, S. ; Propagation Techniques. In: \_\_\_\_ **The peach**: . p. 221- 240. 2008.

LORETI, F. Porta-enxertos para a cultura do pêssegueiro do terceiro milênio. **Revista brasileira de fruticultura**. Jaboticabal - sp, v. 30, n. 1, p. 274-284, março 2008.

MARINHO, C. S.; MILHEM, L. M. A.; ALTOÉ, J. A.; BARROSO, D. G.; POMMER, C. V. Propagação da goiabeira por miniestaqueia. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 31, n. 2, p. 607-611, 2009.

MAYER, N. A.; ANTUNES, L. E. C. Diagnóstico do sistema de produção de mudas de Prunóideas no Sul e Sudeste do Brasil. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 52p. (Documentos, 293) 2010.

MAYER, N.A.; PEREIRA, F.M.; BARBOSA, J.C.; KOBAYASHI, V.Y. Distribuição do sistema radicular do pessegueiro 'Okinawa' propagado por sementes e por estacas herbáceas. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.29, n.3, 2007.

MAYER, N.A.; PEREIRA, F.M., Effect of wounds applied to the bases of herbaceous cuttings on the rooting of four japanese apricot clones (*Prunus mume* sieb. et zucc.) in an intermittent mist system. **Acta Horticulturae** 658, ISHS 2004.

MAYER, N. A.; PEREIRA, F. M.; NACHTIGAL, J. C. Propagação do umezeiro (*Prunus mume* Sieb & Zucc.) por estaqueia herbácea. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 23, n. 3, p. 673-676, 2001.

MELO, L. A. de; XAVIER, A.; PAIVA, H. N de; BORGES, S. R.; Otimização do tempo necessário para o enraizamento de miniestacas de clones híbridos de *Eucalyptus grandis*. **Revista Arvore** vol.35 no.4 Viçosa July/Aug. 2011.

MINDÉLLO NETO, U. R.; BALBINOT JÚNIOR, A. A.; HIRANO, E., Efeito do ácido indolbutírico no enraizamento de estacas herbáceas de dois porta-enxertos de

pessegueiro. **Revista brasileira de Agrociência**, v.10, n. 4, p. 433-437, out-dez, 2004.

MIRANDA, C.S., CHALFUN, N.N.J., HOFFMANN, A., et al. Enxertia recíproca e AIB como fatores indutores do enraizamento de estaca lenhosas dos portaenxertos de pessegueiro “Okinawa” e “Umezeiro”. **Ciência Agrotecnologia**, Lavras. v.28, n.4, p. 778-784, 2004.

MOREIRA, R. M. **Estabelecimento *in vitro* de cultivares de oliveira**. 2014. 83f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Agronomia. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas,RS.

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

NAKAMURA, C.H.; SCARPARE FILHO, J.A.; KLUGE, R.A. Avaliação preliminar do umezeiro como porta-enxerto para pessegueiro e nectarineira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.21, n.2, p.116-118, 1999.

OLIVEIRA, A. P. de; NIENOW, A. A.; CALVETE, E. de O. Capacidade de enraizamento de estacas semilenhosas e lenhosas de cultivares de pessegueiro tratadas com AIB. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 25, n. 2, p. 282- 285, 2003.

OLIVEIRA, L.M. de; PAIVA, R.; SANTANA, J.R.F. de; NOGUEIRA, R.C.; SOARES, F.P.; SILVA, L.C. Efeito de citocininas na senescência e abscisão foliar durante o cultivo *in vitro* de *Annona glabra* L. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v.29, n.1, p.25-30, 2007.

PEREIRA, F. M.; MAYER, N. A. Formação de mudas de pessegueiro cv. Aurora-1 enxertadas em dois clones de umezeiro (*Prunus mume* Sieb. et Zucc.) propagados por estacas herbáceas. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 27, n. 2, p. 341-343, 2005.

PEREIRA, F.M.; MAYER, N.A.; CAMPO DALL’ORTO, F.A. 'Rigitano': nova cultivar de umezeiro para porta-enxerto de pessegueiro. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.29, p.172-175, 2007.

RASEIRA, M. do C. B.; NAKASU, B. H.; BARBOSA, W.;. In: RASEIRA, M. do C. B.; PEREIRA, J. F. M.; CARVALHO, F. L. C. editores técnicos. **Pessegueiro**. Brasília, DF: Embrapa, 2014, 127p. ISBN 978-85- 7035-371-9.

RAASCH, C. G.; SCHEUNEMANN, L. C.; CARVALHO, G. L.; CAPPELLARO, T. H.; AFFONSO, L. B.; SCHUCH, M. W. Dinâmica de enraizamento de miniestacas de maracujazeiro 'BRS Sol do Cerrado'. In: XXII Congresso de Iniciação Científica da Universidade Federal de Pelotas. **Resumos**, 2013.

REIGHARD, G. L.; LORETI, F.; Rootstock Development . In: **The peach** : botany, production and uses/edited by Desmond R. Layne and Daniele Bassi. p.193-220. 2008.

REIS, J R.; CHALFUN, N. N. J.; Reis, M. de A.; Métodos de enxertia e ambientes na produção de mudas de pessegueiro cv. Diamante. **Pesquisa Agropecuaria Tropical**. Goiânia, v. 40, n. 2, p. 200-205, abr./jun. 2010.

RITZINGER, P.; GRAZZIOTTI, P. H. Produção de mudas de acerola por miniestaquia . Cruz das Almas, BA: Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, 2p. 2005.

ROCHA, M.da S.; **Comportamento fenológico e produtivo das cultivares de pessegueiro chimarrita e granada em diferentes portaenxertos, nos três primeiros anos de implantação**. 115 p. Tese (Fruticultura de Clima Temperado) – Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2006.

ROCHA, P. S. G. da.; **Propagação *in vitro* de porta-enxertos do gênero *Prunus* spp.** / 2006. –101 f. Tese (Doutorado em Fruticultura de clima Temperado) – Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2006.

ROCHA, P. S. G. da.; SCHUCH, M. W.; BIANCHI, V. J.; FACHINELLO, J. C.; MISTURA, C. C.; Estabelecimento *in vitro* de porta-enxerto de pessegueiro em diluições do meio MS acrescido de concentrações de BAP. **Bioscience Journal**., Uberlândia, v. 23, n. 4, p. 83-87, Oct./Dec. 2007.

RODRIGUES, A.C.; SILVEIRA, C.A.P.; FORTES, G.R. de L.; FACHINELLO, J.C.; SILVA, J.B. Estabelecimento e multiplicação *in vitro* de *Prunus* sp. em diferentes meios de cultura. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.25, n.1, p.131-133, 2003.

RUGINI, E. In vitro propagation of some olive (*Olea europaea sativa* L.) cultivars with different root-ability, and medium development using analytical data from developing shoots and embryos. **Scientia Horticulturae**, v.24, n.2, p.123-134,1984.

SANTOS, B.R.; PAIVA, R.; NOGUEIRA, R.C.; OLIVEIRA, L.M. de; SILVA, D.P.C. da; MARTINOTTO, C.; SOARES, F.P.; PAIVA, P.D. de O. Micropropagation of "pequizeiro" (*Caryocar brasiliense* Camb.). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v.28, n.2, p.293-296, 2006.

SANTOS, A.S. de A.; MACHADO, I.S.; LEÃO, A.L.; RAMOS, A. de. A. Concentrações de BAP e TDZ na propagação in vitro de Carauá (*Ananas erectifolius* L. B. Smith). **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, Brasília, ano 8, n.35, p.62-65, 2005.

SCHUCH, M.W.; ERIG, A.C. Micropropagação de plantas frutíferas. In. FACHINELO, J.C. et al. **Propagação de plantas frutíferas**. Brasília: Embrapa Informações Tecnológicas, p.155-173, 2005.

SILVA, A. L.; RAGALSK, M.; MORAES, L. K. A.; FESBILINO, C; CRESTANI, L.; GUERRA, M. P. Estabelecimento e multiplicação in vitro de porta-enxertos de *Prunus* spp. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 25, n. 2, p. 297-300, ago., 2003.

SILVA, E.S.B. **Propagação in vitro de *Prunus* spp.** 2004, 115 p. Tese (Doutorado em Fruticultura de Clima Temperado) – Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2004.

SILVA, M.P.S. da; BARROSO, D.G.; SOUZA, J.S. de; FERREIRA, D. de A.; CARNEIRO, J.G. de A. Enraizamento de miniestacas e produtividade de minicepas de cedro-australiano manejadas em canaletões e tubetes. **Ciência Florestal**, v.22, p.703-713, 2012. DOI: 10.5902/198050987552

SILVEIRA, C. A. P., FACHINELLO, J. C., FORTES, G. R. DE L., CITADIN, I., RODRIGUES, A. C., QUEZADA, CENTELLAS, A., SILVA, J. B. DA., Multiplicação *in vitro* de porta-enxertos do gênero *prunus*. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal - SP, v. 23, n. 3, p. 488-492, dezembro 2001.

SOTOMAYOR, C.; CASTRO, J. Rootstocks used for fruit crop in Chile. In: **Acta Horticulturae**, Leuven, v. 658, p. 287-29, 2004.

SRINIVASAN, C.; PADILLA, I. M. G.; SCORZA, R. Prunus spp. Almond, Apricot, Cherry, Nectarine, Peach and Plum. En: Litz R.E. (Eds.) **Biotechnology of Fruit and Nut Crops**. CABI. Publishing, . p.512-542. 2005.

STEFANCIC, M.; STAMPAR, F.; OSTERC, G.; Influence of IAA and AIB on root development and quality of Prunus 'Gisela 5' leafy cuttings. University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Agronomy Department, Jamnikarjeva 101,1000 Ljubljana,Slovenia. **HortScience**- vol. 40(7): 2052-2055. 2005.

STOYNOVA, B.E. et al. Cell division and cell expansion in cotyledons of arabidopsis seedlings. **New Physiologist**, v.162, p.471, 2004.

TEIXEIRA, J.B.; CRUZ, A.R.R.; FERREIRA, F.R.; CABRAL, J.R.S. Biotecnologia aplicada à produção de mudas. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, n.19, p.42-47, 2001.

TEIXEIRA, P.T.; SILVA, A.L.; DUCROQUET, J.P.H.J.; GUERRA, M.P. Multiplicação *in vitro* de porta-enxertos de *Prunus* spp. 'Carelli'. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.26, n.2, p.377-379, 2004.

TELLES, C. A. **Compatibilidade e crescimento de mudas de pessegueiro interenxertadas com ameixeiras, damasqueiro e cerejeira**, 67 f. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Área de Concentração em Produção Vegetal, Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo, Setor de Ciências Agrárias) Universidade Federal do Paraná, 2005.

TIMM, C. R. F.; SCHUCH, M. W.; Tomaz, Z. F. P.; Mayer, N. A; Enraizamento de miniestacas herbáceas de porta-enxertos de pessegueiro sob efeito de ácido indolbutírico. **Revista Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 36, n. 1, p. 135-140, jan./fev. 2015.

TIMM, C. R. F.; SCHUCH, M. W.; TOMAZ, Z. F. P.; RAASCH, C. G.; SCHEUMANN, L, C. Efeito do AIB e do substrato no enraizamento de miniestacas de uvaieira (*Eugenia pyriformis* Cambess.). In: VI Encontro sobre pequenas frutas e frutas nativas do Mercosul, Pelotas. **Resumos...** 2014.

TITON, M; XAVIER, A; REIS, G.G dos; OTONI, W.C. Eficiência das minicepas e microcepas na produção de propágulos de clones de *Eucalyptus grandis*. **Revista Árvore**, Viçosa, v.27, n.5, p.619-625, 2003.

TOFANELLI, M.B.D.; RODRIGUES, J.D.; ONO, E.O.; Enraizamento de estacas lenhosas de pessegueiro cv. Okinawa em diferentes diâmetros de ramos, substratos e recipientes. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.33, n.3, p.437-442, mai-jun, 2003 - ISSN 0103-8478.

TOMAZ, Z. F. P. **Clonagem de porta-enxertos e produção de mudas de pessegueiro em sistemas de cultivo sem solo**. 159f. Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Agronomia. Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2013.

TOMAZ, Z. F. P.; SCHUCH, M. W.; PEIL, R. M. N.; TIMM, C. R. F.; Desenvolvimento de porta enxertos de pessegueiros obtidos de miniestacas, em duas épocas, em sistema de cultivo sem solo. **Revista Brasileira Fruticultura**, Jaboticabal - SP, v. 36, n. 4, p. 988-995, Dezembro 2014.

TONIETTO, A.; FORTES, G. R. L. de.; SILVA, J. B. da. Enraizamento de miniestacas de ameixeira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 23, n. 3, p. 643-646, 2001.

VERDIAL, M. F.; LIMA, M. S. de.; TESSARIOLI NETO, J.; DIAS, C. T. dos. S.; BARBANO, M. T. Métodos de formação de mudas de maracujazeiro amarelo. **Scientia Agricola**, v. 57, n. 4, p. 795-798, 2000.

VILLA, F.; PASQUAL, M.; PIO, L. A. S.; ASSIS, F. A.; TEODORO, G.S. Influência do carvão ativado e bap na multiplicação *in vitro* de duas frutíferas de clima temperado. **Revista Ceres**, 54(312): p.118-124, 2007.

XAVIER, A.; WENDLING, I.; SILVA, L. da; Propagação Clonal pela Estaquia-4 **Silvicultura clonal: Princípios e Técnicas**. Viçosa: UFV, 272 p. 2009.

ZIETEMANN, C.; ROBERTO, S. R. Efeito de diferentes substratos e épocas de coleta no enraizamento de estacas herbáceas de goiabeira, cvs. paluma e século XXI. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 29, n. 1, p. 31-36, abr. 2007.

ZOINA, A., RAIÓ, A. Susceptibility of some peach roostocks to crown gall. **Journal of Plant Pathology**, Siena, v.3, p.181-187, 1999.