

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel
Programa de Pós-Graduação em Agronomia
Área de Concentração em Fruticultura de Clima Temperado



Tese

Formação de micro e minijardim clonal de videira

Daniele Camargo Nascimento

Pelotas, 2018

DANIELE CAMARGO NASCIMENTO

Formação de micro e minijardim clonal de videira

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

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Márcia Wulff Schuch
Co-orientador: Prof^o. Dr. Norton Victor Sampaio

Pelotas, 2018

Daniele Camargo Nascimento

Formação de micro e minijardim clonal de videira

Tese aprovada, como requisito parcial, para obtenção do grau de Doutora em Ciências, Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas.

Data da Defesa: 22/10/2018

Banca Examinadora:

Dra. Márcia Wulff Schuch
Universidade Federal de Pelotas (FAEM/ UFPel)

Dra. Cari Rejane Fiss Timm
Universidade Federal de Pelotas (FAEM/ UFPel)

Dra. Elizete Beatriz Radmann
Universidade Federal do Pampa (UNIPAMPA – Campus Dom Pedrito)

Dr. Jair Costa Nachtigal
Embrapa Clima Temperado (Pelotas, RS)

Agradecimentos

À Universidade Federal de Pelotas pela oportunidade de realizar o curso de Pós-Graduação em Agronomia.

À Universidade Federal do Pampa – Campus Dom Pedrito por possibilitar a realização deste trabalho, tanto pela utilização da infraestrutura, quanto pela compressão e apoio dos colegas. O reconhecimento da importância da qualificação dos servidores é fundamental para a valorização de nossos trabalhos.

À professora Márcia Wulff Schuch por aceitar-me como sua orientada, pela possibilidade de realizarmos estes trabalhos juntas. Sou muito grata e me sinto realizada em relação ao sucesso desta parceria que iniciamos durante meu mestrado e que abriu possibilidades para a realização de bons trabalhos. Além disso, o carinho e respeito de uma relação harmoniosa entre orientadora e orientada, que considero muito importante.

Ao co-orientador deste trabalho, Norton Victor Sampaio, o qual considero um amigo que acompanha minha trajetória acadêmica desde a graduação. Percebo que aquele incentivo recebido há aproximadamente 10 anos atrás, teve muito valor, hoje colho os frutos!

Ao viticultor Adair Camponogara, pela atenção e disponibilidade, além do fornecimento de materiais para os experimentos.

Agradeço às colegas, ex-colegas e amigas Roseane Moreira, Jaqueline Barcelos, Cari Tim e Zeni Tomaz que contribuíram de alguma maneira com este trabalho, desde algumas dicas nas ideias iniciais dos experimentos ou em alguns dias intermináveis de avaliações.

Aos meus pais, por estarem presentes em minha vida, sempre acompanhando e incentivando minhas escolhas.

Agradeço ao Maxi, este ser que surgiu em minha vida, com todo amor, força, coragem, incentivo, valorização, respeito e mais uma infinidade de sentimentos... Gracias, mi ángel!

Ao tempo, destino ou acaso... que proporcionaram mudanças na minha vida durante este período. Além do crescimento profissional, o doutorado me trouxe amadurecimento pessoal.

Resumo

NASCIMENTO, Daniele Camargo. **Formação de micro e minijardim clonal de videira**. 2018. 126f. Tese (Doutorado em Ciências) – Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS.

A obtenção de mudas de qualidade é o primeiro passo para a garantia de um vinhedo duradouro e com bom potencial de produção. Para isso, é necessário a aplicação de técnicas e o desenvolvimento de sistemas que otimizem o processo de produção de mudas. Neste sentido, os objetivos deste estudo foram: desenvolver um protocolo de micropropagação de videira (incluindo as etapas de multiplicação, enraizamento e aclimatização), a formação de um micro e um minijardim clonal e a avaliação destes em sistema de cultivo convencional e cultivo sem solo. O estudo foi desenvolvido por meio de cinco experimentos conduzidos no Laboratório de Botânica e no viveiro de mudas pertencentes à Universidade Federal do Pampa, Campus Dom Pedrito, RS. Primeiramente, foram realizados experimentos de multiplicação e enraizamento *in vitro*, em laboratório. Nestes experimentos foram testados o meio de cultura MS (Murashige & Skoog) com a concentração completa de sais (MS) e com a metade da concentração de sais (MS/2), concentrações de BAP (0, 5 e 10 μ M) para a multiplicação e concentrações de AIB (0; 0,1; 0,2; 0,3mg L⁻¹) para o enraizamento *in vitro* de explantes de videira Chardonnay. Logo, estas plântulas produzidas por micropropagação foram aclimatizadas no viveiro de mudas, testando-se as seguintes composições de substratos: HDecker[®]; HDecker[®] + vermiculita; HDecker[®] + fibra de coco; HDecker[®] + Humosolo ES[®]; vermiculita + Humosolo ES[®]; vermiculita + fibra de coco; Humosolo ES[®] + fibra de coco. Todas as combinações de substratos foram formuladas na proporção 1:1. Paralelamente, foram produzidas mudas por meio da técnica de miniestaquia, sendo avaliado o enraizamento de miniestacas herbáceas de videira Chardonnay e SO4 sem o uso de AIB e com as concentrações de 500, 1000 e 1500mg L⁻¹. Após a obtenção de mudas produzidas por micropropagação e por miniestaquia, as mudas de Chardonnay foram utilizadas para a formação dos jardins clonais, sendo avaliado o crescimento dessas mudas nos sistemas de cultivo convencional e cultivo sem solo. Nas etapas de multiplicação e enraizamento *in vitro*, as concentrações do meio de MS não tiveram efeito significativo para a maioria das variáveis, podendo ser utilizado completo ou com a metade da concentração dos sais. Para multiplicação, recomenda-se o uso 10 μ M de BAP e, para o enraizamento, é indicado o uso de 0,1 mg L⁻¹ de AIB. Já na etapa de aclimatização, os substratos que continham vermiculita na composição, apresentaram melhores resultados. Na miniestaquia, as miniestacas herbáceas de Chardonnay e SO4 enraizaram mesmo sem o uso de regulador de crescimento. Para a formação de jardins clonais, tanto as mudas micropropagadas, quanto as obtidas por miniestaquia podem ser utilizadas. O sistema de cultivo sem solo mostrou-se eficiente para o crescimento de mudas de Chardonnay, sendo superior ao sistema convencional de cultivo.

Palavras-chave: *Vitis vinifera*; propagação vegetativa; micropropagação; miniestaquia; cultivo sem solo.

Abstract

NASCIMENTO, Daniele Camargo. **Formation of micro and miniclonal grapevine garden.** 2018. 126f. Thesis (Doctor of Science) - Graduate Program in Agronomy, Faculty of Agronomy Eliseu Maciel, Federal University of Pelotas, Pelotas, RS.

Obtaining quality plantlets is the first step in ensure a lasting vineyard with good production potential. For this, it is necessary the application of techniques and the development of systems that optimize the process of plant production. In this sense, the objectives of this study were: to develop a micropropagation protocol for grapevine (including multiplication, rooting and acclimatization stages), the formation of a micro and minigarden clonal, and the evaluation of these in a conventional system of cultivation and cultivation soilless. The study was developed through five experiments conducted in the Botany Laboratory and in the nursery belonging to the Federal University of Pampa, Campus Dom Pedrito, RS. First, *in vitro* multiplication and rooting experiments were carried out in the laboratory. In these experiments we tested the MS culture media (Murashige & Skoog) with the full concentration of salts (MS), and with half the concentration of salts (MS/2), BAP concentrations (0, 5 and 10 μ M) to the multiplication and concentrations of IBA (0; 0.1; 0.2; 0.3mg L⁻¹) for the *in vitro* rooting of Chardonnay grapevine explants. After, these plantlets produced by micropropagation were acclimatized in the nursery, testing the following compositions of substrates: HDecker[®]; HDecker[®] + vermiculite; HDecker[®] + coconut fiber; HDecker[®] + Humosol ES[®]; vermiculite + Humosol ES[®]; vermiculite + coconut fiber; Humosolo ES[®] + coconut fiber. All combinations of substrates were formulated in a 1:1 ratio. In parallel, plantlets were produced by minicutting technique, being evaluated the rooting of herbaceous minicuttings of Chardonnay and SO4 grapevine without the use of IBA and with concentrations of 500, 1000 and 1500mg L⁻¹. After obtaining plantlets produced by micropropagation and minicutting, the Chardonnay plantlets were used for the formation of clonal gardens, where the growth of these plantlets was evaluated in the systems of conventional cultivation and soilless cultivation. In the *in vitro* multiplication and rooting stages, the concentrations of the MS culture media did not have a significant effect for most of the variables, being able to be used in whole or with half the concentration of salts. For multiplication, it is recommended to use 10 μ M of BAP and, for rooting, is indicated the use of 0.1 mg L⁻¹ of IBA. Already in the acclimatization stage, the substrates that contained vermiculite in the composition, presented better results. In minicutting, the herbaceous minicuttings of Chardonnay and SO4 rooted even without the use of growth regulator. For the formation of clonal gardens, both micropropagated plantlets and minicuttet plantlets can be used. The soilless cultivation system was efficient for the growth of Chardonnay plantlets, being superior to the conventional cultivation system.

Key-words: *Vitis vinifera*; vegetative propagation; micropropagation; minicutting; soilless cultivaton.

Lista de Figuras

Artigo 2. ENRAIZAMENTO *IN VITRO* DE VIDEIRA CHARDONNAY: MEIO DE CULTURA E CONCENTRAÇÕES DE AIB

Figura 1. Porcentagens de enraizamento (**A**) e de calo (**B**) de explantes de videira Chardonnay, na etapa de enraizamento *in vitro*..... 68

Figura 2. Número de raízes (**A**) e comprimento médio de raízes (CMR) (**B**) de explantes de videira Chardonnay, sob concentrações de AIB, na etapa de enraizamento *in vitro*..... 68

Artigo 4. MINIESTAQUIA DE VIDEIRA CHARDONNAY E SO4

Figura 1. Porcentagens de sobrevivência, de enraizamento e de formação de calo de miniestacas do porta-enxerto de videira SO4, sob tratamentos de AIB..... 99

Artigo 5. MICRO E MINIJARDIM CLONAL DE VIDEIRA EM SISTEMA DE CULTIVO CONVENCIONAL E CULTIVO SEM SOLO

Figura 1. **A e D:** Altura da parte aérea (APA), **B e E:** número de brotações (NB), **C e F:** comprimento médio de brotações (CMB) de plantas de videira Chardonnay produzidas por micropropagação (Micro) e miniestaquia (Mini) em sistema de cultivo convencional (CC) e cultivo sem solo (CSS)..... 119

Lista de Tabelas

Artigo 1. MULTIPLICAÇÃO *IN VITRO* DE VIDEIRA CHARDONNAY: MEIO DE CULTURA E CONCENTRAÇÕES DE BAP

Tabela 1.	Número de gemas (NG), número de folhas (NF), número de brotações (NB) e comprimento médio de brotações (CMB) de explantes de videira Chardonnay submetidos a concentrações do meio de cultura MS e de BAP na multiplicação <i>in vitro</i>	53
------------------	--	----

Artigo 3. SUBSTRATOS NA ACLIMATIZAÇÃO DE MUDAS MICROPROPAGADAS DE VIDEIRA CHARDONNAY

Tabela 1.	Características físico-químicas dos substratos utilizados para a aclimatização de plântulas de videira Chardonnay.....	83
------------------	--	----

Tabela 2.	Porcentagem de sobrevivência (S), altura da parte aérea (APA), número de folhas (NF), número de raízes (NR), comprimento médio de raízes (CMR) e presença de raízes secundárias (RSec) de plântulas de videira Chardonnay em diferentes substratos durante para a aclimatização.....	83
------------------	--	----

Artigo 4. MINIESTAQUIA DE VIDEIRA CHARDONNAY E SO4

Tabela 1.	Número de raízes (NR), comprimento das três maiores raízes (C3MR), número de brotações (NB), comprimento médio de brotações (CMB) e número de folhas (NF) de miniestacas de videira Chardonnay e SO4 sob diferentes concentrações de AIB para o enraizamento.....	98
------------------	---	----

Artigo 5. MICRO E MINIJARDIM CLONAL DE VIDEIRA EM SISTEMA DE CULTIVO CONVENCIONAL E CULTIVO SEM SOLO

Tabela 1.	Índices de clorofila A, clorofila B e clorofila total de plantas de videira Chardonnay produzidas por micropropagação e miniestaquia aos 120 dias de cultivo em sistema de cultivo convencional (CC) e cultivo sem solo (CSS).....	120
Tabela 2.	Análise nutricional de folhas de videira Chardonnay produzidas por micropropagação e miniestaquia aos 150 dias de cultivo em sistema de cultivo convencional (CC) e cultivo sem solo (CSS).....	120
Tabela 3.	Rendimento em micro/miniestacas (RM), diâmetro do colo (DC), incremento do diâmetro do colo (IDC), massa de matéria fresca da parte aérea (MF PA), massa de matéria seca da parte aérea (MS PA), massa de matéria fresca radicular (MF R) e massa de matéria seca radicular (MS R) de plantas de videira Chardonnay produzidas por micropropagação e miniestaquia aos 150 dias de cultivo em sistema de cultivo convencional (CC) e cultivo sem solo (CSS).....	121

Sumário

1 Introdução.....	12
2 Projeto de Pesquisa	15
2.1 Título	16
2.2 Introdução e justificativas	16
2.3 Hipótese	23
2.4 Objetivos	23
2.4.1 Objetivo Geral	23
2.4.2 Objetivos Específicos.....	23
2.5 Material e métodos.....	24
2.5.1 Local dos experimentos	24
2.5.2 Sistemas de cultivo empregados: cultivo convencional e sem solo	24
2.5.3 Descrição dos experimentos	24
2.5.3.1 Estabelecimento e multiplicação in vitro de videira	25
2.5.3.2 Enraizamento in vitro de explantes de videira.....	26
2.5.3.3 Aclimatização de explantes de videira micropropagados.....	27
2.5.3.4 Cultivo de microjardim clonal de videira em sistema convencional e sem solo.....	27
2.5.3.5 Cultivo de minijardim clonal de videira em sistema convencional e sem solo	28
2.6 Recursos necessários	30
2.7 Cronograma de execução	32
2.8 Referências	33
3 Relatório do trabalho de campo.....	37
4 Artigos desenvolvidos	41

4.1 Artigo 1. Multiplicação <i>in vitro</i> de videira Chardonnay: meio de cultura e concentrações de BAP	42
MULTIPLICAÇÃO <i>IN VITRO</i> DE VIDEIRA CHARDONNAY: MEIO DE CULTURA E CONCENTRAÇÕES DE BAP	43
RESUMO.....	43
INTRODUÇÃO	44
MATERIAL E MÉTODOS.....	46
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	47
CONCLUSÃO.....	49
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	50
4.2 Artigo 2. Enraizamento <i>in vitro</i> de videira Chardonnay: meio de cultura e concentrações de AIB.....	54
ENRAIZAMENTO <i>IN VITRO</i> DE VIDEIRA CHARDONNAY: MEIO DE CULTURA E CONCENTRAÇÕES DE AIB	55
RESUMO.....	55
INTRODUÇÃO	56
MATERIAL E MÉTODOS.....	58
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	59
CONCLUSÃO.....	63
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	63
4.3 Artigo 3. Substratos para aclimatização de plântulas micropropagadas de videira Chardonnay	69
SUBSTRATOS NA ACLIMATIZAÇÃO DE PLÂNTULAS MICROPROPAGADAS DE VIDEIRA CHARDONNAY.....	70
RESUMO.....	70
INTRODUÇÃO	71
MATERIAL E MÉTODOS.....	73
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	75

CONCLUSÃO.....	78
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	79
4.4 Artigo 4. Miniestaquia de videira Chardonnay e SO4.....	84
MINIESTAQUIA DE VIDEIRA CHARDONNAY E SO4	85
RESUMO.....	85
INTRODUÇÃO	86
MATERIAL E MÉTODOS	89
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	90
CONCLUSÃO.....	93
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	93
4.5 Artigo 5. Micro e minijardim clonal de videira em sistema de cultivo convencional e cultivo sem solo	100
MICRO E MINIJARDIM CLONAL DE VIDEIRA EM SISTEMA DE CULTIVO CONVENCIONAL E CULTIVO SEM SOLO	101
RESUMO.....	101
INTRODUÇÃO	102
MATERIAL E MÉTODOS	105
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	108
CONCLUSÃO.....	115
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	115
5 Conclusões	122
Apêndices	123

1 Introdução

A vitivinicultura é uma atividade que possui grande importância econômica, social e cultural para diversas regiões do mundo. Além de gerar renda, também está aliada a outras riquezas, como a cultura, história e a diversidade dos ecossistemas que a compõe, tornando a produção de vinhos algo particular na atividade agroindustrial desenvolvida pelo homem (TONIETTO, 2001; MELLO, 2009).

No Brasil, a videira vem sendo produzida a mais de um século e se consolidou como uma importante atividade socioeconômica, iniciando pelos estados do Rio Grande do Sul, Santa Catarina, São Paulo e Minas Gerais. Posteriormente, houve a expansão do cultivo em regiões de clima tropical e semitropical, especialmente, no Submédio do Vale do Rio São Francisco. Nas últimas décadas, o cultivo das variedades europeias tem se expandido para diversas localidades, inclusive para regiões do País sem nenhuma tradição em viticultura, como a Região da Campanha, em comparação com a Serra Gaúcha, por exemplo, que é uma região conhecida pela tradição em vitivinicultura (KUHN et al., 2007; NETO; BEZZI, 2009).

Diversos fatores podem influenciar no desenvolvimento de uma vitivinicultura rentável, entre eles, a obtenção de mudas de boa qualidade para a implantação do vinhedo. A utilização de mudas certificadas, com garantia de qualidade genética e sanitária é um fator imprescindível para o desenvolvimento de vinhedos uniformes, saudáveis e produtivos (LEÃO, 2003; KUHN et al., 2007).

A propagação da videira, há mais de um século, vem sendo realizada prevalentemente, utilizando-se a estaquia para obtenção do porta-enxerto, com posterior enxertia da cultivar-copa para a obtenção da muda pronta. Este método é usado tanto para variedades de mesa quanto para variedades viníferas (NACHTIGAL, 2003; FRONZA; HAMANN, 2015). No entanto, técnicas de propagação vegetativa, como a microestaquia e miniestaquia, vêm sendo aplicadas com sucesso para outras espécies, e poucos são os avanços no que se refere à propagação da videira.

A busca por inovações e técnicas que otimizem o processo de produção de mudas justificam o estudo e o emprego de novas tecnologias no sistema produtivo (REZENDE; PEREIRA, 2001). Além de que, a redução no tempo de formação das

mudas e da renovação do vinhedo, aliado à qualidade dos produtos obtidos, desperta o interesse dos produtores (ROBERTO et al., 2006).

A micropropagação é uma ferramenta importante na propagação da videira, pois proporciona a obtenção de material vegetativo sadio e com características agrônômicas desejadas, possibilitando a melhoria da qualidade na implantação dos vinhedos, já que um dos maiores problemas do setor vitícola é a falta de mudas com garantia de qualidade fitossanitária, ofertadas aos produtores (DZAZIO et al., 2002; BIASI, 2003; RIBEIRO, 2006; RIBEIRO et al., 2010; RIBEIRO, 2012).

Para realizar a micropropagação é necessário dominar todas as etapas do processo, que vai desde o estabelecimento da cultura *in vitro*, a multiplicação, o enraizamento, até a aclimatização das mudas (FACHINELLO et al., 2005; BASTOS et al., 2007). Cada etapa deve ser estudada individualmente e uma depende da outra para se obter sucesso em todo o processo.

A partir de plantas micropropagadas há a possibilidade da formação de um jardim clonal, que constitui em um matrizeiro destinado ao fornecimento de material propagativo para a formação de novas mudas. A partir destas matrizes, podem ser retirados explantes para o cultivo *in vitro*, ramos para propagação mediante técnicas convencionais de propagação vegetativa, como estaquia e enxertia (CARVALHO; SILVA, 2012), ou ainda para técnicas alternativas com maior aproveitamento do material, como a microestaquia.

Outra técnica que pode ser utilizada para a formação dos jardins clonais é a miniestaquia, que difere da microestaquia, principalmente, devido à origem do material propagativo. Na microestaquia o material propagativo advém da micropropagação e, na miniestaquia, o material é obtido a partir de brotações de plantas propagadas por estaquia ou pela própria miniestaquia.

A vantagem de se utilizar a micropropagação como ponto de partida, é maior garantia de qualidade sanitária das mudas formadas, no entanto, esta é uma técnica que necessita de uma maior infraestrutura e pessoal capacitado para realização do trabalho. A miniestaquia é uma técnica de menor custo, que também possibilita uma produção em grande escala, com uniformidade e qualidade das mudas, porém, em relação à sanidade das mudas, não tem a mesma garantia que a micropropagação.

O desenvolvimento dessas técnicas promoveu uma evolução nos sistemas de produção de mudas, onde os jardins clonais que antes eram mantidos apenas a

campo, passaram a ser mantidos em ambiente protegido, com melhor controle de pragas e possibilidade do uso do cultivo sem solo. Com a utilização dos sistemas de cultivo sem solo, há maior eficiência na utilização da água e fertilizantes, diminuição de problemas relativos à sazonalidade, possibilitando aumentos significativos de produção de material propagativo (SILVA, 2001; TITON, 2003; AFFONSO, 2015).

O uso de sistemas de cultivo sem solo, combinado com propagação vegetativa, tem sido estudado em espécies frutíferas com grande potencial para obter maior quantidade de material propagativo, sem perder na qualidade das mudas obtidas (SCHUCH; PEIL, 2012; TOMAZ, 2013).

A eficiência de cada uma destas técnicas de propagação vegetativa, aliada às vantagens do cultivo sem solo para a formação de jardins clonais, pode trazer grandes avanços na produção de mudas de videira, melhorando a qualidade das mesmas e, possivelmente, reduzindo os custos de produção.

Diante do exposto, este trabalho teve como objetivos: desenvolver um protocolo de micropropagação de videira (incluindo as etapas de multiplicação, enraizamento e aclimatização), a formação de um micro e um minijardim clonal e a avaliação destes em sistema de cultivo convencional e cultivo sem solo.

2 Projeto de Pesquisa

Produção de mudas de videira para formação de micro e minijardim clonal

2 Projeto de Pesquisa

2.1 Título

Produção de mudas de videira para formação de micro e minijardim clonal

2.2 Introdução e justificativas

2.2.1 Botânica, Origem e Histórico

A videira, pertencente ao gênero *Vitis*, da família *Vitaceae*, possui inúmeras espécies. Destacam-se *Vitis labrusca*, *V. aestivalis*, *V. riparia*, *V. rupestris*, *V. berlandieri*, *V. cordifoliae*, *V. cinerea*, de origem americana, conhecidas como produtoras de uvas rústicas e *V. vinifera*, de origem europeia, conhecida como produtora de uvas finas (SOUSA, 1996; ALVARENGA et al., 1998; GIOVANNINI, 2008).

É uma planta lenhosa, trepadeira, que se fixa em suportes naturais ou artificiais, por meio de estrutura especializada chamada gavinha (HIDALGO, 1993). Possui sistema radicular ramificado, flor completa e hermafrodita, frutos tipo baga e frutificação nos ramos do ano nascidos em ramos do ano anterior. A idade média das videiras varia de 30 a 40 anos (MASHIMA, 2000).

A partir de evidências fósseis, determinou-se que o provável centro de origem da videira é a atual Groenlândia, onde teria surgido há milhões de anos atrás. Posteriormente, durante o período glacial, dispersou-se em centros de refúgio, adaptando-se a diferentes ambientes, resultando em uma diversidade de espécies (SOUSA, 1996; ALVARENGA et al., 1998).

A introdução da videira no Brasil foi realizada por Martin Afonso de Souza, em 1532, na Capitania de São Vicente, hoje Estado de São Paulo. A partir deste ponto e por meio de introduções posteriores, a viticultura expandiu-se para outras regiões do País, com variedades de *Vitis vinifera* procedentes de Portugal e da Espanha (PROTAS et al., 2003).

Atualmente, vem sendo cultivada em diversas regiões do Brasil, adaptando-se aos mais diversos climas. De acordo com Protas et al. (2003), em função da diversidade ambiental, existem pólos com viticultura característica de regiões

temperadas, com um período de repouso hibernar definido, pólos em áreas subtropicais e pólos de viticultura tropical.

No Rio Grande do Sul, a videira foi introduzida em 1626 pelos padres jesuítas. Posteriormente, variedades viníferas foram trazidas por imigrantes alemães. No entanto, a vitivinicultura gaúcha começou a avançar a partir de 1875 por meio dos imigrantes italianos, que trouxeram variedades européias, além da cultura da produção e consumo de vinhos (POMMER; MAIA, 2003).

A cultura da videira (*Vitis spp.* L.), pela sua extensa área de cultivo no Brasil e pelo seu alto potencial de utilização, constitui uma importante frutífera de clima temperado, ocupando o terceiro lugar em produção (VILLA et al., 2009).

2.2.2 Propagação

A propagação de plantas tem como objetivo a perpetuação das espécies e o aumento no número de plantas. Em plantas frutíferas, a propagação assexuada tem maior importância em relação à propagação sexuada, devido a algumas vantagens como: perpetuação de características agrônomicas de interesse, produção em grande escala em menor espaço de tempo, uniformidade das plantas e redução da fase juvenil (FACHINELLO; HOFFMANN; NACHTIGAL, 2005).

O sistema de propagação de videira mais utilizado, tanto para variedades produtoras de uvas quanto para porta-enxerto é a estaquia, que consiste no enraizamento de um segmento retirado da planta-mãe para a formação de uma nova planta e que, na maioria das vezes, é seguida pela enxertia. A maioria dos porta-enxertos advindos dos cruzamentos entre *V. riparia* e *V. rupestris*, apresentam bom enraizamento. No entanto, híbridos obtidos a partir de *V. cinerea* e *V. berlandieri*, enraízam com maior dificuldade (PIRES; BIASI, 2003). Fatores endógenos e exógenos (ambientais) determinam a capacidade de uma estaca emitir raízes, além de caracterizar a capacidade de enraizamento de uma espécie (FACHINELLO; HOFFMANN; NACHTIGAL, 2005).

Em algumas áreas de cultivo, os porta-enxertos são plantados definitivamente no local onde será instalado o vinhedo e, após um ano do seu plantio, é realizada a enxertia da variedade copa (PIRES; BIASI, 2003). A formação do vinhedo por este método leva, no mínimo, dois anos e, apesar de apresentar baixo custo, favorece a disseminação de várias doenças (REGINA et al., 1998).

Dentre os problemas fitossanitários da videira, a ocorrência de viroses constitui-se em um fator preocupante, pois os vírus uma vez instalados na planta acarretam no seu definhamento e queda da produção (MELO, 2004).

A recuperação da produtividade e a eliminação das principais doenças viróticas da videira podem ser obtidas com a utilização da cultura de tecidos, associada ou não à termoterapia (SCHUCK; SILVA; CRESTAIN, 1988).

2.2.3 Micropropagação

A micropropagação é uma técnica de propagação em que pequenos propágulos de planta selecionados, geralmente meristemas ou segmentos nodais, são propagados em ambiente asséptico controlado em relação a fatores internos, como nutrientes e reguladores de crescimento, e externos, como temperatura e fotoperíodo (DEBERGH; READ, 1991; GRATTAPAGLIA; MACHADO, 1998; FACHINELLO; HOFFMANN; NACHTIGAL, 2005).

Em diversas culturas, a micropropagação vem sendo aplicada com sucesso, possibilitando a obtenção de plantas uniformes, em menor tempo e espaço físico em relação aos métodos convencionais, e ainda com qualidade genética e sanitária, inclusive isentas de vírus, se obtidas por meristemas (CRÓCOMO, 1986). Além disso, a micropropagação, à longo prazo, possibilita a redução dos custos de produção e aumento da produtividade das plantas (QUERALT et al., 1991).

A utilização da micropropagação para videira é uma ferramenta importante para a propagação de material vegetativo em larga escala e para a formação de um vinhedo com material de boa qualidade fitossanitária (DZAZIO et al., 2002), viabilizando a implantação da cultura em nossa região rompendo a dependência da importação de matrizes advindas da Europa (COLETTI et al., 2008).

Para realizar a micropropagação, é necessário dominar todas as etapas do processo que vai desde o estabelecimento da cultura *in vitro*, a multiplicação, enraizamento e aclimatização das mudas (FACHINELLO; HOFFMANN; NACHTIGAL, 2005; BASTOS et al., 2007).

Na etapa de multiplicação *in vitro*, objetiva-se propagar o maior número de explantes em menor tempo. Para que isso ocorra, é necessário desenvolver uma metodologia eficiente (GRATTAPAGLIA; MACHADO, 1990), pois, além da quantidade, é importante levar em conta a qualidade e a homogeneidade dos

explantes para que se obtenha sucesso na etapa seguinte, o enraizamento (GRATTAPAGLIA; MACHADO, 1998).

O desenvolvimento do sistema radicular é um processo complexo que envolve fatores endógenos e exógenos que ainda não estão completamente elucidados (SOUZA; PEREIRA, 2007). A etapa de enraizamento *in vitro* é fundamental para a maioria das espécies, já que o bom desenvolvimento de um sistema radicular é condição para que se obtenham altas taxas de sobrevivência na aclimatização. Deve ser considerada a possibilidade de realizar o enraizamento das plantas em condições *ex vitro*, o que reduziria os custos de produção, além de melhorar a qualidade do sistema radicular formado (COSTA et al., 2008).

Na micropropagação, o sucesso de uma etapa depende da qualidade do material advindo da etapa anterior. Na aclimatização, as plantas podem sofrer um estresse, principalmente, se não desenvolveram um bom sistema radicular na etapa de enraizamento. Considerando o enraizamento *in vitro*, a baixa luminosidade e a alta umidade relativa nos frascos de cultura dificultam o estabelecimento de condições autotróficas normais para algumas espécies, quando transferidas para as condições *ex vitro* (PEDROTTI, 2001).

Há uma necessidade de estudos mais específicos para a micropropagação de espécies lenhosas, pois as mesmas possuem ampla diversidade genética e podendo apresentar certa dificuldade de desenvolvimento, principalmente devido à problemas relacionados à contaminação e à oxidação dos explantes (COELHO, 1999; GRATTAPAGLIA; MACHADO, 1998). Além disso, variedades de uma mesma espécie podem apresentar respostas diferentes em relação à micropropagação, tornando necessário a adaptação de protocolos específicos (CARVALHO et al., 2011).

Existem muitos fatores que podem influenciar no desenvolvimento de explantes durante o processo de micropropagação, o meio de cultura, reguladores de crescimento vegetais e as condições de incubação estão entre os principais (RIBEIRO, 2006).

2.2.4 Jardim clonal

Os jardins clonais são um conjunto de plantas (matrizeiro) destinado ao fornecimento de material propagativo para a formação de mudas, podendo ser

estabelecidos em sistema de cultivo protegido. A partir das matrizes, pode ser retirado material vegetativo para propagação por estaquia ou para cultivo *in vitro* (CARVALHO; SILVA, 2012).

A grande vantagem dos jardins clonais está no fato de que, enquanto uma única planta matriz de sistema convencional fornece uma quantidade limitada de propágulos, em jardins clonais há uma oferta bem maior da quantidade de material propagativo geneticamente idêntico (CAVALCANTI JÚNIOR, 2000; HOPPE, 2004). Outra vantagem é a disponibilidade de material durante todo ano e a juvenilidade e vigor vegetativo que facilitam o enraizamento (OLIVEIRA et al., 2010).

2.2.5 Microestaquia

A microestaquia é uma técnica de propagação vegetativa na qual são utilizadas microestacas de tamanho entre 4 e 8 cm de plantas, cujo material foi rejuvenescido por meio de técnicas de cultivo *in vitro*. No Brasil, teve início sua utilização em espécies florestais, como o eucalipto (XAVIER et al., 2009).

Em comparação com a estaquia convencional, a microestaquia apresenta algumas vantagens como maior juvenilidade do material propagativo, proporcionando melhor desenvolvimento do sistema radicular, além de reduzir a mão-de-obra (DUTRA; WENDLING; BRONDANI, 2009).

No entanto, a microestaquia, primeiramente, necessita da existência de laboratórios de cultura de tecidos, para realizar a etapa inicial, a micropropagação do material vegetativo, para se obter um grau de rejuvenescimento rápido e desejável às plantas. Esta etapa encarece a produção de mudas (ASSIS, 1997).

2.2.6 Miniestaquia

A miniestaquia é similar à estaquia convencional, no entanto, apresenta variações na metodologia que otimizam o enraizamento das mudas. Em relação à estaquia convencional, a miniestaquia apresenta as seguintes vantagens: menor espaço físico para a formação do jardim clonal, maior eficiência no manejo das atividades, maior qualidade e percentual de enraizamento das miniestacas (XAVIER et al., 2003).

Difere da microestaquia, basicamente, quanto à origem do material propagativo. Na miniestaquia, as minicepas iniciais são formadas a partir de mudas

propagadas pela estaquia convencional e, na microestquia, as microcepas advêm da micropropagação (XAVIER et al., 2001; XAVIER; SILVA, 2010). Além disso, o processo de microestquia necessita, inicialmente, de um laboratório de cultura de tecidos para rejuvenescer o material por meio da micropropagação, tornando os custos de produção relativamente onerosos. Em função dessas limitações, desenvolveu-se a miniestquia, atualmente, com ampla utilização em empresas florestais (DUTRA; WENDLING; BRONDANI, 2009).

2.2.7 Hidroponia

A hidroponia (ou cultivo sem solo) é uma técnica de cultivo protegido onde as plantas são nutridas por uma solução aquosa constituída por macro e micronutrientes necessários ao seu desenvolvimento, com a utilização ou não de substratos inertes que possam auxiliar na sustentação das mesmas (MARTINEZ, 1999; RESH, 1997).

A busca por metodologias que minimizem os impactos sobre o meio ambiente e ainda proporcionem resultados satisfatórios de produção, faz da hidroponia uma alternativa de cultivo promissora nestes aspectos. Por meio desta técnica, é possível se obter melhor e mais eficiente uso de água e fertilizantes, além de reduzir o uso de agrotóxicos por ser utilizada em sistema de cultivo protegido (FERREIRA, 2013).

No entanto, muitos cultivos hidropônicos não obtêm êxito, principalmente devido ao desconhecimento de aspectos nutricionais e ao manejo adequado das soluções nutritivas (FURLANI, 2009), necessitando de estudos específicos para adaptação desse sistema de cultivo de acordo com a espécie a ser cultivada.

De acordo com Resh (1997), não existem diferenças fisiológicas entre plantas cultivadas em solo ou em hidroponia. No cultivo hidropônico, a absorção dos nutrientes pelas plantas ocorre da mesma forma de como no sistema de cultivo convencional, pois os elementos são obtidos de uma solução nutritiva onde se encontram dissociados os íons nutrientes. Portanto, qualquer planta cultivada no solo também pode ser cultivada em hidroponia.

Atualmente, diferentes sistemas de cultivo sem solo vêm sendo estudados para a produção de mudas de frutíferas, como pereira (DE SOUZA et al., 2011a), pessegueiro (DE SOUZA et al., 2011b; TOMAZ, 2013), mirtilheiro (NASCIMENTO et

al., 2011), pitangueira (CARVALHO et al., 2014), oliveira (CAPPELARO, 2013), maracujazeiro (TORCHELSEN, 2013).

A possibilidade de aliar as vantagens da micropropagação às vantagens do cultivo sem solo na formação de microjardins clonais, pode trazer grandes avanços à otimização da técnica de produção de mudas de videira, melhorando a qualidade das mudas e, em longo prazo, os custos de produção.

2.3 Hipótese

Plantas de videira obtidas por meio de microestaquia e miniestaquia apresentam maior potencial propagativo, possibilitando a formação de micro e minijardim clonal, constituindo promissoras alternativas ao sistema convencional de propagação.

2.4 Objetivos

2.4.1 Objetivo Geral

Aprimorar metodologias de propagação vegetativa de videira por meio das técnicas de micropropagação, microestaquia e miniestaquia.

2.4.2 Objetivos Específicos

- Desenvolver um protocolo de micropropagação de videira, incluindo as etapas de estabelecimento e multiplicação, enraizamento e aclimatização.
- Formação e avaliação de microjardim clonal
- Formação e avaliação de minijardim clonal
- Comparar micro e minijardim clonal de videira em sistema de cultivo convencional e sem solo.

2.5 Material e métodos

2.5.1 Local dos experimentos

Os experimentos serão realizados no Laboratório de Micropropagação de Plantas Frutíferas, Departamento de Fitotecnia da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Capão do Leão, RS e em casa de vegetação na área experimental da Universidade Federal do Pampa, Campus Dom Pedrito, RS.

2.5.2 Sistemas de cultivo empregados: cultivo convencional e sem solo

No sistema de cultivo denominado como convencional, serão utilizados sacos de polietileno (12 x 25cm) preenchidos com substrato comercial e a solução nutritiva será fornecida a cada 15 dias. Nos demais dias, irrigação será feita apenas com água.

O sistema de cultivo sem solo utilizado será o semi-hidropônico. Para a formação do sistema serão utilizadas floreiras de dimensões de 35cm de altura x 27cm de largura x 72cm de comprimento e volume de 82,8L. O substrato utilizado será areia de granulometria média, colocando, no fundo da floreira, camada de 5cm de brita média para facilitar a drenagem. As floreiras serão colocadas sobre bancadas de madeira com aproximadamente 0,85cm de altura. O manejo da solução nutritiva será diário com aplicação de 1 litro por floreira, com exceção dos dias chuvosos, nos quais a evapotranspiração da cultura é menor, não sendo necessária a irrigação. A cada 15 dias a areia será lavada com água da chuva para evitar a salinização. A solução nutritiva utilizada em ambos os sistemas será formulada de acordo com as necessidades da cultura da videira e da recomendação de adubação referenciadas no Manual de Adubação e de Calagem para os estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina (2004).

2.5.3 Descrição dos experimentos

Este estudo será composto por cinco experimentos. O primeiro experimento (estabelecimento e multiplicação) terá dois fatores: variedades de videira, com três níveis (Paulsen 1103, Tannat e Merlot) e concentrações de regulador de crescimento BAP (6-benzilaminopurina), com quatro níveis (0; 0,5; 1,0 e 1,5mg L⁻¹).

No segundo experimento (enraizamento) será utilizado o material advindo do primeiro experimento e testadas concentrações de regulador de crescimento AIB (ácido indolbutírico), com quatro níveis (0; 0,1; 0,2 e 0,3mg L⁻¹). No terceiro experimento (aclimatização) será utilizado o material advindo do experimento anterior e testados quatro substratos: substrato comercial (Carolina[®]), substrato comercial + fibra de coco (1:1 v/v), substrato comercial + casca de arroz carbonizada (1:1 v/v) e substrato comercial + vermiculita (1:1 v/v). No quarto experimento, será analisado o crescimento das plantas micropropagadas em sistemas de cultivo convencional e sem solo. No quinto experimento, será avaliado o crescimento de plantas obtidas por miniestaquia em sistemas de cultivo convencional e sem solo.

2.5.3.1 Estabelecimento e multiplicação *in vitro* de videira

Para o estabelecimento *in vitro* serão utilizadas brotações advindas de estacas coletadas a campo, colocadas em frascos contendo água, mantidas em sala de crescimento. Os explantes serão submetidos a uma desinfestação (imersão em álcool 70% por um minuto e NaClO 2% adicionando-se duas gotas de Tween 20, por 15 minutos), seguida de três lavagens com água esterilizada câmara de fluxo laminar. Após a desinfestação, os explantes serão inoculados em tubos de ensaio contendo meio de cultura MS (Murashige; Skoog, 1962), acrescido de 30g L⁻¹ de sacarose, 100mg L⁻¹ de mio-inositol e 7g L⁻¹ e ágar. O pH do meio será ajustado para 5,8 antes da adição de ágar e, posteriormente, autoclavado a 121°C e 1,5atm por 20 minutos. Após a inoculação, os explantes serão mantidos no escuro, a 25 ± 2°C, por um período de sete dias, para diminuir a oxidação fenólica. Em seguida, serão transferidos para sala de crescimento com temperatura de 25 ± 2°C e fotoperíodo de 16 horas.

Para a multiplicação serão utilizados segmentos nodais de aproximadamente 1,5cm contendo uma gema, advindos do material estabelecido *in vitro*. Os tratamentos consistirão de três variedades de videira (porta-enxerto Paulsen 1103 e variedades copa Tannat e Merlot) e quatro concentrações de 6-benzilamonipurina - BAP (0; 0,5; 1,0 e 1,5mg L⁻¹), totalizando doze tratamentos.

O meio de cultura utilizado será o MS (Murashige; Skoog, 1962), acrescido de 30g de sacarose, 100mg de mio-inositol e 7g de ágar. O pH do meio será ajustado para 5,8 antes da adição de ágar e, posteriormente, autoclavado a 121°C e 1,5atm

por 20 minutos. Serão utilizados frascos com capacidade de 200mL, com 30mL de meio de cultura por frasco.

O delineamento experimental será o inteiramente casualizado em esquema fatorial (3x4), com quatro repetições, cada repetição será constituída de um frasco com cinco explantes. Após a inoculação, os frascos contendo os explantes serão mantidos em sala de crescimento com temperatura de $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ e fotoperíodo de 16 horas.

Aos 30 dias de cultivo, será avaliado o número de gemas por explante e o comprimento médio das brotações. O número de gemas por explante será utilizado para determinar a taxa de multiplicação, por meio da divisão do número de gemas por explante obtido aos 30 dias de cultivo pelo número de gemas do explante no início do experimento (uma gema).

Os dados obtidos serão submetidos à análise de variância e as médias dos tratamentos comparadas estatisticamente pelo teste de Tukey, em nível de 5% de probabilidade.

Determinado o melhor tratamento, os explantes serão multiplicados para, em seguida, servirem de material vegetativo para a etapa de enraizamento.

2.5.3.2 Enraizamento *in vitro* de explantes de videira

Neste experimento serão utilizados explantes, com aproximadamente 1,5cm de comprimento, obtidos do material multiplicado *in vitro*.

Os tratamentos consistirão de três variedades de videira (Paulsen 1103, Tannat e Merlot) e quatro concentrações de ácido indolbutírico - AIB (0; 0,1; 0,2 e 0,3mg L⁻¹), totalizando doze tratamentos.

O meio de cultura utilizado será o MS (Murashige; Skoog, 1962), acrescido de 30g L⁻¹ de sacarose, 100mg L⁻¹ de mio-inositol e 7g L⁻¹ de ágar. O pH do meio será ajustado para 5,8 antes da adição de ágar e, posteriormente, autoclavado a 121°C e 1,5atm por 20 minutos. Serão utilizados frascos com capacidade de 200mL, com 30mL de meio de cultura por frasco.

O delineamento experimental será o inteiramente casualizado em esquema fatorial (3x4), com quatro repetições, cada repetição será constituída de um frasco com cinco explantes. Após a inoculação, os frascos contendo os explantes serão

mantidos em sala de crescimento com temperatura de $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ e fotoperíodo de 16 horas.

Aos 30 dias de cultivo serão avaliados a porcentagem de enraizamento, o comprimento da raiz mais desenvolvida e o número médio de raízes.

Os dados obtidos serão submetidos à análise de variância e as médias dos tratamentos comparadas estatisticamente pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade.

2.5.3.3 Acclimatização de explantes de videira micropropagados

Neste ensaio serão utilizados explantes enraizados, advindos da etapa de enraizamento *in vitro*.

Os tratamentos consistirão de três variedades de videira (Paulsen 1103, Tannat e Merlot) e quatro substratos: substrato comercial (Carolina[®]), substrato comercial + fibra de coco (1:1 v/v), substrato comercial + casca de arroz carbonizada (1:1 v/v) e substrato comercial + vermiculita (1:1 v/v), totalizando doze tratamentos.

O material será acondicionado em recipientes de plástico transparente fechado, com capacidade aproximada de 1000mL, mantidos em casa de vegetação com temperatura controlada a $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$.

O delineamento experimental será o de blocos casualizados, com quatro repetições, cada repetição será constituída de cinco explantes.

Aos 30 dias de cultivo, serão avaliados a porcentagem de sobrevivência das mudas, o comprimento da parte aérea (cm) e número de folhas.

Os dados obtidos serão submetidos à análise de variância e as médias dos tratamentos comparadas estatisticamente pelo teste de Tukey, em nível de 5% de probabilidade.

2.5.3.4 Cultivo de microjardim clonal de videira em sistema convencional e sem solo

Após a acclimatização, as plantas micropropagadas de videira serão transplantadas para os sistemas de cultivo convencional e sem solo.

As plantas das variedades Paulsen 1103, Tannat e Merlot serão transplantadas para as floreiras, sendo utilizadas 12 plantas por floreira, distribuídas em duas linhas espaçadas em 0,10 x 0,10m entre planta na linha.

O delineamento experimental será blocos casualizados, com seis tratamentos, cada um com quatro repetições, cada repetição composta por doze plantas.

As avaliações serão realizadas no período inicial da instalação do experimento e aos 0, 30, 60 e 90 dias após a montagem do experimento, quando serão avaliados o diâmetro de colo, altura de parte aérea, número de folhas, número de brotações e comprimento das brotações. Na última avaliação, serão analisadas a massa de matéria fresca e massa de matéria seca total das plantas.

Os dados obtidos serão submetidos à análise de variância e as médias dos tratamentos comparadas estatisticamente pelo teste de Tukey, em nível de 5% de probabilidade.

2.5.3.5 Cultivo de minijardim clonal de videira em sistema convencional e sem solo

Serão utilizadas plantas obtidas pela técnica de miniestaquia. Serão preparadas miniestacas herbáceas de videira das variedades Paulsen 1103, Tannat e Merlot, contendo duas gemas, será feito corte em bisel no ápice e transversal na base. Com o auxílio de um canivete, será feita uma lesão superficial na base e, posteriormente, a imersão por dez segundos em solução de ácido indolbutírico 1000mg L^{-1} . Logo, as miniestacas serão acondicionadas em embalagens plásticas (10 x 13 x 20cm), perfuradas, contendo vermiculita previamente umedecidas com água, procedendo-se o borrifamento com água sempre que necessário, deixando-se as caixas fechadas para evitar a desidratação. Serão mantidas em casa de vegetação a 25°C por 60 dias.

As plantas enraizadas serão transplantadas para os sistemas de cultivo convencional e sem solo. Serão utilizadas 12 plantas por floreira, distribuídas em duas linhas espaçadas em 0,10 x 0,10m entre planta na linha.

O delineamento experimental será blocos casualizados, com seis tratamentos, cada um com quatro repetições, cada repetição composta por doze plantas.

As avaliações serão realizadas no período inicial da instalação do experimento e aos 0, 30, 60 e 90 dias após a montagem do experimento, quando serão avaliados o diâmetro de colo, altura de parte aérea, número de folhas, número

de brotações e comprimento das brotações. Na última avaliação, serão analisadas a massa fresca e massa seca total das plantas.

Os dados obtidos serão submetidos à análise de variância e as médias dos tratamentos comparadas estatisticamente pelo teste de Tukey, em nível de 5% de probabilidade.

2.6 Recursos necessários

Os recursos necessários se destinam à manutenção da estrutura, aquisição de novos equipamentos para reposição e materiais de consumo.

DISCRIMINAÇÃO	
Custeio	
Material de consumo (laboratório)	Valor (R\$)
Nitrato de amônio 500g*	76,00
Nitrato de potássio 500g*	86,00
Cloreto de cálcio dihidratado 500g*	5,75
Sulfato de magnésio heptahidratado 500g*	3,40
Fosfato de potássio monobásico 500g*	15,18
Sulfato de manganês monohidratado 500g*	11,05
Ácido bórico 500g*	5,89
Sulfato de zinco heptahidratado 500g*	10,54
Iodeto de potássio 100g)	17,40
Molibdato de sódio dihidratado 500g*	41,95
Sulfato de cobre pentahidratado 500g*	8,63
Cloreto de cobalto hexahidratado 100g*	66,09
Sulfato ferroso heptahidratado 500g*	4,94
EDTA dissódico 500g*	30,70
Tiamina HCl 25g*	117,60
Ácido nicotínico 100g*	24,24
Piridoxina HCl 100g*	182,00
Glicina 100g*	51,20
Mio-inositol 100g*	31,68
Sacarose 1.000g	4,95
Agar 1.000g	196,00
Álcool 96°GL 30L	75,00
Hipoclorito de sódio 10L	25,00
Detergente Tween 20 1.000mL*	39,00
6-benzilaminopurina (BAP) 5g*	154,00
Ácido indolbutírico 5g*	350,00
Vidraria de laboratório (provetas, Erlenmeyers etc)*	100,00
Cartucho de tinta para impressora: 1 un.	50,00
Sub-total	1784,19

Material de consumo (casa de vegetação)	Valor (R\$)
Fertilizantes solúveis	240,00
Plástico agrícola para cobertura da estufa (polietileno transparente: 150 μ ; 12m x 50m)*	1.100,00
Tábuas (cedrinho 0,15 x 6,00 m) para reparação das bancadas: 32 un.*	416,00
Vermiculita (4 sacos)	82,00
Floreiras plásticas de 82,8L: 24un.	840,00
Substrato comercial (6 sacos)	96,00
Cumbucas plásticas para enraizamento das microestacas (50 un)	37,50
Condutivímetro de bolso: 1 un.	295,00
pHmetro de bolso: 1 un.*	270,00
Tanque armazenador de solução nutritiva (250L: 3 un.)	600,00
Sub-total	3976,50
Total	5760,69

* Material disponível.

2.8 Referências

ALVARENGA, A. A.; ABRAHÃO, E.; REGINA, M. A.; ANTUNES, L. E. C.; PEREIRA, A. F. Origem e classificação botânica da videira. **Informe Agropecuário**, v.194, n.1, p.5-8, Belo Horizonte, 1998.

ASSIS, T. F. Propagação vegetativa de Eucalyptus por microestaquia. In: IUFRO Conference on Silviculture and Improvement of Eucalypts, Salvador, 1997. **Anais...** Colombo: EMBRAPA/CNPQ, v.1, p.300-304, 1997.

BASTOS, L. P.; MOREIRA, M. J. S.; COSTA, M. A. P. C.; ROCHA, M. C.; HANSEN, D. S.; SILVA, S. A.; DANTAS, A. C. V. L.; SOUSA, C. S. Cultivo *in vitro* de Mangabeira (*Hancornia speciosa*). **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v.5, supl. 2, p.1122-1124, 2007.

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

CARVALHO, D. C.; LOPES DA SILVA, A. L.; TANNO, G. NAKAO; PURCINO, M.; BIASI, L. A., Organogênese a partir de segmentos foliares e internodais de videira cv. Merlot. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, 35, 108-114. 2011.

CARVALHO, G. L.; AFONSO, 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, 2014, Pelotas. **Anais...** Pelotas: VI Encontro sobre pequenas frutas e frutas nativas do Mercosul, p.89, 2014.

CARVALHO, J. M. F. C.; SILVA, M. M. de A. **Plantas Matrizes na propagação vegetativa**. Campina Grande: Embrapa Algodão, Documentos, 242. 36 p. 2012.

CAVALCANTI JÚNIOR, A. T.; SANTOS, F. J. D. S.; CRISÓSTOMO, L. A.; PESSOA, P. F. A. D. P. **Custos de formação e manutenção de jardins clonais de cajueiro anão precoce**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, Comunicado Técnico 66, 2001.

COELHO, M. C. F. **Germinação de sementes e propagação *in vitro* de sucupira branca [*Pterodon pubescens* (Benth.) Benth.]**. 1999. 119f. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Fitotecnia), Universidade Federal de Lavras. Lavras, 1999.

COLETTI, L. S.; MARTINS, C. R.; GOULART, M. Micropropagação de porta-enxerto de videira Paulsen 1103 "*in vitro*", com diferentes concentrações de citocinina. **Revista da FZVA. Uruguaiana**, v.15, n.1, p. 102-108. 2008

COSTA, F. D. S.; PASQUAL, M.; PEREIRA, J. E. S.; RODRIGUES, F. A.; MIYATA, L. Y. Relação entre o tempo de enraizamento *in vitro* e o crescimento de plantas de bananeira na aclimatização. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.30, n.1, p.31-37, 2008.

CRÓCOMO, O. J. Plant biotechnology in the agriculture and development in Brazil. In: Simpósio anual da Academia de Ciência de São Paulo, 11, **Anais...** p.53-71, São Paulo, 1986.

DE SOUZA LEÃO, P. C. Breve histórico da vitivinicultura e a sua evolução na região semiárida brasileira. **Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agrônômica**, Recife, v.7, p.81-85, 2010.

DEBERGH, P. C.; MAENE, L. J. A scheme for 34idropóni propagation for ornamental plants by tissue culture. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v.14, p.35-345, 1981.

DEBERGH, P. C.; READ, P. E. **Micropropagation**. Springer Netherlands, 1991.

DUTRA, L. F.; WENDLING, I.; BRONDANI, G. E. A micropropagação de eucalipto. **Pesquisa Florestal Brasileira**, Colombo, n.58, p.49-59, 2009.

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

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

FERREIRA, F. T. **Propagação de videira pelos sistemas hidropônico e convencional**. UFLA, Lavras, 2013. 69p.

FURLANI, P. R. **Cultivo de frutas e hortaliças em ambiente protegido**. Fortaleza: Instituto Frutal, 2009. 37p.

GIOVANNINI, E. **Produção de uvas para vinho, suco e mesa**. 3.ed. Porto Alegre: Renascença, 2008.368p.

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: Embrapa – SPI/Embrapa – CNPH, 1998. v.1, p.183–260.

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S. (Eds.). **Técnicas e aplicações da cultura de tecidos de plantas**. Brasília: ABCTP/Embrapa-CNPH, 1990. 433p.

HIDALGO, L. **Tratado de viticultura general**. Madrid: Mundi-Prensa, 1993.

HOPPE, J. M.; BRUN, E. J. Produção de sementes e mudas florestais. **Caderno didático**, Santa Maria, n.1, p.388, 2004.

MANUAL DE ADUBAÇÃO E CALAGEM PARA OS ESTADOS DO RIO GRANDE DO SUL E DE SANTA CATARINA. Sociedade brasileira de ciência do solo. Comissão de química e fertilidade do solo. 10. ed. Porto Alegre, 2004. 400p.

MARTINEZ, H. E. P. **Hidroponia**. In: Comissão de fertilidade do solo de estado de Minas Gerais. Recomendações para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais: 5ª aproximação. Viçosa, MG, 1999. p.116-125.

MASHIMA, C. H. **Uva sem semente**. Recife: SEBRAE, 2000. 51p. (Agricultura, 14).

MELO, N. F. **Contribuição da Biotecnologia no Desenvolvimento da Viticultura no Vale do São Francisco**. Seminário Novas Perspectivas para o Cultivo da Uva sem Sementes... Embrapa Semi-Árido, Documentos 185, Petrolina, 2004.

NASCIMENTO, D. C.; SCHUCH, M. W.; PEIL, R. M. N. Enraizamento de microestacas de mirtilheiro provenientes de microjardim clonal semi-hidropônico. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.33, n.4, p.1251-1256, 2011.

OLIVEIRA, A. F.; VIEIRA NETO, J.; VILLA, F.; SILVA, L. F. O. Desempenho de jardins clonais de oliveira obtidos por estaquia e enxertia em cortes sucessivos. **Scientia Agraria**, Curitiba, v.11, n.4, p.299- 305, 2010.

PEDROTTI, E.L.; VOLTOLINI, J.A. Enraizamento *ex vitro* e aclimatização do porta-enxerto de macieira M. 9. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.23, n.2, p.234-239, 2001.

PIRES, E. J. P.; BIASI L.A. In: POMMER, C.V. Uva: tecnologia de produção, pós-colheita, mercado. **Porto Alegre: Cinco Continentes**, v.777, 2003.

POMMER, C. V.; MAIA M.L. In: POMMER, C.V. Uva: tecnologia de produção, pós-colheita, mercado. **Porto Alegre: Cinco Continentes**, v.777, 2003.

PROTAS, J. F. da S.; CAMARGO, U. A.; MELO, L. M. R. de. A vitivinicultura brasileira: realidade e perspectivas. In: **Jornadas GESCO**, 13, 2003, Montevideo, Uruguay, Universidad de la República; INIA, 2003.

QUERALT, M. C; BERUTO, M.; VANDERSCHAEGHE, A. et al. Ornamentals. In: DEBERGH, M.C.; ZIMMERMAN, R.H. (ed.). **Micropropagation – Technology and Application**. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1991. p.215-230.

REGINA, M. A.; SOUZA, C. R.; SILVA, T. G.; PEREIRA, A. F. A propagação da videira. **Informe Agropecuário**, v.19, n.194, p.20-27. 1998.

RESCH, H. M. **Cultivos hidropónicos: nuevas técnicas de producción**. 4th ed. Madrid: Ediciones Mundi–Prensa, 1997. 509p.

RIBEIRO, D.W. **Morfogênese *in vitro* da videira: Variedades Paulsen 1103, VR043-43, Cabernet Sauvignon**. 2006. 68f. Dissertação (Mestrado em Recursos Genéticos Vegetais) – Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2006.

SCHUCK, E.; SILVA, A. L.; CRESTANI, D. A. **Seleção e controle sanitário da videira em Santa Catarina para virose e anomalias similares**. Boletim Técnico, 42. EMPASC, Florianópolis, 1988. 23p.

SOUSA, J. S. I. **Uvas para o Brasil**. 2. Ed. Piracicaba: FEALQ, 1996. 791p.

SOUZA, A. G. de; CHALFUN, N. N. J.; FAQUIN, V.; SOUZA, A. A. de. Production of pear trees grafted under hydroponic conditions. **Scientia Agraria**, Curitiba, v.12, n.1, p.35-40, 2011a.

SOUZA, A. G. de; CHALFUN, N. N. J.; FAQUIN, V.; SOUZA, A. A. de. Production os peach trees grafted under hydroponic conditions. **Ciência e Agrotecnologia**, v.35, n.2, p.3-6, 2011b.

SOUZA, A. V.; PEREIRA, A. M S. Enraizamento de plantas cultivadas *in vitro*. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v.9, n.4, p.103-116, 2007.

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

TORCHELSEN, M. de M. **Produção de mudas por estaquia e cultivo protegido de maracujazeiro-amarelo**. 2013. 88f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Programa de Pós-Graduação em Agronomia. Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2013.

VILLA, F.; PASQUAL, M.; ASSIS, F. A. D.; ASSIS, G. A. D.; ZÁRRAGA, D. Z. A. Micropropagação de duas espécies frutíferas, em meio de cultura DSD1, modificado com fontes de boro e zinco. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.33, n.2, p.468-472, mar./abr., 2009.

XAVIER, A.; ANDRADE, H. B.; OLIVEIRA, M. L.; WENDLING, I. Desempenho do enraizamento de microestacas e miniestacas de clones híbridos de *Eucalyptus grandis*. **Revista Árvore**, Viçosa, v.25, n.4, p.403- 411, 2001.

XAVIER, A.; DA SILVA, R. L. Evolução da silvicultura clonal de Eucalyptus no Brasil. **Agronomía Costarricense**, v.34, n.1, 2010.

XAVIER, A.; SANTOS, G. A.; WENDLING, I.; OLIVEIRA, M. L. Propagação vegetativa de cedro-rosa por miniestaquia. **Revista Árvore**, Viçosa, v.27, n.2, p.139-143, 2003.

XAVIER, A.; WENDLING, I.; SILVA, R. L. **Silvicultura Clonal: princípios e técnicas**. Viçosa: Editora UFV, 2009. 272p.

3 Relatório do trabalho de campo

O início do trabalho de campo deu-se no mês de julho de 2015, no Laboratório de Botânica da Universidade Federal do Pampa (UNIPAMPA – Campus Dom Pedrito), com as primeiras tentativas de estabelecimento *in vitro* de explantes de videira de diferentes variedades. Estacas lenhosas coletadas da poda de inverno foram colocadas para brotar em condições de laboratório, em sala de crescimento à temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$ e fotoperíodo de 16 horas. A partir das brotações destas estacas, foram coletados e inoculados *in vitro*, segmentos nodais das variedades Chardonnay, Merlot, Tannat, Paulsen 1103 e SO4. No entanto, o material não pôde ser propagado devido à contaminação. Logo, foram realizados estabelecimentos de meristemas das variedades Chardonnay e SO4 a partir de ramos coletados diretamente do campo. Deste material, apenas os explantes de Chardonnay tiveram boas taxas de sobrevivência e estabelecimento, podendo ser propagado para dar início aos experimentos de micropropagação.

A escolha por estas variedades se deu por serem as mais utilizadas na região da Campanha. Entre elas, em especial, a Chardonnay é considerada a “rainha das uvas brancas”, por proporcionar vinhos complexos, ricos e bem estruturados. Em termos de produção e área plantada, ocupa o segundo lugar no município de Dom Pedrito, perdendo apenas para a Cabernet Sauvignon. Outro fator que determinou a escolha dos materiais foi pela sugestão de um viticultor da região, que trabalha com a variedade Chardonnay, utilizando o porta-enxerto SO4, e afirma que talvez seja o único produtor da região que possui clones de Chardonnay advindos da Califórnia (VCR 6).

Em maio de 2016, foi realizada a instalação do experimento de multiplicação *in vitro*, utilizando os explantes de videira da variedade Chardonnay propagados a partir do estabelecimento de meristemas. Neste experimento, foram testados o meio de cultura MS (Murashige; Skoog, 1962) com a concentração completa de sais (MS) e com a metade da concentração de sais (MS/2) e o BAP (6-benzilaminopurina) nas concentrações de 0; 0,01 e $0,02\text{mg L}^{-1}$, avaliando a multiplicação dos explantes. Durante o período do experimento, o material foi mantido em sala de crescimento à $25 \pm 2^\circ\text{C}$ e fotoperíodo de 16 horas. Aos 30 dias de cultivo foi realizada a avaliação da multiplicação dos explantes. Após a avaliação, este material passou por um

subcultivo em meio de cultura MS/2 sem adição de regulador de crescimento para, posteriormente, ser utilizado no experimento de enraizamento *in vitro*.

Em agosto do mesmo ano, foi instalado o experimento de enraizamento *in vitro*, quando foram analisados, novamente, as concentrações do meio de cultura MS (MS e MS/2), só que nesta etapa, combinado com concentrações de AIB (ácido indolbitírico) (0; 0,1; 0,2; 0,3mg L⁻¹), para promover o enraizamento dos explantes. O material permaneceu em condições controladas de temperatura e fotoperíodo conforme o experimento anterior. Aos 45 dias foi avaliado o enraizamento dos explantes. Após a avaliação do enraizamento, no início de outubro, o material enraizado *in vitro* foi para a etapa de aclimatização.

No experimento de aclimatização, foram testados os substratos HDecker[®], Humosolo ES[®], vermiculita e fibra de coco. As plântulas que estavam em condições *in vitro* foram retiradas dos frascos, lavadas com água (para remoção dos restos de meio de cultura) e, em seguida, transplantadas para embalagens plásticas transparentes articuladas (10 x 13 x 20cm) contendo o substrato (tratamento). Esta etapa foi realizada no viveiro de mudas, pertencente à UNIPAMPA – Campus Dom Pedrito. O viveiro de mudas é construído em tela sombrite com sombreamento 50%, com dimensões (C x L x A) de 16 x 32 x 3,5m. Em 20 dias, pôde-se considerar que as mudas encontravam-se aclimatizadas, sendo realizada uma avaliação da sobrevivência e do crescimento das mesmas.

No mesmo período em que as plântulas micropropagadas estavam sendo aclimatizadas no viveiro, realizou-se um experimento de enraizamento de miniestacas de videira. Este experimento, além de avaliar o enraizamento das miniestacas, objetivou a formação de mudas que, posteriormente, seriam utilizadas e comparadas com as mudas micropropagadas no experimento dos jardins clonais. Neste trabalho foram utilizadas miniestacas herbáceas de videira Chardonnay e SO4, obtidas a partir de ramos coletados no campo e testadas concentrações de AIB (0, 500, 1000 e 1500mg L⁻¹). As miniestacas foram acondicionadas em bandejas de isopor contendo vermiculita como substrato e mantidas em uma câmara de microaspersão localizada no interior do viveiro de mudas. A microaspersão tinha duração de 5 minutos, sendo realizada de 2 a 4 vezes ao dia, conforme a necessidade de irrigação. Aos 60 dias, foi avaliado o enraizamento das miniestacas.

Em dezembro, após a aclimatização das mudas micropropagadas e do enraizamento das miniestacas, foi instalado o experimento dos jardins clonais. As mudas formadas a partir destas duas técnicas foram transplantadas para os sistemas de cultivo definidos como convencional e cultivo sem solo. No sistema convencional, as mudas foram mantidas em sacos plásticos contendo substrato composto de HDecker[®] e vermiculita e a solução nutritiva era fornecida a cada 15 dias. No sistema de cultivo sem solo, as mudas eram acondicionadas em floreiras plásticas contendo areia como substrato e a solução nutritiva era fornecida diariamente. A solução nutritiva foi formulada de acordo com as necessidades da cultura da videira e da recomendação de adubação referenciadas no “Manual de Adubação e de Calagem para os estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina”. Para o preparo da solução nutritiva, primeiramente, os macros e micronutrientes foram pesados e diluídos separadamente e, em seguida, adicionados ao reservatório já contendo água da chuva. O pH da solução nutritiva foi mantido em 6,0 por meio da adição de solução de correção à base de hidróxido de sódio (NaOH 1N) ou ácido sulfúrico (H₂SO₄ 1N) e a condutividade elétrica (CE) foi de 1,8dS m⁻¹. As avaliações foram realizadas mensalmente, desde a instalação do experimento e aos 30, 60, 90, 120 e 150 dias após a montagem do experimento. O crescimento das mudas foi avaliado por meio da medição da parte aérea e brotações. Na última avaliação (aos 150 dias de cultivo), em maio de 2017, além das medidas de crescimento já mencionadas, verificou-se o rendimento em microestacas, massa de matéria fresca da parte aérea e radicular, massa de matéria seca aérea e radicular e análise nutricional das folhas. Para obtenção do peso seco o material foi colocado em estufa com ventilação forçada a 65°C até peso constante. A análise nutricional das folhas foi realizada no Laboratório de Química do Solo da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel da Universidade Federal de Pelotas, por meio de amostras de folhas coletadas das plantas na última avaliação, antes da pesagem do material.

Durante o período dos experimentos no viveiro de mudas, foi realizado o monitoramento de temperatura e umidade por meio de termômetros de mínima e máxima.

No experimento dos jardins clonais, entre os meses de fevereiro e março, houve uma grande incidência de míldio, entre outros fungos, havendo a necessidade de aplicação de fungicidas. Foram realizadas aplicações de Metiltiofan (Tiofanato-

metílico), Academic (Cimoxanil + Mancozeb) e Forum (Dimetomorfe), sendo aplicados alternadamente, a cada 15 dias.

A partir dos resultados, foram gerados cinco artigos científicos para serem publicados em revistas científicas, os quais são apresentados a seguir. Os artigos foram formatados de acordo com as normas da Revista Brasileira de Fruticultura.

4 Artigos desenvolvidos

4.1 Artigo 1. Multiplicação *in vitro* de videira Chardonnay: meio de cultura e concentrações de BAP

Artigo a ser submetido para à “Revista Brasileira de Fruticultura”

MULTIPLICAÇÃO *IN VITRO* DE VIDEIRA CHARDONNAY: MEIO DE CULTURA E CONCENTRAÇÕES DE BAP¹

DANIELE CAMARGO NASCIMENTO², NORTON VICTOR SAMPAIO³,
MÁRCIA WULFF SCHUCH³

RESUMO - A micropropagação é uma importante ferramenta na produção de mudas de qualidade. Para a videira, a qualidade das mudas é fundamental na implantação de um vinhedo, que pode estar dezenas de anos em produção. Composições de meios de cultura e concentrações de reguladores de crescimento, comumente são testados para adequar protocolos de micropropagação. O objetivo deste trabalho foi testar concentrações do meio de cultura Murashige & Skoog (MS) e de 6-benzilaminopurina (BAP) na multiplicação *in vitro* de explantes de videira Chardonnay. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, em esquema bifatorial, testando-se meio de cultura (MS e MS/2) e concentrações de BAP (0, 5 e 10 μ M). Aos 30 dias de cultivo foram avaliados número de gemas, folhas e brotações, e comprimento médio de brotações. As concentrações do meio MS tiveram efeito significativo para as variáveis número de folhas e, para comprimento médio de brotações na interação com 5 μ M de BAP. A concentração de 10 μ M de BAP apresentou as maiores médias para número de gemas, número de folhas e número de brotações, embora sem diferenças estatísticas significativas nas duas primeiras variáveis. O meio de cultura MS/2 acrescido de 10 μ M de BAP é o recomendado para a multiplicação *in vitro* de explantes de videira Chardonnay.

¹ A pesquisa é parte integrante da tese de doutorado do primeiro autor.

² Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Universidade Federal de Pelotas (PPGA/UFPel), Pelotas, RS. E-mails: dcn.biologia@gmail.com

³ Eng. Agr. Dr., Universidade Federal do Pampa (UNIPAMPA - Campus Dom Pedrito), Dom Pedrito, RS. E-mail: nortonsampaio@unipampa.edu.br

⁴ Eng. Agr. Dra., Departamento de Fitotecnia, Universidade Federal de Pelotas (UFPel), Pelotas, RS. E-mail: marciaws@ufpel.edu.br

Termos para indexação: *Vitis vinifera*, cultura de tecidos, micropropagação, citocinina.

MULTIPLICATION *IN VITRO* OF GRAPEVINE CHARDONNAY: CULTURE MEDIA AND LEVELS OF BAP

ABSTRACT - Micropropagation is an important tool in the production of quality plants. For the grapevine, the quality of the plants is fundamental in the implantation of a vineyard, that can be dozens of years in production. Compositions of culture media and concentrations of growth regulators are commonly tested to suit micropropagation protocols. The objective of this work was to test concentrations of the Murashige & Skoog (MS) and 6-benzylaminopurine (BAP) media in the *in vitro* multiplication of Chardonnay grapevine explants. The experimental design was completely randomized, with a bifactorial scheme, testing culture media (MS and MS/2) and BAP concentrations (0, 5 and 10 μ M). At 30 days of cultivation were evaluated number of buds, leaves and shoots, and average length of shoots. Concentrations of MS media had a significant effect on the number of leaves and, the mean length of shoots in the interaction with 5 μ M BAP. The concentration of 10 μ M of BAP presented the highest averages for number of buds, number of leaves and number of shoots, although without significant statistical differences in the first two variables. The MS/2 culture media plus 5 or 10 μ M BAP can be used for the *in vitro* multiplication of Chardonnay grapevine explants.

Index terms: *Vitis vinifera*, tissue culture, micropropagation, cytokinin.

INTRODUÇÃO

A cultura de tecidos vegetais é um importante instrumento na conservação e multiplicação das espécies vegetais. É uma ferramenta cada vez mais utilizada na área de melhoramento genético, além de possibilitar a clonagem de plantas em escala comercial (ANDRADE, 2002; ALVES et al., 2008).

Dentre as técnicas da cultura de tecidos vegetais, a micropropagação é a mais estudada e com aplicação prática comprovada para diversas espécies. A

micropropagação possibilita a obtenção de plantas uniformes, em menor tempo e espaço físico em relação aos métodos convencionais, independente de fatores ambientais externos e, ainda, com a possibilidade de obtenção de mudas com qualidade genética e sanitária, inclusive isentas de vírus, se obtidas por meristemas (GRATTAPAGLIA; MACHADO, 1998; ERIG; SCHUCH, 2005; CARVALHO et al., 2006; ULISSES et al., 2010; CARVALHO; SILVA, 2012).

A utilização da micropropagação para videira é uma ferramenta importante para a obtenção de mudas sadias e uniformes, possibilitando a melhoria da qualidade dos vinhedos desde sua instalação, já que um dos maiores problemas do setor vitícola é a falta de mudas com garantia de qualidade fitossanitária, ofertadas aos produtores (DZAZIO et al., 2002; BIASI, 2003; RIBEIRO, 2006; RIBEIRO et al., 2010; RIBEIRO, 2012).

Para realizar a micropropagação é necessário dominar todas as etapas do processo, que vai desde o estabelecimento da cultura *in vitro*, a multiplicação, o enraizamento, até a aclimatização das mudas (FACHINELLO et al., 2005; BASTOS et al., 2007).

A etapa de multiplicação visa à propagação dos explantes, em número. No entanto, é importante adequar uma metodologia para que, além de quantidade de material propagado, se mantenha a qualidade, a estabilidade genética e a uniformidade dos explantes (GRATTAPAGLIA; MACHADO, 1998; CHAVES et al., 2005; DUTRA, 2009).

Dentre muitos fatores que podem influenciar no sucesso da propagação *in vitro*, o meio de cultura e os reguladores de crescimento estão entre os principais (RIBEIRO, 2006).

De forma geral, diversos trabalhos apontam, como o mais utilizado, o meio de cultura Murashige & Skoog (MS) completo (MURASHIGE; SKOOG, 1962) ou modificado com metade da concentração de sais (MS/2), visando o melhor desenvolvimento dos explantes e à redução de custos (VILLA et al., 2006; SANTOS, 2007; VILLA et al., 2008; AYUB et al., 2010).

Os reguladores de crescimento, em muitos casos, são indispensáveis para o cultivo *in vitro*, tanto na etapa inicial, quanto nas etapas posteriores, sendo o

desenvolvimento dos explantes dependente da interação entre os hormônios que ocorrem naturalmente na planta e os reguladores de crescimento que são adicionados ao meio de cultura (GEORGE, 1996; PINHAL et al., 2011). Em outros casos, como relatado por Ribeiro (2006), a multiplicação de gemas axilares de videira é uma técnica eficiente na propagação e conservação de germoplasma *in vitro*, podendo ser realizada até mesmo sem o uso de reguladores de crescimento.

As citocininas são os reguladores de crescimento mais utilizados na etapa de multiplicação, pois estimulam a divisão celular, atuando na morfogênese. A concentração e o tipo de citocinina, para a melhor proliferação de brotações, podem variar entre os diferentes genótipos (DZAZIO et al., 2002) e concentrações muito elevadas podem chegar a ser prejudiciais, causando a formação de brotações anormais e/ou hiper-hídricas (GEORGE, 1996; MACHADO et al., 2006; AYUB, 2010).

Diversos reguladores de crescimento são utilizados no cultivo *in vitro* da videira, entretanto, na etapa de multiplicação, na qual as citocininas são mais recomendadas, a BAP (6-benzilaminopurina) é a mais utilizada (PEIXOTO; PASQUAL, 1992; FRÁGUAS et al. 2004; FACHINELLO et al., 2005; RIBEIRO, 2006). Embora seu uso já tenha sido relatado por vários autores, as concentrações, para a melhor multiplicação de brotações, podem variar entre os diferentes genótipos estudados (DZAZIO et al., 2002).

O objetivo deste trabalho foi testar concentrações do meio de cultura MS e de BAP na multiplicação *in vitro* de explantes de videira Chardonnay.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado no Laboratório de Botânica da Universidade Federal do Pampa, Campus Dom Pedrito, RS.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, em esquema bifatorial com dois níveis para o fator meio de cultura (MS e MS/2) e três níveis para o fator concentração de BAP (0, 5 e 10 μ M), sendo seis tratamentos com cinco repetições, cada repetição constituída por um frasco contendo cinco explantes.

Foram utilizados segmentos nodais de videira Chardonnay, com aproximadamente 1cm, contendo uma gema axilar e uma folha, advindos do material

estabelecido *in vitro* por meio de meristemas, em meio de cultura MS acrescido de $0,5\text{mg L}^{-1}$ de BAP (ou $2,2\mu\text{M}$) e, após um subcultivo, em meio de cultura MS sem adição de regulador de crescimento.

O meio de cultura utilizado foi o Murashige & Skoog, com a concentração completa de sais (MS) e com a metade da concentração de sais (MS/2), acrescido de BAP (0, 5 e $10\mu\text{M}$), 100mg L^{-1} de mio-inositol, 30g L^{-1} de sacarose e 7g L^{-1} de ágar. O pH do meio foi ajustado para 5,8 antes da adição de ágar e, posteriormente, autoclavado a 121°C e $1,5\text{atm}$, por 20 minutos. Foram utilizados frascos com capacidade de 200mL, com 30mL de meio de cultura por frasco.

Após a inoculação, os frascos contendo os explantes foram mantidos em sala de crescimento com temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$ e fotoperíodo de 16 horas.

Aos 30 dias de cultivo foram avaliados o número de gemas, número de folhas, número e comprimento médio de brotações.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e, quando significativa, as médias dos tratamentos comparadas estatisticamente pelo teste de Tukey, em nível de 5% de probabilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com a análise de variância, todas as variáveis analisadas apresentaram diferenças significativas, pelo menos, em um dos fatores testados. Houve interação entre os fatores meio de cultura e concentração de BAP, apenas para a variável comprimento médio de brotações.

Para a variável número de gemas, as concentrações do meio de cultura não tiveram efeito significativo. Em relação ao BAP, com a concentração de $10\mu\text{M}$ foi a que proporcionou a maior média (2,23), não diferindo estatisticamente da concentração de $5\mu\text{M}$, mas com diferenças significativas do tratamento sem o uso de BAP (Tabela 1).

Quanto ao número de folhas, o meio de cultura MS, foi o qual se obteve a maior média (3,98), diferindo estatisticamente da média obtida com o MS/2. Quanto às concentrações de BAP, os tratamentos com 5 e $10\mu\text{M}$ proporcionaram as maiores médias (3,94 e 4,13, respectivamente), não diferindo estatisticamente entre si, mas

diferindo do tratamento sem o uso de BAP (Tabela 1). Carvalho et al. (2013), testando concentrações de BAP, obtiveram médias de 3,1 e 2,8, para as variedades Bordô e Chardonnay, respectivamente, com a concentração de 5 μ M, em meio de cultura MS, durante a regeneração *in vitro* de segmentos nodais. Em comparação com o presente trabalho, utilizando-se a concentração de 5 μ M obteve-se valores semelhantes e, ainda mais altos, quando se utilizou 10 μ M. Villa et al. (2006), testando variações do meio MS, obtiveram maior número de folhas (2,51) com o meio de cultura MS/2 sem o uso de reguladores de crescimento, na multiplicação *in vitro* de porta-enxerto VR043-43. Dzazio et al. (2002), avaliando concentrações de BAP e cinetina, encontraram maior número de folhas utilizando a concentração de 1 μ M de BAP (2,11) e no tratamento sem o uso de regulador de crescimento (1,42), durante a etapa de multiplicação na micropropagação do porta-enxerto de videira 420-A.

Quanto ao número de brotações, as concentrações do meio de cultura também não tiveram efeito significativo. Em relação ao BAP, a concentração de 10 μ M foi a que proporcionou a maior média (1,81), diferindo estatisticamente das médias obtidas com a concentração de 5 μ M e do tratamento sem o uso de BAP (Tabela 1). Ayub et al. (2010), que também trabalharam com meios de cultura e BAP, obtiveram o maior número de brotações (2,9) utilizando o meio MS/2 acrescido de 5 μ M de BAP, no entanto, como não houveram diferenças estatísticas com as demais concentrações testadas, os autores recomendam o uso de 2,5 μ M de BAP, para a multiplicação *in vitro* de videira Bordô. Já para Coletto et al. (2008), o meio de cultura MS/2 suplementado com 1 μ M de BAP apresentou a maior média (2,57), porém, considerado estatisticamente igual às concentrações de 0, 0,5 e 2,5 μ M BAP, para a multiplicação *in vitro* do porta-enxerto Paulsen 1103.

Para o comprimento médio de brotações, a interação entre os fatores foi significativa. Comparando as médias dos meios de cultura utilizados em cada concentração testada, apenas na concentração de 5 μ M de BAP apresentaram-se diferenças significativas a favor do MS. Já comparando as concentrações testadas, somente dentro do meio MS houveram diferenças significativas, sendo que as concentrações 5 e 10 μ M proporcionaram as maiores médias para comprimento médio de brotações (Tabela 1). Coletto et al. (2008) obtiveram médias semelhantes, entre 1,01

e 1,47cm, utilizando concentrações de BAP entre 1 e 5 μ M, não havendo diferenças estatísticas entre os tratamentos. Os mesmos autores relatam que, aumentando os níveis de BAP até 2,5 μ M, tem-se um aumento contínuo no crescimento dos explantes, no entanto, aumentando a concentração para 5,0 μ M, ocorre um efeito tóxico e, conseqüentemente, uma redução no crescimento dos explantes. Machado et al. (2006), testando concentrações de BAP e cinetina, também observaram uma redução no comprimento das brotações de porta-enxerto VR043-43, quando utilizadas as concentrações de 5 e 10 μ M de BAP no meio de cultura. Os mesmos autores ainda observaram que a cinetina, assim como o BAP, teve efeito negativo sobre o comprimento das brotações, quando utilizadas concentrações de 5 e 10 μ M. Percebe-se que explantes de videira são bastante sensíveis ao uso de citocininas no meio de cultura sendo que, geralmente, são recomendadas concentrações até 5 μ M.

A utilização do meio de cultura MS com a metade da concentração de sais visa à redução dos custos no processo de micropropagação, já que esta é considerada uma técnica onerosa. Os resultados deste trabalho mostram que essa alteração no meio de cultura não afetou negativamente as taxas de multiplicação para a maioria das variáveis analisadas. Portanto, pode-se afirmar que é possível multiplicar explantes de videira Chardonnay utilizando-se o meio de cultura MS/2. Villa et al. (2006) corroboram com esta afirmação, confirmando que é viável o uso de um meio de cultura com metade de seus sais, se o objetivo do trabalho for a redução de custos, já que a diferença observada em MS e MS/2 é muito pequena.

Em relação às concentrações de BAP no meio de cultura, estas devem ser adequadas para cada variedade, otimizando a multiplicação dos explantes e visando a qualidade do material, mesmo que as taxas de multiplicação não sejam tão altas (DZAZIO et al., 2002; COLETO et al., 2008; AYUB et al., 2010).

CONCLUSÃO

O meio de cultura MS (com a concentração completa de sais) é o mais indicado para a multiplicação *in vitro* de explantes de videira Chardonnay, no entanto, o MS/2 (com a metade da concentração) também pode ser utilizado.

Recomenda-se o uso de BAP na concentração de 10 μ M.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVES, C.; OLIVEIRA, J. R.; REIS, E. S.; CORRÊA, R. M.; SOUZA, J.; SILVA, J. C. O.; PAULA, J. C. R.; RODRIGUES, L. H. F.; SOUZA, A. A.; MENDONÇA, M. R. A. Cultura de Tecidos na Agricultura. In: I Jornada Científica e VI FIPA do Centro Federal de Educação Tecnológica de Bambuí. Bambuí: CEFET-Bambuí, 2008.
- ANDRADE, S. R. M. **Princípios da Cultura de Tecidos Vegetais**. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento. Documentos, 58. 1ª. ed. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2002. p.16.
- AYUB, R. A.; SPINARDI, B.; BASSO, M. F.; BIASI, L. A. Indução de multibrotação *in vitro* em videira cv. Bordô. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.32, n.3, p.675-681, 2010.
- BASTOS, L. P.; MOREIRA, M. J. S.; COSTA, M. A. P. C.; ROCHA, M. C.; HANSEN, D. S.; SILVA, S. A.; DANTAS, A. C. V. L.; SOUSA, C. S. Cultivo *in vitro* de Mangabeira (*Hancornia speciosa*). **Revista Brasileira de Biociências**, Jaboticabal, v.5, supl.2, p.1122-1124, 2007.
- BIASI, L. A. Micropropagação de videiras. In: POMMER, C. V. **Uva: tecnologia de produção, pós-colheita e mercado**. Porto Alegre: Cinco Continentes. p.320-350, 2003.
- CARVALHO, D. C. D.; SILVA, A. L. L. D.; SCHUCK, M. R.; PURCINO, M.; TANNO, G. N.; BIASI, L. A. Fox grape cv. Bordô (*Vitis labrusca* L.) and grapevine cv. Chardonnay (*Vitis vinifera* L.) cultivated *in vitro* under different carbohydrates, amino acids and 6-Benzylaminopurine levels. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v.56, n.2, p.191-201, 2013.
- CARVALHO, J. M. F. C.; SILVA, M. M de A.; MEDEIROS, M. J L. **Fatores inerentes à micropropagação**. Documentos, 148. 1ª. ed. Campina Grande: Embrapa Algodão, 2006. p.28.
- CARVALHO, J. M. F. C.; SILVA, M. M. A. **Plantas Matrizes na propagação vegetativa**. Documentos, 242. Campina Grande: Embrapa Algodão, 2012. p.36.
- CHAVES, A. C.; SCHUCH, M. W.; ERIG, A. C. Estabelecimento e multiplicação *in vitro* de *Physalis peruviana* L. **Revista Ciência Agrotécnica**, Lavras, v.29, n.6, p.1281-1287, 2005.
- COLETTI, L. S.; MARTINS, C. R.; GOULART, M. Micropropagação de porta-enxerto de videira Paulsen 1103 “*in vitro*”, com diferentes concentrações de citocinina. **Revista da FZVA**, Uruguaiana, v.15, n.1, p.102-108, 2008.

DUTRA, L. F.; WENDLING, I.; BRONDANI, G. E. A micropropagação de eucalipto. **Pesquisa Florestal Brasileira**, Colombo, n.58, p.49-59, 2009.

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

ERIG, A. C.; SCHUCH, M. W. Micropropagação fotoautotrófica e uso da luz natural. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.35, n.4, p.961-965, 2005.

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

FRÁGUAS, C. B.; PASQUAL, M.; PEREIRA, A. R. Multiplicação *in vitro* de *Ficus carica* L.: efeito da cinetina e do ácido giberélico. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.28, n.1, p.49-55, 2004.

GEORGE, E. F. **Plant propagation by tissue culture**. Edington: Exegetics, England, 1996. p.1574.

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, L. A. Cultura de tecidos e transformação genética de plantas. Brasília, DF: ABCTP/EMBRAPA/CNPH, v.1, p.183-260, 1998.

MACHADO, M. P.; BIASI, L. A.; RITTER, M.; RIBAS, L. L. F.; KOEHLER, H. S. Multiplicação *in vitro* do porta-enxerto de videira VR 043-43 (*Vitis vinifera* x *Vitis rotundifolia*). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.30, n.4, p.648-655, 2006.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A. A revised medium for rapid growth and bio assaya with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.15, p.473-479, 1962.

PEIXOTO, P. H. P.; PASQUAL, M. Multiplicação *in vitro* de brotações do porta-enxerto de videira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.27, n.4, p.617-622, 1992.

PINHAL, H. F.; ANASTÁCIO, M. R.; CARNEIRO, P. A. P.; SILVA, V. J.; MORAIS, T. P.; LUZ, J. M. Q. Aplicações da cultura de tecidos vegetais em fruteiras do Cerrado. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.41, n.7, p.1136-1142, 2011.

RIBEIRO, A. P. Micropropagação, avaliação da variação somaclonal e detecção de vírus em videira. 2012. 128f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitotecnia, Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2012.

RIBEIRO, D. W. Morfogênese *in vitro* da videira: variedades Paulsen 1103, VR 043-43, Cabernet Sauvignon. 2006. 83f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-

Graduação em Recursos Genéticos Vegetais, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2006.

RIBEIRO, J.; BASTOS, D.; de OLIVEIRA, E. A. G.; PINTO, M. **Produção de mudas micropropagadas de videira, mangueira e goiabeira**. Documentos, 232. Petrolina: Embrapa Semiárido, 2010. p.21.

SANTOS, R. P. Respostas morfofisiológicas de videiras cultivadas sob diferentes condições *in vitro*. 2007. 128f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa. 2007.

ULISSES, C.; WILLADINO, L.; DE ABULQUERQUE, C. C.; CÂMARA, T. Clonagem vegetal. **Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agrônômica**, Recife, v.7, p.86-91, 2013.

VILLA, F.; PASQUAL, M.; PIO, L. A. S.; ASSIS, F. A.; ZÁRRAGA, D. Z. A. Efeito de concentrações de glicina e inositol no cultivo *in vitro* de duas frutíferas de clima temperado. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.32, n.5, p.1637-1642, 2008.

VILLA, F.; PASQUAL, M.; SALLES PIO, L. A.; APARECIDA ASSIS, F. Multiplicação *in vitro* de porta-enxerto de videira em variações do meio MS. **Acta Scientiarum. Agronomy**, Maringá, v.28, n.3, p.345-349, 2006.

Tabela 1. Número de gemas (NG), número de folhas (NF), número de brotações (NB) e comprimento médio de brotações (CMB) de explantes de videira Chardonnay submetidos a concentrações do meio de cultura MS e de BAP na multiplicação *in vitro*. *

BAP (μM)	NG			NF			NB			CMB (cm)		
	MS	MS/2	Média	MS	MS/2	Média	MS	MS/2	Média	MS	MS/2	Média
0	1,36	1,44	1,40b	2,96	2,72	2,84b	1,08	1,00	1,04b	1,00Ab	1,10Aa	1,05
5	2,28	1,60	1,94ab	4,68	3,20	3,94a	1,20	1,00	1,10b	1,20Aa	1,02Ba	1,11
10	2,10	2,36	2,23a	4,30	3,96	4,13a	1,70	1,92	1,81a	1,07Aab	1,00Aa	1,04
Média	1,91 ^{ns}	1,80		3,98A	3,29B		1,33 ^{ns}	1,31		1,09	1,04	
p-valor	0,0475			0,0051			0,0003			0,0407		
CV (%)	32,66			22,98			25,07			9,66		

*Médias seguidas pela mesma letra, maiúsculas na linha e minúsculas na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade; ns = não significativo pelo teste F, ao nível de 5% de probabilidade.

4.2 Artigo 2. Enraizamento *in vitro* de videira Chardonnay: meio de cultura e concentrações de AIB

Artigo a ser submetido para à “Revista Brasileira de Fruticultura”

ENRAIZAMENTO *IN VITRO* DE Videira Chardonnay: Meio de Cultura e Concentrações de AIB¹

DANIELE CAMARGO NASCIMENTO², MAXIMILIANO DINI³, NORTON VICTOR SAMPAIO⁴, MÁRCIA WULFF SCHUCH⁵

RESUMO – A micropropagação é uma técnica da cultura de tecidos, que possibilita a obtenção de plantas com garantia de qualidade genética e sanitária, portanto, torna-se uma ferramenta fundamental na produção de matrizes de videira de qualidade. O objetivo deste trabalho foi testar concentrações do meio de cultura Murashige & Skoog (MS) e de ácido indolbutírico (AIB) no enraizamento *in vitro* de explantes de videira Chardonnay. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, em esquema bifatorial, testando-se meio de cultura (MS e MS/2) e concentrações de AIB (0; 0,1; 0,2; 0,3mg L⁻¹). Aos 45 dias de cultivo foram avaliados a altura da parte aérea, porcentagem de enraizamento, número de raízes e comprimento médio de raízes. O meio MS teve as maiores médias para as variáveis altura da parte aérea e comprimento médio de raízes. A concentração de 0,3mg L⁻¹ de AIB apresentou as maiores médias para número de raízes e, sem o uso de AIB, promoveu maior comprimento médio de raízes. Os tratamentos não tiveram efeito significativo para a porcentagem de enraizamento. O meio de cultura MS acrescido de 0,3mg L⁻¹ de AIB é o indicado para o enraizamento *in vitro* de explantes de videira Chardonnay.

Termos para indexação: *Vitis vinifera*, cultura de tecidos, micropropagação, auxina.

ROOTING *IN VITRO* OF GRAPEVINE CHARDONNAY: CULTURE MEDIA AND LEVELS OF AIB

¹ A pesquisa é parte integrante da tese de doutorado do primeiro autor.

^{2,3} Doutoranda (o) do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Universidade Federal de Pelotas (PPGA/UFPel), Pelotas, RS. E-mails: dcn.biologia@gmail.com; maxidini@hotmail.com

⁴ Eng. Agr. Dr., Universidade Federal do Pampa (UNIPAMPA - Campus Dom Pedrito), Dom Pedrito, RS. E-mail: nortonsampaio@unipampa.edu.br

⁵ Eng. Agr. Dra., Departamento de Fitotecnia, Universidade Federal de Pelotas (UFPel), Pelotas, RS. E-mail: marciaws@ufpel.edu.br

ABSTRACT - Micropropagation is a technique of tissue culture, which makes it possible to obtain plants with genetic and sanitary quality assurance, therefore, it becomes a fundamental tool in the production of quality grapevine matrices. The objective of this work was to test concentrations of the Murashige & Skoog (MS) and indolebutyric acid (IBA) media in the *in vitro* rooting of Chardonnay grapevine explants. The experimental design was completely randomized, with a bifactorial scheme, testing culture media (MS and MS/2) and IBA concentrations (0, 0.1, 0.2, 0.3mg L⁻¹). After 45 days of cultivation, shoot height, rooting percentage, number of roots and mean root length were evaluated. The MS culture media had the highest averages for the shoot height and mean root length variables. The concentration of 0.3mg L⁻¹ of IBA presented the highest mean number of roots and, the treatment without the use of IBA promoted a highest mean root length. All the treatments presented high percentages of rooting, without significant differences. The MS culture media plus IBA at concentrations between 0 and 0.3mg L⁻¹ can be used for the *in vitro* rooting of Chardonnay grapevine explants.

Index terms: *Vitis vinifera*, tissue culture, micropropagation, auxin.

INTRODUÇÃO

A obtenção de mudas de qualidade e com procedência conhecida é o primeiro passo a formação de um pomar duradouro e que mantenha um bom potencial de produção (SOUZA et al., 2002; FRONZA; HAMANN, 2015).

Um dos problemas fitossanitários mais graves da videira são as doenças causadas por vírus. As viroses, além de causarem a redução da longevidade do vinhedo, na produtividade e qualidade dos frutos, dificilmente são eliminadas por métodos fitossanitários convencionais de controle (VILLA et al., 2007a; LIMA, 2009).

A cultura de tecidos é uma ferramenta importante para possibilitar a recuperação de plantas e eliminação de viroses. Por meio da micropropagação, que é a técnica mais difundida dentro da cultura de tecidos, é possível a obtenção de plantas com garantia de qualidade genética e sanitária, portanto, torna-se uma técnica

fundamental na produção de matrizes de videira de qualidade (BIASI, 2003; VILLA et al., 2007b; VILLA et al., 2007a; VILLA et al., 2008; RIBEIRO et al., 2010).

A micropropagação possui distintas etapas no seu processo que vão desde o estabelecimento, a multiplicação, o enraizamento e aclimatização das mudas (FACHINELLO et al., 2005; BASTOS et al., 2007).

A etapa de enraizamento *in vitro* é fundamental para a maioria das espécies, já que o bom desenvolvimento de um sistema radicular é uma das condições para garantir a sobrevivência das mudas na etapa de aclimatização (COSTA, 2008). O propósito da rizogênese é a formação de raízes adventícias nos explantes propagados na etapa de multiplicação, permitindo a formação de plântulas completas, com parte aérea e sistema radicular desenvolvidos, para posterior aclimatização às condições *ex vitro* (CENTELLAS et al., 1999; FACHINELLO et al., 2005; MENDONÇA, 2011).

O enraizamento pode ser realizado *in vitro* ou *ex vitro*. Alguns autores têm sugerido a utilização do enraizamento *ex vitro*, por possibilitar a redução nos custos de produção e por facilitar o processo de aclimatização para algumas espécies (PEDROTTI; VOLTOLINI, 2001; PELIZZA et al., 2013; TRONCO et al., 2015). No entanto, quando o enraizamento é realizado *in vitro*, possibilita o melhor controle das condições em que se trabalha e, com isso, a obtenção de um alto percentual de enraizamento (LEITZKE et al., 2009).

O desenvolvimento do sistema radicular em plantas propagadas vegetativamente, seja em condições *in vitro* ou *ex vitro*, é um processo complexo que envolve fatores endógenos e exógenos que ainda não estão completamente elucidados. Entre os principais fatores relacionados ao enraizamento de plantas cultivadas *in vitro*, encontram-se os níveis de auxina endógena, a juvenilidade do material, o meio de cultura, a presença de reguladores de crescimento, dentre outros (SOUZA; PEREIRA, 2007).

Muitos autores recomendam o uso do meio de cultura MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962) completo ou modificado com metade da concentração de sais, para a micropropagação de videira, visando o melhor desenvolvimento dos explantes, além de possibilitar a redução de custos (BIASI, 2003; VILLA et al., 2006; SANTOS, 2007;

VILLA et al., 2008; AYUB et al., 2010). Além disso, as altas concentrações de sais do meio de cultura, principalmente de macronutrientes, podem inibir o crescimento das raízes na etapa de enraizamento. Por isso, recomenda-se a redução das concentrações dos sais do meio de cultura para 1/2, 1/3 ou 1/4 (CENTELLAS et al., 1999).

Dentre os reguladores de crescimento utilizados na cultura de tecidos, as auxinas normalmente são utilizadas na etapa de enraizamento, pois atuam na formação do sistema radicular. Entre as auxinas, destacam-se o AIB (ácido indolbutírico), o ANA (ácido naftalenacético) e o AIA (ácido indolacético) (CENTELLAS et al., 1999; FACHINELLO et al., 2005; PELIZZA et al., 2013). O AIB é a auxina mais utilizada para estimular o enraizamento dos explantes, devido à baixa toxidez para a maioria das espécies. No entanto, as concentrações devem ser testadas e adequadas para cada espécie (TITON et al., 2003; TRONCO et al., 2015; HARTMANN et al., 1997; LEITZKE et al., 2009).

A complexidade e a dificuldade da etapa de enraizamento dentro da micropropagação são relatadas por diversos autores, principalmente quando se trata de espécies lenhosas (CENTELLAS et al., 1999; LOPES et al., 2001; FACHINELLO et al., 2005; SOUZA; PEREIRA, 2007; SCHMILDT et al., 2010). No entanto, para a videira, existem trabalhos que mostram a possibilidade da elaboração de protocolos de micropropagação sem muitas dificuldades de enraizamento (DZAZIO et al., 2002; BORGHEZAN et al., 2003; VILLA et al., 2007b; BERND et al., 2007; RIBEIRO et al., 2010; BIGGER, 2010; SAN PEDRO et al., 2017).

O objetivo deste trabalho foi testar concentrações do meio de cultura MS e de AIB no enraizamento *in vitro* de explantes de videira Chardonnay.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado no Laboratório de Botânica da Universidade Federal do Pampa, Campus Dom Pedrito, RS.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, em esquema bifatorial com dois níveis para o fator meio de cultura (MS e MS/2) e quatro níveis para o fator concentração de AIB (0, 0,1, 0,2 e 0,3mg L⁻¹), sendo oito

tratamentos com dez repetições, cada repetição constituída por um frasco contendo cinco explantes.

Foram utilizados segmentos nodais de videira Chardonnay, com aproximadamente 1cm, contendo uma gema axilar e uma folha, advindos de dois subcultivos em meio de cultura MS/2 sem adição de regulador de crescimento.

O meio de cultura utilizado foi o Murashige & Skoog, com a concentração completa de sais (MS) e com a metade da concentração de sais (MS/2), acrescido de AIB (0; 0,1; 0,2; 0,3mg L⁻¹), 100mg L⁻¹ de mio-inositol, 30g L⁻¹ de sacarose e 7g L⁻¹ de ágar. O pH do meio foi ajustado para 5,8 antes da adição de ágar e, posteriormente, autoclavado a 121°C e 1,5atm por 20 minutos. Foram utilizados frascos com capacidade de 200mL, com 30mL de meio de cultura por frasco.

Após a inoculação, os frascos contendo os explantes foram mantidos em sala de crescimento com temperatura de 25 ± 2°C e fotoperíodo de 16 horas.

Aos 45 dias de cultivo foram avaliados a altura da parte aérea, porcentagem de enraizamento e de formação de calo, número e comprimento médio de raízes.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e, quando significativa, as médias dos tratamentos foram comparadas estatisticamente pelo teste de Tukey, em nível de 5% de probabilidade. Para as análises estatísticas, os dados expressos em porcentagem foram transformados em arco-seno $\sqrt{x/100}$. Para verificar o comportamento das variáveis em função do aumento da concentração de AIB, quando significativa a ANOVA, se utilizou a análise de regressão polinomial.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Segundo a análise de variância, não houve interação significativa entre os fatores testados, em nenhuma das variáveis analisadas. O fator meio de cultura teve efeito significativo para as variáveis altura da parte aérea e comprimento médio de raízes. As concentrações de AIB tiveram efeito significativo para número de raízes e comprimento médio de raízes. Para as variáveis porcentagem de enraizamento e porcentagem de formação de calo, nenhum dos fatores testados teve efeito significativo, contudo, os dados destas variáveis estão apresentados de forma gráfica.

Para a variável altura de parte aérea, o meio de cultura MS, com a concentração

completa de sais, apresentou a maior média (3,68cm) diferindo estatisticamente ($p < 0,0001$) do meio MS/2, com a metade da concentração de sais. Em relação ao AIB, as concentrações testadas não tiveram efeito significativo. Independente das concentrações de AIB testadas, os explantes apresentaram uma homogeneidade em relação à altura, que ficou entre 2,93 e 3,53cm.

Quanto à porcentagem de enraizamento e de formação de calo, não houve interação entre os fatores e a análise de variância não foi significativa para os efeitos principais ($p > 0,05$). A média de enraizamento dos explantes foi entre 88 a 100%, podendo ser considerada satisfatória (Figura 1A). Mesmo que a análise de variância não tenha sido significativa, vale ressaltar que a maior porcentagem de enraizamento foi obtida com a concentração de $0,1\text{mg L}^{-1}$ de AIB (97%) e, no tratamento em que esta mesma concentração foi adicionada ao meio MS, obteve-se 100% de enraizamento dos explantes. Lewandowski (1991), avaliando combinações de ANA e AIB, obteve entre 86 e 98% de enraizamento, não observando diferenças significativas entre as combinações de maior e menor concentração ($0,001\text{mg L}^{-1}$ ANA + $0,005\text{mg L}^{-1}$ AIB e $0,01\text{mg L}^{-1}$ ANA + $0,05\text{mg L}^{-1}$ AIB), durante o enraizamento *in vitro* de explantes de videira Delaware. Testando concentrações de AIB no enraizamento *in vitro* de quatro variedades de *Vitis vinifera* (Red Globe, Crimson Seedless, Autumn Royal e Thompson), Ali et al. (2017), obtiveram entre 21 e 92% de enraizamento, sendo que os melhores resultados foram com o meio MS/2 e $2,0\text{mg L}^{-1}$ de AIB. Heloir et al. (1997), testando ANA e AIB, obtiveram 100% de enraizamento com $2,5\mu\text{M}$ de AIB em explantes de videira Pinot Noir. Já Reinhardt (2013), trabalhando com híbridos de videira (*V. labrusca* x *V. rotundifolia*), obteve 100% de enraizamento para todos os híbridos testados e em todos os tratamentos, até mesmo sem o uso de reguladores vegetais, constatando que não há necessidade de adição de auxinas no meio de cultura para promover a rizogênese destes materiais.

A média de formação de calo ficou entre 2% nos tratamentos com meio MS sem o uso de AIB e com $0,2\text{mg L}^{-1}$ e 40% no tratamento com meio MS com $0,3\text{mg L}^{-1}$ de AIB (Figura 1B). Houve maior porcentagem de formação de calo no tratamento com maior concentração de AIB, porém, a segunda média mais alta foi no tratamento do meio MS/2 sem o uso de AIB. O excesso de auxina no meio de cultura pode ser

tóxica e favorecer a formação de calos na base dos explantes, comprometendo a rizogênese, assim como pode afetar o crescimento da parte aérea (GRATTAPAGLIA; MACHADO, 1998; PASQUAL, 2001). A formação de calo na zona de enraizamento nem sempre é um indício da formação de raízes adventícias. Em alguns casos, a presença de calo pode afetar a qualidade das raízes, principalmente no que se refere à conexão vascular com a planta (FACHINELLO et al., 2005). Neste experimento, a presença de calo não prejudicou a formação de raízes, no entanto, no tratamento em que a concentração de auxina foi maior ($0,3\text{mg L}^{-1}$ de AIB) e que teve a maior média na porcentagem de formação de calo, foi a que proporcionou a menor média em altura de parte aérea, que pode ter sido prejudicada devido a presença de calo.

Para o número de raízes, as concentrações do meio de cultura não tiveram efeito significativo. Quanto às concentrações de AIB, houve um comportamento linear positivo, em que o aumento das concentrações de AIB promoveu um aumento no número de raízes (Figura 2A). Portanto, a maior média foi obtida com a concentração de $0,3\text{mg L}^{-1}$ (2,65cm) e, a menor, foi no tratamento sem o uso de AIB (1,87cm). Lewandowski (1991) obteve uma média entre 2,3 e 3,2, em explantes de videira Delaware, sendo que a maior média também foi alcançada com a maior concentração de reguladores testada ($0,01\text{mg L}^{-1}$ ANA + $0,05\text{mg L}^{-1}$ AIB). Também foi observado por Reinhardt (2013), um aumento linear do número de raízes conforme o aumento da concentração da auxina que, neste caso, foi utilizado o ANA, chegando a 3,46 para o híbrido BM573 (Bordô x Magnólia), na concentração de $0,8\mu\text{M}$ de ANA. Já Villa et al. (2008b), observaram um decréscimo de forma quadrática no número de raízes com o aumento das concentrações de ANA, durante o enraizamento *in vitro* do porta-enxerto VR 043- 43.

Para o comprimento médio de raízes, o meio de cultura MS apresentou a maior média (4,57cm) diferindo estatisticamente do meio MS/2. Quanto às concentrações de AIB, houve um comportamento linear negativo, com o aumento das concentrações de AIB ocorrendo uma redução no comprimento médio de raízes (Figura 2B). Neste caso, a maior média foi obtida no tratamento sem o uso de AIB (4,94cm) e, a menor, com a concentração de $0,3\text{mg L}^{-1}$ (3,67cm). Reinhardt (2013), também observou este comportamento com os híbridos IB481 (Isabel x Bountiful), IM628 (Isabel x

Magnólia) e BM573 (Bordô x Magnólia), em que comprimento de raízes diminuiu com o aumento da concentração de ANA.

Pode-se observar que, nos tratamentos em que os explantes apresentaram maior número de raízes, estas apresentaram menor comprimento. Portanto, dentre as concentrações testadas, quanto maior a concentração de AIB, maior o número de raízes, porém, menor o seu comprimento. A redução no comprimento das raízes pode ser explicada pelo fato de que as auxinas são necessárias apenas na fase de indução da rizogênese, podendo ser prejudiciais na fase de alongamento das mesmas. Além disso, altas concentrações de auxina também podem induzir a formação de calo na base do explante, comprometendo a rizogênese. Por esta razão, alguns autores recomendam a utilização de dois meios de cultura na etapa de enraizamento, sendo um primeiro meio de cultura contendo auxina, favorecendo a indução da rizogênese e, posteriormente, a transferência do material para um meio sem auxina, estimulando assim o crescimento das raízes. Este processo tem sido adotado com frequência em espécies lenhosas, coníferas e frutíferas (FETT NETO et al., 1992; GRATTAPAGLIA; MACHADO, 1998; LEITZKE et al., 2009; REINHARDT, 2013). É necessário adequar um equilíbrio entre o número e o comprimento de raízes. Não é satisfatório um maior número de raízes se estas não tiverem comprimento suficiente para sustentarem a muda, quando forem transplantadas na etapa seguinte, de aclimatização. Tampouco é possível afirmar que uma única raiz com comprimento considerável, seria suficiente para a sobrevivência da muda durante a aclimatização.

Roubelakis-Angelakis e Zivanovitch (1991) avaliaram o enraizamento *in vitro* de diferentes genótipos de videira, entre elas, variedades viníferas e porta-enxertos. Verificaram que os resultados variam entre as variedades, mas em geral, mesmo sem o uso de reguladores vegetais no meio de cultura, os explantes enraizaram, no entanto, os melhores resultados foram obtidos quando acrescentado AIB nas concentrações entre 3 a 5 μ M. Outros autores apresentaram resultados semelhantes, obtendo-se o enraizamento de explantes de videira mesmo sem a adição de reguladores de crescimento no meio de cultura, no entanto, o uso de auxinas, em geral, promoveu melhores taxas de enraizamento (TORREGROSA; LOPEZ, 1996; NASR EL-DIN et al., 1998; BERND et al., 2007; REINHARDT, 2013).

CONCLUSÃO

O meio de cultura MS (com a concentração completa de sais) é o indicado para o enraizamento *in vitro* de explantes de videira Chardonnay, no entanto, o MS/2 (com a metade da concentração) também pode ser utilizado.

Recomenda-se o uso de AIB na concentração de 0,1mg L⁻¹.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALI, N. A.; HUMERA A.; SABAHAT A. Micropropagation and acclimatization of european varieties of grapes (*Vitis vinifera* L.). **International Journal of Advances in Biology**, Dubai, v.4, n.1/2/3, 2017.

AYUB, R. A.; SPINARDI, B.; BASSO, M. F.; BIASI, L. A. Indução de multibrotação *in vitro* em videira cv. Bordô. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.32, n.3, p.675-681, 2010.

BASTOS, L. P.; MOREIRA, M. J. S.; COSTA, M. A. P. C.; ROCHA, M. C.; HANSEN, D. S.; SILVA, S. A.; DANTAS, A. C. V. L.; SOUSA, C. S. Cultivo *in vitro* de Mangabeira (*Hancornia speciosa*). **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v.5, supl.2, p.1122-1124, 2007.

BERND, R. B.; TRIVILIN, A. P.; CAMARGO, U. A.; CZERMAINSKI, A. B. C. Micropropagação de porta-enxertos híbridos de *Vitis labrusca* x *Vitis rotundifolia* com resistência à pérola-da-terra (*Eurhizococcus brasiliensis* Hempel, Hemiptera: Margarodidae). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.29, n.2, p.350-354, 2007.

BIASI, L. A. Micropropagação de videiras. In: POMMER, C. V. **Uva: tecnologia de produção, pós-colheita e mercado**. Porto Alegre: Cinco Continentes, p.320-350, 2003.

BIGGERS, B. B. Micropropagation and Acclimatization of “Norton” Grapevine (*Vitis aestivalis*). 2010. 35f. Dissertation (Master of Science) - Agronomy and Horticulture Department, University of Nebraska. Lincoln, Nebraska, 2010.

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

CENTELLAS, A. Q.; FORTES, G. R. de L.; MÜLLER, N. T. G.; ZANOL, G. C.; FLORES, R.; GOTTINARI, R. A. Efeito de auxinas sintéticas no enraizamento *in vitro* de macieira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.34, n.2, p.181-186, 1999.

COSTA, F. D. S.; PASQUAL, M., PEREIRA; J. E. S., RODRIGUES, F. A.; MIYATA, L. Y. Relação entre o tempo de enraizamento *in vitro* e o crescimento de plantas de bananeira na aclimatização. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.30, n.1, p.31-37, 2008.

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

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

FETT-NETO, A. G.; TEIXEIRA, S. L.; DA SILVA, E. A. M.; SANT'ANNA, R. Biochemical and morphological changes during *in vitro* rhizogenesis in cuttings of *Sequoia sempervirens* (D. Don) Endl. **Journal of Plant Physiology**, v.140, n.6, p.720-728, 1992.

FRONZA, D.; HAMANN, J. J. **Viveiros e propagação de mudas**. Santa Maria: UFSM, Colégio Politécnico: Rede e-Tec Brasil, 2015, p.142.

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, L. A. **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília, DF: ABCTP/EMBRAPA/CNPH, v.1, p.183-260, 1998.

HARTMANN, H. T.; KESTER, D. E.; DAVIES, F. T.; GENEVE, R. L. **Plant propagation: principles and practices**. 6.ed. New Jersey: Prentice Hall. p.549-622, 1997.

HELOIR, M. C.; FOURNIOUX, J. C.; OZIOL, L.; BESSIS, R. An improved procedure for the propagation *in vitro* of grapevine (*Vitis vinifera* cv. Pinot noir) using axillary-bud microcuttings. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v.49, n.3, p.223-225, 1997.

LEITZKE, L. N.; DAMIANI, C. R.; SCHUCH, M. W. Meio de cultura, concentração de AIB e tempo de cultivo no enraizamento *in vitro* de amoreira-preta e framboeseira. **Revista Brasileira Fruticultura**, Jaboticabal, v.31, n.2, p.582-587, 2009.

LEWANDOWSKI, V. T. Rooting and Acclimatization of Micropropagated *Vitis labrusca* 'Delaware'. **HortScience**, v.26, n.5, p.586-589, 1991.

LIMA, M. F. **Detecção e controle de viroses em videira**. Petrolina: Embrapa Semiárido, 2009. 9p. Disponível em: <http://www.cpatsa.embrapa.br:8080/public_elettronica/downloads/CTE90.pdf>. Acesso em: 26 abril 2018.

LOPES, S. C.; LAMEIRA, O. A.; FORTES, G. R. L.; NOGUEIRA, R. C.; PINTO, J. E. B. P. Enraizamento *in vitro* de mogno (*Swietenia macrophylla* King). **Cerne**, Lavras, v.7, n.1, p.124-128, 2001.

MENDONÇA, E. G. Transformação genética e rejuvenescimento *in vitro* de híbridos naturais de *Eucalyptus urophylla*. 2011. 69f. Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fisiologia Vegetal, Universidade Federal de Lavras – UFLA, Lavras, 2011.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A. A revised medium for rapid growth and bio assaya with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.15, p.473-479, 1962.

NASR EL-DIN, T.; RIZK, I. A.; MADKOUR, M. *In vitro* propagation of muscadine grapes (*Vitis rotundifolia*). **Bulletin of the Faculty of Agriculture**, Cairo, v.48, n.1, p.129-142, 1998.

PASQUAL, M. **Cultura de tecidos**. Lavras: UFLA/FAEPE, 2001. p.165.

PEDROTTI, E. L.; VOLTOLINI, J. A. Enraizamento *ex vitro* e aclimatização do porta-enxerto de macieira M.9. **Revista Brasileira Fruticultura**, Jaboticabal, v.23, n.2, p.234-239, 2001.

PELIZZA, T. R.; MUNIZ, J.; CAMARGO, P.; KRETZSCHMAR, A. A.; RUFATO, L. Enraizamento *ex vitro* e aclimatização de plântulas micropropagadas de amoreira-preta ‘Xavante’. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.35, n.1, p.329-332, 2013.

REINHART, V. Multiplicação de matrizes de porta-enxertos híbridos de videira (*Vitis labrusca* x *Vitis rotundifolia*) por micropropagação. 2013. 127f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2013.

RIBEIRO, J.; BASTOS, D.; de OLIVEIRA, E. A. G.; PINTO, M. **Produção de mudas micropropagadas de videira, mangueira e goiabeira**. Documentos, 232. Petrolina: Embrapa Semiárido, 2010. p.21.

ROUBELAKIS-ANGELAKIS, K. A.; ZIVANOVITC, S. B. A new culture medium for *in vitro* rhizogenesis of grapevine (*Vitis* spp.) genotypes. **HortScience**, v.26, n.12, p.1551-1553, 1991.

SAN PEDRO T.; PEIRÓ R.; VILLANOVA J.; OLMOS A.; GISBERT C. *In vitro* propagation of *Vitis vinifera* L. cv. ‘Monastrell’. **Electronic Journal of Biotechnology**, Valparaíso, v.27, p.80-83, 2017.

SANTOS, R. P. Respostas morfofisiológicas de videiras cultivadas sob diferentes condições *in vitro*. 2007. 115f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa. 2007.

SCHMILDT, E. R.; DO AMARAL, J. A. T.; SCHMILDT, O.; COELHO, R. I.; RABELLO, W. S.; MARTINS FILHO, S. Níveis de ácido indol butírico (AIB) no enraizamento *in vitro* de microestacas de mamoeiro 'Tainung 01'. **Acta Scientiarum. Agronomy**, Maringá, v.32, n.1, p.125-129, 2010.

SOUZA, A. V.; PEREIRA, A. M S. Enraizamento de plantas cultivadas *in vitro*. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Paulínia, v.9, n.4, p.103-116, 2007.

SOUZA, A.; DA SILVA, S. E. L.; DE SOUZA, M. G. **Produção de mudas frutíferas. Embrapa Amazônia Ocidental** - Circular Técnica (INFOTECA-E), 2002. Disponível em: <<http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/674021>>. Acesso em: 26 abril 2018.

TITON, M.; XAVIER, A.; OTONI, W. C.; REIS, G. G. Efeito do AIB no enraizamento de miniestacas e microestacas de *Eucalyptus grandis* W. Hill ex Maiden. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 7, n.1, p.1-7, 2003.

TORREGROSA, L.; LOPEZ, G. Culture *in vitro* des hybrides *Vitis* x *Muscadinia*: Intérêt de la micropropagation axillaire par rapport au microboturage. **Progrès Agricole et Viticole**, Montpellier, v.113, n.8, p.176-181, 1996.

TRONCO, K. M. Q.; BISOGNIN, D. A.; FLEIG, F. D.; HORBACH, M. A. Enraizamento *in vitro* e aclimatização de microestacas de *Ilex paraguariensis* A. St Hil. **Cerne**, Lavras, v.21, n.3, p.371-378, 2015.

VILLA, F.; PASQUAL, M.; PIO, L. A. S.; ASSIS, F. A.; ZÁRRAGA, D. Z. A. Efeito de concentrações de glicina e inositol no cultivo *in vitro* de duas frutíferas de clima temperado. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.32, n.5, p.1637-1642, 2008a.

VILLA, F.; PASQUAL, M.; FRÁGUAS, C. B.; REZENDE, J. C. Enraizamento *in vitro* do porta-enxerto de videira 'VR043-43': efeito do ANA e NaCl. **Agrarian**, Dourados, v.1, n.2, p.103-111, 2008b.

VILLA, F.; PASQUAL, M.; SALLES PIO, L. A.; APARECIDA ASSIS, F. Multiplicação *in vitro* de porta-enxerto de videira em variações do meio MS. **Acta Scientiarum. Agronomy**, Maringá, v.28, n.3, p.345-349, 2006.

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**, Viçosa, v.54, n.312, p.118-124, 2007a.

VILLA, F.; PASQUAL, M.; PIO, L. A. S.; RIBEIRO, M. N. O.; ARAÚJO, A. G.; PEREIRA, A. R. Efeito de diferentes concentrações de nitrato de cálcio e cloreto de potássio na micropropagação de dois porta-enxertos de videira. **Revista Ceres**, Viçosa, v.54, n.314, p.0-25, 2007b.

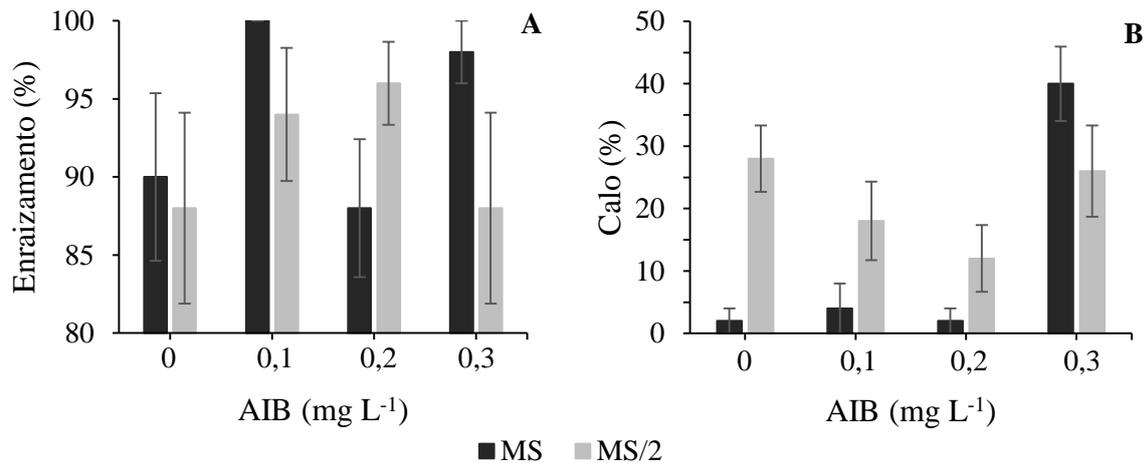


Figura 1. Porcentagens de enraizamento (A) e de calo (B) de explantes de videira Chardonnay, na etapa de enraizamento *in vitro*. As barras representam o erro-padrão da média.

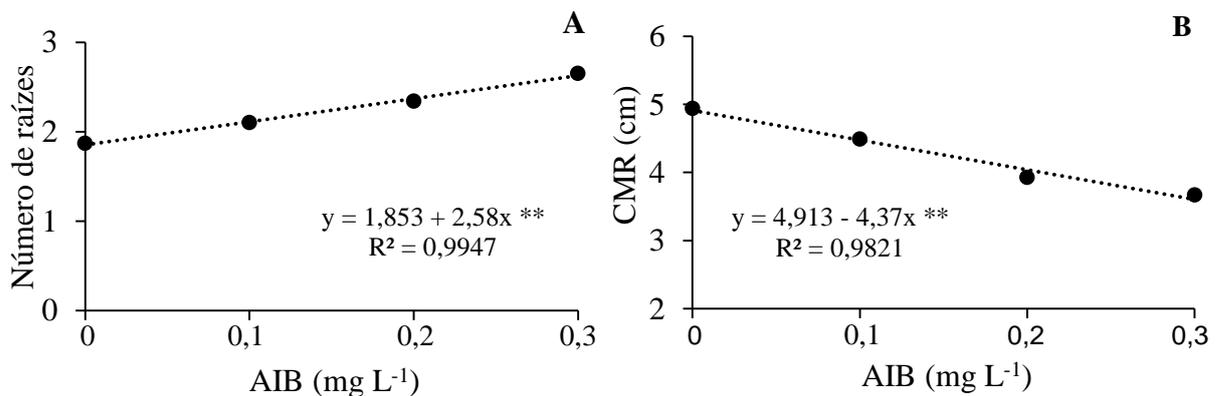


Figura 2. Número de raízes (A) e comprimento médio de raízes (CMR) (B) de explantes de videira Chardonnay, sob concentrações de AIB, na etapa de enraizamento *in vitro*. **Significativo ao nível de 1% de probabilidade de erro; R^2 = coeficiente de determinação.

4.3 Artigo 3. Substratos para aclimatização de plântulas micropropagadas de videira Chardonnay

Artigo a ser submetido para à “Revista Brasileira de Fruticultura”

SUBSTRATOS NA ACLIMATIZAÇÃO DE PLÂNTULAS MICROPROPAGADAS DE Videira Chardonnay¹

DANIELE CAMARGO NASCIMENTO², NORTON VICTOR SAMPAIO³,
MÁRCIA WULFF SCHUCH³

RESUMO – A aclimatização é uma das etapas mais delicadas da micropropagação, pois na transição do ambiente *in vitro* para as condições *ex vitro*, há risco de perda de material devido à sensibilidade das plântulas. A determinação de um substrato que ofereça as condições adequadas para assegurar a sobrevivência das plântulas nesta etapa é fundamental. O objetivo deste trabalho foi avaliar o desenvolvimento de plântulas micropropagadas de videira Chardonnay em diferentes substratos, durante a aclimatização. O delineamento experimental foi em blocos casualizados, testando sete substratos: HDecker[®]; HDecker[®] + vermiculita (1:1); HDecker[®] + fibra de coco (1:1); HDecker[®] + Humosolo ES[®] (1:1); vermiculita + Humosolo ES[®] (1:1); vermiculita + fibra de coco (1:1); Humosolo ES[®] + fibra de coco (1:1). Aos 20 dias, avaliaram-se a porcentagem de sobrevivência, altura da parte aérea, número de folhas, número e comprimento médio de raízes e presença de raízes secundárias. Nos substratos vermiculita + fibra de coco, vermiculita + Humosolo ES[®] e HDecker[®] + vermiculita as plântulas apresentaram 100% de sobrevivência. Dentre as composições testadas, os substratos que continham vermiculita na composição foram os que apresentaram, de forma geral, melhores resultados para aclimatização de plântulas micropropagadas de videira Chardonnay.

¹ A pesquisa é parte integrante da tese de doutorado do primeiro autor.

² Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Universidade Federal de Pelotas (PPGA/UFPel), Pelotas, RS. E-mails: dcn.biologia@gmail.com

³ Eng. Agr. Dr., Universidade Federal do Pampa (UNIPAMPA - Campus Dom Pedrito), Dom Pedrito, RS. E-mail: nortonsampaio@unipampa.edu.br

⁴ Eng. Agr. Dra., Departamento de Fitotecnia, Universidade Federal de Pelotas (UFPel), Pelotas, RS. E-mail: marciaws@ufpel.edu.br

Termos para indexação: *Vitis vinifera*, propagação de plantas, micropropagação, vermiculita, fibra de coco.

SUBSTRATES FOR ACCLIMATIZATION OF MICROPROPAGATED PLANTLETS OF GRAPEVINE CHARDONNAY

ABSTRACT - Acclimatization is one of the most delicate stages of micropropagation, since in the transition from the *in vitro* environment to the *ex vitro* conditions there is a risk of material loss due to the sensitivity of the plantlets. Determination of a substrate that provides adequate conditions to ensure the survival of the plantlets in this step is critical. The objective of this work was to evaluate the growth of micropropagated plantlets of Chardonnay grapevine in different substrates during acclimatization. The experimental design was in randomized blocks, testing seven substrates: HDecker[®]; HDecker[®] + vermiculite (1:1); HDecker[®] + coconut fiber (1:1); HDecker[®] + Humosol ES[®] (1:1); vermiculite + Humosol ES[®] (1:1); vermiculite + coconut fiber (1:1); Humosol ES[®] + coconut fiber (1:1). At 20 days, the percentage of survival, shoot height, number of leaves, number and average length of roots and presence of secondary roots were evaluated. In the substrates vermiculite + coconut fiber, vermiculite + Humosol ES[®] and HDecker[®] + vermiculite the plantlets showed 100% survival. Among the compositions tested, the substrates containing vermiculite in the composition were the ones that presented, in general, better results for acclimatization of micropropagated plantlets of Chardonnay grapevine.

Index terms: *Vitis vinifera*, plant propagation, micropropagation, vermiculite, coconut fiber.

INTRODUÇÃO

Para garantir um bom potencial de produção em um pomar, é importante a obtenção de mudas de qualidade, produzidas a partir de matrizes livres de vírus, que podem ser obtidas pela micropropagação (SOUZA et al., 2002; BIASI, 2003; TANNO; BIASI, 2013; FRONZA; HAMANN, 2015).

O processo de micropropagação envolve, pelo menos, quatro etapas distintas: o estabelecimento, a multiplicação, o enraizamento e a aclimatização das plântulas

(FACHINELLO et al., 2005; BASTOS et al., 2007). O sucesso desta técnica depende da sequência dessas etapas, em que o êxito de cada uma delas é necessário para atingir o êxito na etapa seguinte (PEREIRA et al., 2009).

A aclimatização é a etapa realizada logo após o enraizamento, na qual as plântulas são retiradas dos frascos de cultivo e transplantadas para bandejas ou outros recipientes contendo substrato, e mantidas em casa de vegetação para adaptação ao ambiente.

Durante a propagação *in vitro*, as plântulas são mantidas em condições controladas de assepsia, nutrientes, temperatura e fotoperíodo, além de ter baixa troca gasosa com o ambiente externo e alta umidade no interior dos frascos de cultivo (AFREEN, 2004; ROCHA et al., 2009; PELIZZA et al., 2013). As folhas se caracterizam por serem delgadas e possuem baixa atividade fotossintética, não estando totalmente adaptadas para enfrentar as condições *ex vitro*, podendo sofrer desidratação dos tecidos durante as primeiras horas de aclimatização (BELLINTANI et al., 2007).

Devido a estes fatores, a aclimatização é considerada uma etapa delicada no processo de micropropagação, pois há o risco de perda das plântulas durante essa transição de ambientes, das condições *in vitro* para o ambiente *ex vitro*, em casa de vegetação (HAZARIKA, 2003; VILLA et al., 2007; ROCHA et al., 2009; SCHUCK et al., 2012). Em razão da grande diferença entre os dois ambientes e da sensibilidade das plântulas a esta variação, é necessário que as mesmas passem por esse período de aclimatização, em um ambiente intermediário, antes da transferência para condições de campo (MOREIRA et al., 2007; BRAGA et al., 2011).

Para assegurar a sobrevivência das plântulas durante a aclimatização, é necessário que elas produzam novas raízes e que haja um bom desenvolvimento do sistema radicular já existente. Para isso, é fundamental a determinação de um substrato que ofereça as condições físicas e nutricionais adequadas (PEDROTTI; VOLTOLINI, 2001; MORAES et al., 2005; ROCHA et al., 2009; PELIZZA et al., 2013). Entretanto, substratos formados por um único material dificilmente irão suprir essas necessidades adequadamente (SCHUCK et al., 2012).

Diversos materiais podem ser utilizados como substrato, devendo-se levar em conta a disponibilidade, custo e as características físico-químicas do mesmo. Dentre os

substratos mais utilizados destacam-se a casca de eucalipto ou *Pinus* spp., vermiculita, fibra de coco, areia, turfa, entre outros (ROCHA et al., 2009).

O HDecker[®] e o Humosolo ES[®] são substratos comerciais utilizados para a produção de mudas. O HDecker[®] é constituído de turfa, casca de arroz carbonizada e aditivado com N (0,04%), P₂O₅ (0,04%), K₂O (0,05%) e calcário calcítico (1,5%). O Humosolo ES[®] é constituído de matéria orgânica e composto de casca de eucalipto.

A vermiculita é bastante utilizada na aclimatização de plântulas, tanto isolada quanto em combinação com outros substratos (VILLA et al., 2007; FERMINO JÚNIOR et al., 2011; BRAGA et al., 2011; WAGNER JÚNIOR et al., 2012), e já apresentou bons resultados quando utilizada na aclimatização de videira, como por exemplo, no caso de porta-enxertos 420-A (DZAZIO et al., 2002).

A fibra de coco possui características interessantes e apresenta grande potencial para uso na composição de substratos. Por apresentar alta capacidade de retenção de água, boa drenagem, acidez e variação nos teores de nutrientes (ABAD et al., 2002; SCHUCK et al., 2012).

Existem poucos trabalhos que relatam o estudo de substratos na etapa de transplante das plântulas propagadas *in vitro* para as condições *ex vitro* (BOSA et al., 2003), especialmente se tratando de videira.

O objetivo deste trabalho foi avaliar o desenvolvimento de plântulas micropropagadas de videira Chardonnay em diferentes substratos, durante a aclimatização.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado no viveiro de mudas da Universidade Federal do Pampa, Campus Dom Pedrito, RS, em outubro de 2016.

O delineamento experimental utilizado foi em blocos casualizados, com quatro repetições, cada repetição constituída por um recipiente contendo dez plântulas. Os tratamentos corresponderam a sete diferentes substratos: HDecker[®] (HD); HDecker[®] + vermiculita (HD+V); HDecker[®] + fibra de coco (HD+FC); HDecker[®] + Humosolo ES[®] (HD+H); vermiculita + Humosolo ES[®] (V+H); vermiculita + fibra de coco (V+FC); Humosolo ES[®] + fibra de coco (H+FC). Todas as combinações de substratos

foram formuladas na proporção 1:1. As características físico-químicas dos substratos utilizados estão especificadas na Tabela 1.

As plântulas deste experimento foram obtidas por micropropagação. O estabelecimento foi feito por meio da cultura de meristemas, cujos explantes formados foram propagados e enraizados *in vitro*, em meio de cultura MS/2 (MURASHIGE; SKOOG, 1962; com a metade da concentração de sais), sem reguladores de crescimento. Continham de 3 a 5cm de altura de parte aérea, 3cm de comprimento de raiz (1 a 3 raízes) e de 3 a 5 gemas com folhas. Foram retiradas dos frascos, lavadas com água (para remoção dos restos de meio de cultura) e, em seguida, transplantadas para os recipientes de aclimatização. Estes recipientes consistiam em embalagens plásticas transparentes com tampa articulada (10 x 13 x 20cm) contendo o substrato (tratamento). O material foi distribuído em quatro blocos, sobre uma mesa de aço galvanizado (13 x 1 x 0,80m) com um túnel baixo plástico cobrindo os recipientes, no viveiro de mudas. O viveiro de mudas foi construído em tela sombrite de sombreamento 50%, com dimensões de 16 x 32 x 3,5m.

Durante o período do experimento as temperaturas mínimas médias foram de 13°C e as temperaturas máximas médias 24°C, sendo que a mínima registrada foi de 7°C e a máxima 29°C. A umidade do ar no interior dos recipientes foi mantida em torno dos 80% e, quando necessário, o material era umedecido com água por meio de um borrifador spray. As medições de temperatura e umidade foram realizadas diariamente utilizando-se um termo-higrômetro digital.

Após 20 dias, foram avaliados a porcentagem de sobrevivência, altura da parte aérea, número de folhas, número e comprimento médio de raízes e presença de raízes secundárias.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e, quando significativa, as médias dos tratamentos comparadas estatisticamente pelo teste de Tukey, em nível de 5% de probabilidade. Para as análises estatísticas, os dados expressos em porcentagem foram transformados em arco-seno $\sqrt{x/100}$, para atender os pressupostos de homogeneidade e normalidade da variância.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com a análise de variância, os tratamentos com substratos apresentaram diferenças significativas para todas as variáveis analisadas ($p < 0,05$).

Para a porcentagem de sobrevivência, as plântulas transplantadas para os substratos V+FC (vermiculita + fibra de coco), V+H (vermiculita + Humosolo ES[®]) e HD+V (HDecker[®] + vermiculita), obtiveram 100% de sobrevivência. Logo, o substrato HD+FC (HDecker[®] + fibra de coco) proporcionou 65% de sobrevivência, não diferindo estatisticamente do HD+H (HDecker[®] + Humosolo ES[®]) que apresentou 50% (Tabela 2). Schuck et al. (2012), testando combinações dos substratos Plantmax[®] e fibra de coco, obtiveram 100% de sobrevivência das plântulas, em todas as combinações de substrato, durante a aclimatização de videira Bordô. Bettoni et al. (2016), que também trabalharam com a aclimatização de videira Bordô, testaram combinações de substrato comercial, areia, solo e soluções salinas, sendo que em todos os tratamentos obtiveram porcentagem de sobrevivência acima de 85%. Altas porcentagens de sobrevivência também foram alcançadas por Borghezani et al. (2003), entre 84 e 95%, na aclimatização de seis porta-enxertos de videira (VR043-43, VR039-16, Paulsen 1103, R110, SO4 e Kober 5BB), com substrato Plantmax[®]. Dzazio et al. (2002), obtiveram maior porcentagem de sobrevivência utilizando vermiculita (96%), não diferindo do Plantmax[®] (87%), na aclimatização do porta-enxerto 420A. Biasi et al. (1998), obtiveram entre 92 a 100% de sobrevivência, na aclimatização de plântulas micropropagadas do porta-enxerto Jales - IAC 572, utilizando o substrato comercial Multiplant[®]. Lewandowski et al. (1991) também obtiveram sucesso trabalhando com videira Delaware, onde mais de 95% dos explantes enraizados *in vitro*, sobreviveram na etapa de aclimatização.

Já Alizadeh et al. (2010) obtiveram porcentagens um pouco mais baixas, entre 71 e 82%, na aclimatização dos porta-enxertos Dogridge, SO4, H-144 e 3309 C, utilizando um substrato composto de turfa, vermiculita e perlita. Guerrero et al. (2010) obtiveram médias de 80% de sobrevivência na aclimatização de plântulas do porta-enxerto Paulsen 1103 e 90% com o VR 04343, utilizando um substrato composto a base de casca de pinus. Reinhart (2013) obteve porcentagens de sobrevivência entre 76 e 96%, utilizando vermiculita como substrato para a aclimatização de híbridos de

videira, sendo que durante este período, as plântulas foram acondicionadas em câmara de nebulização.

No presente experimento, nos tratamentos que continham vermiculita na composição do substrato, as plântulas apresentaram 100% de sobrevivência e, os mesmos, também proporcionaram as maiores médias para as demais variáveis analisadas. A vermiculita é um substrato leve e, quando incorporada à composição de outros substratos, confere maior aeração, o que é importante para o fornecimento de oxigênio, favorecendo a emissão de raízes (HOFFMANN et al., 2001).

Para a variável altura da parte aérea, os substratos que proporcionaram melhores resultados foram HD+V, HD+FC, HD+H e V+H, não diferindo estatisticamente do substrato V+FC e do HD (HDecker[®]). O único tratamento que apresentou uma média abaixo dos demais foi com o substrato H+FC (Humosolo ES[®] + fibra de coco) com 2,03cm (Tabela 2). Dados semelhantes foram encontrados por Schuck et al. (2012), nos quais as médias de altura de parte aérea para a variedade Bordô, ficaram entre 4,4 a 5,7cm, sendo que a média mais alta foi obtida com o substrato Plantmax[®], não diferindo do substrato composto por Plantmax[®] e fibra de coco. No referido trabalho, a avaliação foi realizada aos 36 dias de aclimatização e, no presente estudo, aos 20 dias, sendo que se permanecessem por mais dias, provavelmente, as médias de altura seriam maiores. Bettoni et al. (2016) obtiveram médias entre 9,8 e 11,8cm com plântulas da variedade Bordô, sendo que a avaliação foi realizada aos 60 dias. Costa et al. (2008) observaram que plantas de bananeira que permaneceram mais tempo no meio de cultivo de enraizamento, apresentaram maior altura de parte aérea e diâmetro do pseudocaule, posteriormente, na etapa de aclimatização.

Quanto ao número de folhas, os substratos V+FC e HD+H foram os que proporcionaram melhores resultados, com médias de 4,38 e 4,25, respectivamente. No entanto, não diferiram dos tratamentos com HD, HD+V, V+H e HD+FC (Tabela 2). Schuck et al. (2012) obtiveram médias entre 3,2 e 4,1 para o número de folhas com a variedade Bordô, sendo que a média mais alta foi obtida com o substrato Plantmax[®], não diferindo dos demais tratamentos com combinações dos substratos Plantmax[®] e fibra de coco. Médias mais altas foram encontradas por Bettoni et al. (2016), na aclimatização de videira Bordô, onde o número de folhas ficou entre 6,3 e 6,9.

Para o número de raízes, os melhores resultados foram obtidos com os substratos V+FC, HD+H e HD+FC. Logo, os tratamentos V+H e HD+V tiveram médias semelhantes, não havendo diferenças estatísticas entre estes tratamentos e os anteriormente mencionados (Tabela 2). Schuck et al. (2012) obtiveram médias entre 3,4 a 4,9, sendo que o melhor resultado foi obtido com o substrato Plantmax[®]. Para Bettoni et al. (2016), as maiores médias para o número de raízes chegaram a 7,2 e 7,7, não diferindo significativamente, sendo que as plântulas receberam soluções salinas de meios de cultura e foram avaliadas após 60 dias de aclimatização, portanto, estes procedimentos por um tempo mais prolongado podem ter proporcionado melhor desenvolvimento do sistema radicular.

Quanto ao comprimento médio de raízes, a maior média foi alcançada com o substrato V+FC (6,10cm), que não diferiu estatisticamente da média do substrato V+H (5,50cm) (Tabela 2). Para Schuck et al. (2012), as médias ficaram entre 11,3 a 14,9cm, sendo que o melhor resultado foi obtido com o substrato Plantmax[®]. Dados semelhantes foram encontrados por Bettoni et al. (2016), que obtiveram médias entre 13,6 e 15,9cm. Vale ressaltar que nos trabalhos realizados pelos referidos autores, as avaliações foram realizadas aos 36 dias (SCHUCK et al., 2012) e 60 dias (BETTONI et al., 2016) de aclimatização, portanto, as mudas tiveram mais tempo para se desenvolver, em comparação com o presente trabalho, em que a avaliação foi realizada aos 20 dias.

Em relação à presença de raízes secundárias, os tratamentos com V+FC e V+H apresentaram a mesma porcentagem (88%). Estes, não diferiram do substrato HD+V, que apresentou média de 80% (Tabela 2). O desenvolvimento de raízes secundárias, além de contribuir para melhor fixação da plântula, aumenta a superfície de contato com o substrato, conseqüentemente, melhorando a absorção de água e de nutrientes.

A videira, assim como as demais culturas, quando propagadas *in vitro*, apresenta sensibilidade às condições do ambiente, como temperatura e umidade. No interior dos frascos de cultivo, a umidade relativa do ar é próxima a 100% e, quando ocorre a transferência para o ambiente *ex vitro*, as plantas enfrentam uma redução para níveis próximos a 70% ou menos. Por isso, para evitar a desidratação dos tecidos, recomenda-se a utilização recipientes plásticos individuais transparentes com tampa

durante o período inicial da aclimatização (RIBEIRO et al., 2012). No presente trabalho, as plântulas permaneceram em embalagens plásticas transparentes com tampa até a data de avaliação (20 dias), porém, não foram alocadas individualmente, mas sim, dez plântulas por recipiente. Mesmo assim, a utilização deste tipo de recipiente garantiu que as mesmas não sofressem efeitos de desidratação, permanecendo a umidade relativa do ar em torno de 80%.

Além disso, o uso de um túnel baixo com filme plástico e sombrite (50%) sobre a bancada onde se encontrava o material, também pode ter ajudado na manutenção da umidade neste microambiente de aclimatização. Wagner Júnior et al. (2012) sugerem que o uso do túnel plástico e sombrite sobre os recipientes possibilitou altas porcentagens de sobrevivência das plântulas, devido ao maior controle da umidade, durante a aclimatização de amoreira-preta 'Tupy`.

Para favorecer a sobrevivência e o desenvolvimento das plantas durante a aclimatização, alguns autores sugerem uma etapa de pré-tratamentos, que consiste na adoção de técnicas e condições que tornem o ambiente *in vitro* mais semelhante ao ambiente natural. Nestes pré-tratamentos, podem-se testar níveis de radiação, concentrações de sacarose e de CO₂, abertura dos frascos, entre outros (HOFFMANN et al., 2001; KOZAI; NGUYEN, 2003; SANTOS, 2007; MACHADO et al., 2010). O material utilizado neste experimento não passou por nenhum pré-tratamento antes da etapa de aclimatização, no entanto, acredita-se que isso não tenha interferido na sobrevivência das plântulas, visto que, em três dos sete tratamentos testados, obteve-se 100% de sobrevivência. A baixa porcentagem de sobrevivência em alguns dos tratamentos, como por exemplo, Humosolo ES[®] + fibra de coco (38%) e HDecker[®] (28%), provavelmente, deve-se aos próprios substratos que não ofereceram as condições adequadas para a sobrevivência e desenvolvimento das plântulas.

CONCLUSÃO

Dentre as composições testadas, os substratos que continham vermiculita na composição, foram os que proporcionaram os melhores resultados para aclimatização de plântulas micropropagadas de videira Chardonnay.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABAD, M.; NOGUERA, P.; PUCHADES, R.; MAQUIEIRA, A.; NOGUERA, V. Physico-chemical and chemical properties of some coconut coir dusts for use as a peat substitute for containerised ornamental plants. **Bioresource Technology**, v.82, n.3, p.241-245, 2002.
- AFREEN, F. Physiological and anatomical characteristics of *in vitro* photoautotrophic plants. In: KOZAI, T.; AFREEN, F.; ZOBAYED, S. M. A. **Photoautotrophic (sugar-free medium) micropropagation as a new propagation and transplant production system**. Dordrecht: Springer, 2004. p.59-87.
- ALIZADEH, M.; SINGH, S. K.; PATEL, V. B. Comparative performance of *in vitro* multiplication in four grape (*Vitis* spp.) rootstock genotypes. **International Journal of Plant Production**, Gorgan, v.4, n.1, p.41-50, 2012.
- BASTOS, L. P.; MOREIRA, M. J. S.; COSTA, M. A. P. C.; ROCHA, M. C.; HANSEN, D. S.; SILVA, S. A.; DANTAS, A. C. V. L.; SOUSA, C. S. Cultivo *in vitro* de Mangabeira (*Hancornia speciosa*). **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v.5, supl.2, p.1122-1124, 2007.
- BELLINTANI, M. C.; LIMA, C. C.; BRITO, A. L.; DE SANTANA, J. R. F.; DORNELLES, A. L. C. Efeito da ventilação *in vitro* na aclimatização de plantas micropropagadas de *Orthophytum mucugense* Wand e Conceição. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v.5, supl.2, p.1098-1100, 2007.
- BETTONI, J. C.; DALLA COSTA, M.; GARDIN, J. P. P.; KRETZSCHMAR, A. A.; SOUZA, J. A.; DOS PASSOS, J. F. M. Free culture media of growth regulators on micropropagation of grapevine (*Vitis labrusca* L.) ‘Bordô’ cultivar through nodal segments. **Evidência-Interdisciplinar**, Joaçaba, v.16, n.1, p.59-70, 2016.
- BIASI, L. A. Micropropagação de videiras. In: POMMER, C. V. **Uva: tecnologia de produção, pós-colheita e mercado**. Porto Alegre: Cinco Continentes. p.320-350, 2003.
- BIASI, L. A.; PASSOS, I. R. S.; POMMER, C. V. Micropropagação do porta-enxerto de videira Jales. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.33, n.10, p.1587-1594, 1998.
- BORGHEZAN, M.; MORAES, L. K. A.; MOREIRA, F. M.; SILVA, A. L. Propagação *in vitro* e avaliação de parâmetros morfofisiológicos de porta-enxertos de videira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.38, p.783-789, 2003.
- BRAGA, F. T.; PASQUAL, M.; CASTRO, E. M. D.; RAFAEL, G. C.; FAVERO, A. C.; VALENTE, T. C. T. Alterações morfofisiológicas de plantas de abacaxizeiro

influenciadas por diferentes substratos durante o processo de aclimatização. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.35, n.5, p.863-868, 2011.

COSTA, F. D. S.; PASQUAL, M., PEREIRA; J. E. S., RODRIGUES, F. A.; MIYATA, L. Y. Relação entre o tempo de enraizamento *in vitro* e o crescimento de plantas de bananeira na aclimatização. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.30, n.1, p.31-37, 2008.

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

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

FERMINO JÚNIOR, P. C. P.; RAPOSO, A.; SCHERWINSKI-PEREIRA, J. E. Enraizamento *ex vitro* e aclimatização de plantas micropropagadas de *Tectona grandis*. **Floresta**, Curitiba, v.41, n.1, p.79-86, 2011.

FRONZA, D.; HAMANN, J. J. **Viveiros e propagação de mudas**. Santa Maria: UFSM, Colégio Politécnico: Rede e-Tec Brasil, 2015, p.142.

GUERRERO, D. R.; MROGINSKI, L. A.; KRIVENKY, M. A.; DOMÍNGUEZ, M. C. Micropropagación de portainjertos de vid de interés para la provincia de Misiones. **Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias**, Chacras de Coria, v.42, n.2, p.143-159, 2010.

HAZARIKA, B. N. Acclimatization of tissue-cultured plants. **Current Science**, Bengaluru, v.85, n.12, p.1704-1712, 2003.

HOFFMANN, A.; PASQUAL, M.; CHALFUN, N. N. J.; VIEIRA, S. S. N. Substratos na indução e desenvolvimento *in vitro* de raízes em dois porta-enxertos de macieira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.36, n.11, p.1371-1379, 2001.

KOZAI, T.; NGUYEN, Q. T. Photoautotrophic micropropagation of woody and tropical plants. In: JAIN, S. M.; ISHII, K. (Eds.) **Micropropagation of woody trees and fruits**. Dordrecht: Kluwer Academic, 2003. p.757-781.

LEWANDOWSKI, V. T. Rooting and Acclimatization of Micropropagated *Vitis labrusca* 'Delaware'. **HortScience**, v.26, n.5, p.586-589, 1991.

MORAES, D. N.; PAIVA, P. D. de O.; SANTOS, D. N. dos; ALMEIDA, E. F. A.; PAIVA, R. Efeito de substratos para aclimatização de *Nedularium fulgens*. In: Congresso Brasileiro de Olericultura, 42; Congresso Brasileiro de Floricultura e Plantas Ornamentais, 15; Congresso de Cultura de Tecidos de Plantas, 2, 2005, Fortaleza. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.23, n.2, 2005. p.535.

MOREIRA, M. A.; CARVALHO, J. G.; CHRYSTIANE, B. F.; PASQUAL, M. Respostas à adubação NPK de mudas micropropagadas de abacaxizeiro cv. Pérola em fase de aclimatização. **Plant Cell Culture & Micropropagation**, Lavras, v.3, n.1, p.17-22, 2007.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A. A revised medium for rapid growth and bio assaya with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.15, p.473-479, 1962.

PEDROTTI, E. L.; VOLTOLINI, J. A. Enraizamento *ex vitro* e aclimatização do porta-enxerto de macieira M9. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.23, n.2, p.234-239, 2001.

PELIZZA, T. R.; MUNIZ, J.; CAMARGO, P.; KRETZSCHMAR, A. A.; RUFATO, L. Enraizamento *ex vitro* e aclimatização de plântulas micropropagadas de amoreira-preta 'Xavante'. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.35, n.1, p.329-332, 2013.

PEREIRA, G. A.; CORREA, L. S.; BOLIANI, A. C. Desinfestação e estabelecimento *in vitro* de explantes de bananeira 'Grande Naine' em diferentes concentrações de hipoclorito de sódio. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.esp., p.222-226, 2011.

REINHART, V. Multiplicação de matrizes de porta-enxertos híbridos de videira (*Vitis labrusca* x *Vitis rotundifolia*) por micropropagação. 2013. 127f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2013.

RIBEIRO, J.; de ARAUJO, F. P.; COELHO, A. D. S.; COELHO, M.; PINTO, M. **Micropropagação de Goiabeira, Maracujazeiro, Bananeira e Videira**. Petrolina: Embrapa Semiárido (Circular técnica Embrapa, 101), 2012. p.7.

ROCHA, E. L. J.; DE CARVALHO, A. C. P. P.; DE AZEVEDO, B. M.; MARINHO, A. B.; VIANA, T. D. A.; VASCONCELOS, D. V. Aclimatização de mudas micropropagadas de helicônia em ambiente protegido em função do tipo de substrato. **Revista Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.33, n.6, p.1457-1462, 2009.

SANTOS, R. P. Respostas morfofisiológicas de videiras cultivadas sob diferentes condições *in vitro*. 2007. 128f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa. 2007.

SCHUCK, M. R.; LIPSKI, B.; DA SILVA, A. L. L.; DE CARVALHO, D. C.; BIASI, L. A. Aclimatização de plantas micropropagadas de videira cv. Bordô (*Vitis*

labrusca L.) em diferentes substratos. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, Gurupi, v.3, n.4, p.206-212, 2012.

SOUZA, A.; DA SILVA, S. E. L.; DE SOUZA, M. G. **Produção de mudas frutíferas. Embrapa Amazônia Ocidental** - Circular Técnica (INFOTECA-E), 2002. Disponível em: <<http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/674021>>. Acesso em: 26 abril 2018.

TANNO, G. N.; BIASI, L. A. Aclimatização de videiras micropropagadas em frascos com e sem vedação e diferentes concentrações de sacarose. **Revista Acadêmica: Ciência Animal**, Curitiba, v.11, p.19-25, 2013.

VILLA, F.; PASQUAL, M.; PIO, L. A. S.; RIBEIRO, M. N. O.; ARAÚJO, A. G.; PEREIRA, A. R. Efeito de diferentes concentrações de nitrato de cálcio e cloreto de potássio na micropropagação de dois porta-enxertos de videira. **Revista Ceres**, Viçosa, v.54, n.314, p.20-25, 2007.

WAGNER JUNIOR, A.; FRANZON, R. C.; COUTO, M.; CONCEIÇÃO, P. C.; DE LUCES FORTES, G. R. Níveis de vermiculita em mistura de substrato na aclimatização de plantas de amoreira-preta 'Tupy'. **Current Agricultural Science and Technology**, Pelotas, v.18, n.2-4, p.188-195, 2012.

Tabela 1. Características físico-químicas dos substratos utilizados para aclimatização de plântulas de videira Chardonnay.

Características físico-químicas	HDecker[®]	Humosolo ES[®]	vermiculita	fibra de coco
Densidade seca (kg/m ³)	260	500	160	150
Capacidade de Retenção de Água – CRA (%)	60	45	50	150
Umidade máxima (%)	55	50	10	85
pH	5,8 ± 0,5	7,2 ± 0,5	6,5 ± 0,5	6,0 ± 0,3
Condutividade Elétrica (mS/cm)	0,7 ± 0,3	2,1 ± 0,3	0,03 ± 0,3	0,5 ± 0,3

Tabela 2. Porcentagem de sobrevivência (S), altura da parte aérea (APA), número de folhas (NF), número de raízes (NR), comprimento médio de raízes (CMR) e presença de raízes secundárias (RSec) de plântulas de videira Chardonnay em diferentes substratos durante para a aclimatização.*

Substrato	S (%)	APA (cm)	NF	NR	CMR (cm)	RSec (%)
V+FC	100 a	4,08 ab	4,38 a	2,90 a	6,10 a	88 a
V+H	100 a	4,60 a	3,40 ab	2,48 ab	5,50 ab	88 a
HD+V	100 a	4,85 a	3,23 ab	2,08 abc	4,00 bc	80 ab
HD+FC	65 b	4,80 a	3,80 ab	2,63 a	3,58 cd	50 bc
HD+H	50 bc	4,65 a	4,25 a	2,80 a	2,95 cde	40 c
H+FC	38 c	2,03 b	1,93 b	1,30 bc	2,20 de	20 cd
HD	28 c	2,63 ab	2,53 ab	1,13 c	1,70 e	8 d
p-valor	<0,0001	0,0052	0,0136	0,0002	<0,0001	<0,0001
CV (%)	15,75	27,91	28,21	24,15	20,91	25,36

*Médias seguidas pela mesma letra na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade. HD = HDecker[®]; HD+V = HDecker[®] + vermiculita; HD+FC = HDecker[®] + fibra de coco; HD+H = HDecker[®] + Humosolo ES[®]; V+H = vermiculita + Humosolo ES[®]; V+FC = vermiculita + fibra de coco; H+FC = Humosolo ES[®] + fibra de coco.

4.4 Artigo 4. Miniestaquia de videira Chardonnay e SO4

Artigo a ser submetido para à “Revista Brasileira de Fruticultura”

MINIESTAQUIA DE VIDEIRA CHARDONNAY E SO₄¹

DANIELE CAMARGO NASCIMENTO², ROSEANE MAIDANA MOREIRA³,
MAXIMILIANO DINI⁴, NORTON VICTOR SAMPAIO⁵, MÁRCIA WULFF
SCHUCH⁶

RESUMO – A miniestaquia vem ganhando espaço como uma das técnicas de propagação vegetativas mais utilizadas. É similar à estaquia convencional, no entanto, apresentando vantagens como: redução no espaço físico, maior qualidade e percentual de enraizamento e redução ou eliminação no uso de fitorreguladores. O objetivo deste trabalho foi avaliar o enraizamento de miniestacas herbáceas de videira Chardonnay e do porta-enxerto SO₄ sem o uso de ácido indolbutírico (AIB) e com diferentes concentrações. O delineamento experimental foi em blocos casualizados, com quatro níveis de concentrações de AIB (0, 500, 1000 e 1500mg L⁻¹) tanto para Chardonnay quanto para SO₄. As miniestacas permaneceram em bandejas contendo vermiculita e mantidas em câmara de microaspersão. Após 60 dias, foram avaliados a porcentagem de sobrevivência, de enraizamento e de formação de calo, número de raízes, comprimento das três maiores raízes, número e comprimento médio de brotações e número de folhas. Para Chardonnay, as concentrações de AIB tiveram efeito significativo apenas para a variável número de folhas, em que as maiores médias foram obtidas nos tratamentos que utilizavam o uso do regulador de crescimento. É possível promover o enraizamento de miniestacas herbáceas de videira Chardonnay e SO₄, mesmo sem o uso de AIB e, concentrações acima de 1500mg L⁻¹, foram prejudiciais para a sobrevivência e enraizamento das miniestacas.

¹ A pesquisa é parte integrante da tese de doutorado do primeiro autor.

^{2,3,4} Doutoranda (o) do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Universidade Federal de Pelotas (PPGA/UFPel), Pelotas, RS. E-mails: dcn.biologia@gmail.com; roseane_moreira@hotmail.com; maxidini@hotmail.com

⁵ Eng. Agr. Dr., Universidade Federal do Pampa (UNIPAMPA - Campus Dom Pedrito), Dom Pedrito, RS. E-mail: nortonsampaio@unipampa.edu.br

⁶ Eng. Agr. Dra., Departamento de Fitotecnia, Universidade Federal de Pelotas (UFPel), Pelotas, RS. E-mail: marciaws@ufpel.edu.br

Termos para indexação: *Vitis vinifera*, propagação vegetativa, estaquia, ácido indolbutírico.

MINICUTTING OF GRAPEVINE CHARDONNAY AND SO4

ABSTRACT – The minicutting has been gaining ground as one of the most widely used vegetative propagation techniques. It is similar to conventional cutting, however, presenting advantages such as: reduction in physical space, higher quality and percentage of rooting and reduction or elimination in the use of phytohormones. The objective of this work was to evaluate the rooting of herbaceous minicuttings of Chardonnay grapevine and rootstock SO4 without the use of indolebutyric acid (IBA) and with different concentrations. The experimental design was randomized blocks with four levels of IBA concentrations (0, 500, 1000 and 1500mg L⁻¹) for both Chardonnay and SO4. The minicuttings remained in trays containing vermiculite and kept in a micro sprinkler chamber. After 60 days, the survival, rooting and callus formation percentage, number of roots, length of the three largest roots, number and average length of shoots, and number of leaves were evaluated. For Chardonnay, IBA concentrations had a significant effect only on the number of leaves, where the highest averages were presented in the treatments that used the use of the growth regulator. It is possible to promote the rooting of herbaceous minicuttings of Chardonnay and SO4 grapevine, even without the use of IBA, and concentrations above 1500mg L⁻¹, were detrimental to the survival and rooting of minicuttings.

Index terms: *Vitis vinifera*, vegetative propagation, cuttings, indolebutyric acid.

INTRODUÇÃO

A técnica de propagação mais utilizada na produção de mudas de videira é a estaquia, sendo que, posteriormente, pode-se utilizar o plantio direto ou a enxertia. Após o surgimento da filoxera, no século XIX, houve uma mudança no processo de produção de mudas de videira e, atualmente, o processo mais utilizado, tanto para uvas de mesa quanto para viníferas, tem sido a estaquia para obtenção dos porta-enxertos,

com posterior enxertia da cultivar-copa para a obtenção da muda pronta (NACTHIGAL, 2003; PIRES; BIASI, 2003; BOTELHO; PIRES, 2009; FRONZA; HAMANN, 2015).

A miniestaquia é uma técnica similar à estaquia convencional, no entanto, apresenta variações na metodologia que otimizam o processo de produção de mudas. Consiste na multiplicação de brotações novas (miniestacas) de plantas propagadas por estaquia, no caso de minijardins clonais, ou a partir de plantas oriundas de sementes (ALTOÉ et al., 2011; HOSEL, 2016). Difere da microestaquia pelo fato de que esta utiliza a técnica de micropropagação para promover o rejuvenescimento do material propagativo *in vitro* (WENDLING et al., 2000; ALFENAS et al., 2004; FERRIANI et al., 2010).

Devido ao tamanho dos propágulos, que são menores que os utilizados na estaquia convencional, há uma redução no espaço físico utilizado para a produção de mudas. As miniestacas podem ser acondicionadas em recipientes coletivos (bandejas, caixas ou embalagens plásticas com tampa) ou individuais (tubetes) contendo substrato vermiculita, casca de arroz carbonizada, areia ou produtos específicos para esta finalidade (FERRIANI et al., 2010). No caso de se utilizar bandejas ou tubetes, estes, podem ser mantidos sob microaspersão para manter a umidade do material durante o enraizamento.

Também há uma grande diferença em relação ao espaço físico ocupado pelos jardins clonais. Enquanto os jardins clonais convencionais ficam instalados a campo e ocupam grandes áreas, os minijardins, destinados a miniestaquia, são estabelecidos em espaços menores, como viveiros ou casas de vegetação (ALFENAS et al., 2004; CARVALHO; SILVA, 2012).

O estabelecimento do minijardim clonal permite melhor controle nutricional e fitossanitário, maior eficiência no manejo das atividades, maior qualidade e percentual de enraizamento das miniestacas, ainda com a redução de reguladores vegetais para indução do enraizamento (HIGASHI et al., 2000; SILVA, 2001; XAVIER et al., 2003; TITON, 2003; ALFENAS et al., 2004; CARVALHO; SILVA, 2012; FERRIANI et al., 2010).

Esta técnica tem sido estudada para a propagação de diversas espécies frutíferas e/ou seus porta-enxertos, como o pessegueiro (*Prunus persica*) (TOMAZ, 2013; TOMAZ et al., 2014; TIMM et al., 2015), umezeiro (*Prunus mume*) (TIMM, 2016), marmeleiro (*Cydonia oblonga*) (NICKEL, 2013), oliveira (*Olea europaea*) (CAPPELLARO et al., 2011; CAPPELLARO, 2013; CASARIN, 2015), maracujazeiro amarelo (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*) (CARVALHO et al., 2007; RAASCH et al., 2013), mirtilheiro (*Vaccinium* spp.) (NASCIMENTO et al., 2011; FISCHER et al., 2013), algumas frutíferas nativas como pitangueira (*Eugenia uniflora*) (LATTUADA, 2010; CARVALHO et al., 2014; PEÑA, 2014), uvaieira (*Eugenia pyriformis*) (BORGES et al., 2013; TIMM et al., 2014), goiabeira (*Psidium guajava*) (ALTOÉ et al., 2011a; ALTOÉ; MARINHO, 2012) e araçazeiro (*Psidium cattleianum*) (ALTOÉ et al., 2011b).

Todavia, o sucesso no enraizamento em uma determinada espécie pode variar dependendo das condições fisiológicas, estado nutricional e idade da planta matriz, do tipo de estaca (lenhosa, semilenhosa ou herbácea), época do ano, potencial genético de enraizamento e balanço hormonal (FACHINELLO et al., 2005; HOSSEL, 2016).

Um dos métodos mais utilizados para favorecer o balanço hormonal e, conseqüentemente, favorecer o enraizamento, é a aplicação exógena de reguladores de crescimento, tais como o AIB, o ANA e o AIA (FACHINELLO et al., 2005; NICKEL, 2013).

Dentre as auxinas, o AIB (ácido indolbutírico) é o regulador de crescimento mais utilizado, por se tratar de uma substância fotoestável, de ação local e menos sensível à degradação biológica, em comparação com as demais auxinas sintéticas (FACHINELLO et al., 1995). No entanto, a quantidade de AIB aplicada na base das estacas, para propiciar estímulo da iniciação radicular, varia entre as espécies, sendo que, em altas concentrações, pode ocorrer um efeito fitotóxico ou inibitório, desfavorecendo o enraizamento (PIO et al., 2002; NICKEL, 2013).

Diante do exposto, considerando a importância da cultura da videira e a carência de estudos em relação a aplicação de técnicas de propagação como a miniestaquia, justifica-se a realização de pesquisas que visam promover avanços na propagação vegetativa e obtenção de mudas de videira.

O objetivo deste trabalho foi avaliar o enraizamento de miniestacas herbáceas de videira Chardonnay e do porta-enxerto SO4 sem o uso de AIB e com diferentes concentrações.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado no viveiro de mudas da Universidade Federal do Pampa, Campus Dom Pedrito, RS, iniciado em outubro de 2016.

O delineamento experimental utilizado foi em blocos casualizados, com quatro níveis de concentrações de AIB (0, 500, 1000 e 1500mg L⁻¹), contendo quatro repetições composta por quinze miniestacas, constituindo quatro tratamentos para cada uma das variedades, Chardonnay e o porta-enxerto SO4.

O material vegetal foi coletado de plantas de um vinhedo localizado a 15km do município de Dom Pedrito (31°01'13" S, 54°36'13" O). Os ramos herbáceos foram coletados, envolvidos em papel umedecido com água e levados até o viveiro. As miniestacas foram padronizadas contendo duas gemas e duas meias folhas, com 5 a 8cm de comprimento.

Nos tratamentos com uso de AIB, a base das miniestacas foi imersa por 10 segundos em solução de AIB, com as respectivas concentrações. Para o preparo da solução, o AIB em pó foi dissolvido em solução com 10% de álcool etílico e, o restante do volume, completado com água destilada. Logo, o material foi transplantado para bandejas de isopor (72 células) contendo vermiculita como substrato. As bandejas foram acondicionadas em uma câmara de microaspersão localizada no interior do viveiro de mudas.

Para a montagem da câmara de microaspersão, foi utilizada uma bancada de cultivo, constituída de madeira, de 3m de comprimento, 0,60m de largura 0,80m de altura, forrada com lona plástica preta (80 micras) na base da bancada e uma cobertura de plástico filme transparente (150 micras). A bancada foi colocada sobre cavaletes de madeira de 0,80m de altura. Por meio de um conjunto moto bomba de 1/2 HP, fixado ao tanque de armazenamento, a água era impulsionada para um tubo de PVC 25mm (3/4) até os microaspersores, onde a vazão foi controlada por um registro esfera 25mm (3/4) e adaptado um retorno ao tanque de armazenamento para o excesso de vazão. O

sistema de microaspersão foi programado usando um temporizador, com intervalos de tempo pré-estabelecidos. A microaspersão tinha duração de 5 minutos e a frequência foi entre 2 a 4 vezes ao dia, sendo adequada conforme a absorção de água pelas miniestacas e de acordo com a temperatura ambiente.

Durante o período do experimento as temperaturas mínimas médias foram de 13°C e as temperaturas máximas médias 26°C, sendo que a mínima registrada foi de 7°C e a máxima 32°C e, a umidade do ar, ficou em torno de 59%.

Após 60 dias, foram avaliados a porcentagem de sobrevivência, de enraizamento e de formação de calo, número de raízes, comprimento das três maiores raízes, número e comprimento médio de brotações.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e, quando significativa, as médias dos tratamentos comparadas estatisticamente pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade. Para as análises estatísticas, os dados expressos em porcentagem foram transformados em arco-seno $\sqrt{x/100}$, para atender os pressupostos de homogeneidade e normalidade da variância.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para a variedade Chardonnay, a análise de variância não foi significativa em nenhuma das variáveis analisadas. As porcentagens de sobrevivência e de enraizamento foram de 96% em todos os tratamentos. Todas as miniestacas sobreviventes enraizaram, independente do uso e da concentração de AIB utilizada. Portanto, para a variedade Chardonnay, mesmo sem o uso de auxinas, foi possível promover o enraizamento das miniestacas, nas condições em que foi desenvolvido o experimento. Quanto ao número de raízes, as médias ficaram entre 7,73 a 8,33 e, o comprimento das três maiores raízes, foi entre 12,88 a 15,55cm (Tabela1).

Para o porta-enxerto SO4, a porcentagem de sobrevivência ficou entre 67 a 77% nos tratamentos com 0, 500 e 1000mg L⁻¹ de AIB, não diferindo estatisticamente entre si, mas diferindo do tratamento com 1500mg L⁻¹ de AIB no qual a média foi de 43% (Figura 1). Apesar da porcentagem de sobrevivência das miniestacas do porta-enxerto SO4 ter sido abaixo das da variedade Chardonnay, as miniestacas sobreviventes apresentaram bom enraizamento.

Quanto à porcentagem de enraizamento, as médias foram de 67 a 75% nos tratamentos com 0, 500 e 1000mg L⁻¹ de AIB, não diferindo estatisticamente entre si, mas diferindo do tratamento com 1500mg L⁻¹ de AIB que obteve média de 33% (Figura 1). Com esses resultados, observa-se que a concentração de 1500mg L⁻¹ de AIB prejudicou a sobrevivência e o enraizamento do porta-enxerto SO4.

A porcentagem de formação de calo ficou entre 35 a 38% nos tratamentos com 0, 500 e 1000mg L⁻¹ de AIB, não diferindo estatisticamente entre si, mas diferindo do tratamento com 1500mg L⁻¹ de AIB no qual a média foi de 13% (Figura 1).

Para o número de raízes, a média mais alta foi no tratamento sem o uso de AIB (3,58), logo, nos demais tratamentos com o uso de AIB, obtiveram médias entre 1,63 a 2,15, não diferindo estatisticamente entre si (Tabela 1).

Quanto ao comprimento das três maiores raízes, a média mais alta também foi no tratamento sem o uso de AIB (7,73), no entanto, não diferiu estatisticamente dos tratamentos com 500 e 1000mg L⁻¹ de AIB (6,55 e 6,63, respectivamente). Com o tratamento com 1500mg L⁻¹ de AIB obteve-se a menor média (5,10) (Tabela 1).

Em relação ao número e comprimento médio de brotações não houveram diferenças significativas entre os tratamentos, sendo que as médias foram de 0,25 a 0,53 e 0,50 a 0,68cm (Tabela 1).

De acordo com Biasi et al. (1997), não foram observadas diferenças significativas entre as concentrações de AIB testadas (0, 500, 1000 e 2000mg L⁻¹) no enraizamento de estacas semilenhosas de cinco porta-enxertos (Jales - IAC 572, Riparia do Traviú, Campinas - IAC 766, Kobber 5BB e Tropical - IAC 313), onde as médias de enraizamento ficaram entre 75 a 100%. Com isso, os autores afirmam que o uso de auxinas não é necessário para estimular o enraizamento.

Botelho et al. (2005) obtiveram uma média de 92% de enraizamento em estacas herbáceas do porta-enxerto VR 43-43, sem tratamento com reguladores de crescimento. Já a maior média para o número de raízes (26,2) foi obtida com a combinação de PBZ 100mg L⁻¹ + AIB 1000mg L⁻¹.

Em outro trabalho com o enraizamento de estacas herbáceas do porta-enxerto VR 43-43, Lone et al. (2010) verificaram que as maiores porcentagens de

sobrevivência e de enraizamento foram obtidas sem o uso de reguladores (66% e 41%) e com aplicação de 1000mg L^{-1} de AIB (56% e 39%).

Já Faria et al. (2007), testando concentrações de AIB e tipo de estaca do porta-enxerto Jales, verificaram que o AIB influenciou positivamente no enraizamento das estacas com folhas, tendo em vista que nas estacas sem uso de AIB o enraizamento foi de 69% e nas estacas tratadas com AIB nas concentrações de 1500 e 2000mg L^{-1} o enraizamento foi de 97%. No mesmo trabalho, verificou-se que o melhor resultado para o comprimento de raízes (14,3cm) também foi obtido com a concentração de 2000mg L^{-1} de AIB.

Roberto et al. (2006) testaram tipos de estacas herbáceas com os porta-enxertos Campinas e Jales, obtivendo médias de 77% e 81% de enraizamento, respectivamente. Segundo os autores, o preparo das estacas no enraizamento tem grande importância no processo de produção de mudas. Os mesmos concluem que a manutenção de folhas durante a multiplicação de estacas herbáceas é fundamental para a formação de raízes. No presente trabalho, utilizou-se miniestacas herbáceas com duas meias folhas. Este padrão de miniestaca, utilizando-se uma ou duas meias folhas, já vem sendo utilizado com sucesso em outras frutíferas como pessegueiro (*Prunus persica*) (TOMAZ, 2013; TIMM et al., 2015), umezeiro (*Prunus mume*) (TIMM, 2016), marmeleiro (*Cydonia oblonga*) (NICKEL, 2013), oliveira (*Olea europaea*) (CAPPELLARO, 2013; CASARIN, 2015) e mirtilheiro (*Vaccinium* spp.) (NASCIMENTO et al., 2011; FISCHER et al., 2013).

A utilização de auxinas sintéticas, dependendo da concentração, pode inibir ou estimular o crescimento e a diferenciação dos tecidos, existindo um nível ótimo para estas respostas fisiológicas, dependendo diretamente dos níveis das auxinas endógenas (ZUFFELLATO-RIBAS; RODRIGUES, 2001; RAMOS et al., 2003; MACHADO et al., 2005). Estacas herbáceas coletadas durante o verão, em que os ramos estão em pleno crescimento e apresentam maiores concentrações de auxinas em relação àquelas estacas semilenhosas e lenhosas que são retiradas no outono e inverno (ZUFFELLATO-RIBAS; RODRIGUES, 2001).

CONCLUSÃO

Não é necessário o uso do AIB para promover o enraizamento de miniestacas herbáceas de videira da variedade Chardonnay e do porta-enxerto SO4.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALFENAS, A. C.; ZAUZA, E. A. V.; MAFIA, R. G.; ASSIS, T. F. de. **Clonagem e doenças do eucalipto**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2004. p.442.

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.; CARVALHO, A. J. C. Multiplicação de cultivares de goiabeira por miniestaquia. **Bragantia**, Campinas, v.70, n.4, p 801-809, 2011a.

ALTOÉ, J. A.; MARINHO, C. S.; TERRA, M. I. C; BARROSO, D. G. Propagação de araçazeiro e goiabeira via miniestaquia de material juvenil. **Bragantia**, Campinas, v.70, n.2, p.312-318, 2011b.

BIASI, L. A.; POMMER, C. V.; PINO, P. A. G. S. Propagação de porta-enxertos de videira mediante estaquia semilenhosa. **Bragantia**, Campinas, v.56, n.2, p.367-376, 1997.

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.

BOTELHO, R. V.; MAIA, A. J.; PIRES, E. J. P.; TERRA, M. M.; SCHUCK, E. Efeitos de reguladores vegetais na propagação vegetativa do porta-enxerto de videira ‘43-43’ (*Vitis vinifera* x *V. rotundifolia*). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.27, n.1, p.6-8, 2005.

BOTELHO, R. V.; PIRES, E. J. P. Viticultura como opção de desenvolvimento para os Campos Gerais. In: ENCONTRO DE FRUTICULTURA DOS CAMPOS GERAIS, 2, 2009, Ponta Grossa. **Anais...** Ponta Grossa: Universidade Estadual de Ponta Grossa, 2009. p.1-16.

CAPPELLARO, T. H. Produção de mudas de oliveira em sistemas de cultivo sem solo. 2013. 105f. Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Universidade Federal de Pelotas, 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...**, 2011. p.117.

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...**, 2014. p.89.

CARVALHO, J. M. F. C.; SILVA, M. M. A. **Plantas Matrizes na propagação vegetativa**. Documentos, 242. Campina Grande: Embrapa Algodão, 2012. p.36.

CARVALHO, R. I. N.; SILVA, I. D.; FAQUIM, R. Enraizamento de miniestacas herbáceas de maracujazeiro amarelo. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, 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.

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

FACHINELLO, J. C.; HOFFMANN, A.; NACHTIGAL, J. C.; KERSTEN, E.; FORTES, G. R. de L. **Propagação de plantas frutíferas de clima temperado**. Pelotas: UFPEL, 1995. p.179.

FARIA, A. P.; ROBERTO, S. R.; SATO, A. J.; RODRIGUES, E. B.; SILVA, J. V.; SACHS, P. J. D.; CAMOLESI, M. R.; UNEMOTO, L. K. Enraizamento de estacas semilenhosas do porta-enxerto de videira ‘IAC 572-Jales’ tratadas com diferentes concentrações de ácido indolbutírico. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v.28, p.393-398, 2007.

FERRIANI, A. P.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C.; WENDLING, I. Miniestaquia aplicada a espécies florestais. **Revista Agro@mbiente On-line**, v.4, n.2, p.102-109, 2010.

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

FRONZA, D.; HAMANN, J. J. **Viveiros e propagação de mudas**. Santa Maria: UFSM, Colégio Politécnico: Rede e-Tec Brasil, 2015, p.142.

HIGASHI, E. N.; SILVEIRA, R. L. V. A.; GONÇALVES, A. N. Propagação vegetativa de *Eucalyptus*: princípios básicos e a sua evolução no Brasil. **Circular técnica IPEF**, Piracicaba, v.192, p.1-11, 2000.

HOSSEL, C.. Enraizamento de mini-estacas de jaboticabeiras, pitangueira, araçazeiro amarelo e sete capoteiro. 2016. 133f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Pato Branco, 2016.

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

LONE A. B.; LÓPEZ E. L.; ROVARIS S. R. S.; KLESENER D.F.; HIGASHIBARA L.; ATAÍDE L. T.; ROBERTO S. R. Efeito do AIB no enraizamento de estacas herbáceas do porta-enxerto de videira VR 43-43 em diferentes substratos. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v.31, n.3, p.599-604, 2010.

MACHADO, M. P.; MAYER, J. L. S.; RITTER, M.; BIASI, L. A. Ácido indolbutírico no enraizamento de estacas semilenhosas do porta-enxerto de videira 'VR 043-43' (*Vitis vinifera x Vitis rotundifolia*). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.27, n.3, p.476-479, 2005.

NACHTIGAL, J. C. **Produção de mudas de videiras em Regiões Tropicais e Subtropicais**. Circular Técnica, 46. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2003. p.23.

NASCIMENTO, D. C.; SCHUCH, M. W.; PEIL, R. M. N. Enraizamento de microestacas de mirtilheiro provenientes de microjardim clonal semi-hidropônico. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.33, n.4, p.1251-1256, 2011.

NICKEL, G. K. Enraizamento de miniestacas de marmeleiro. 2013. 70f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2013.

PEÑA, M. L. P. Propagação vegetativa de pitangueira (*Eugenia uniflora* L.) por estaquia e miniestaquia. 2014. 90f. Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2014.

PIO, R. Ácido indolbutírico e sacarose no enraizamento de estacas apicais e desenvolvimento inicial da figueira (*Ficus carica* L.). 109 p. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-graduação em Agronomia, Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2002.

PIRES, E. J. P.; BIASI, L. A. Propagação da videira. In: POMMER, C. V. (Ed.). **Uva: tecnologia de produção, pós-colheita, mercado**. Porto Alegre: Cinco Continentes, 2003. p.295-350.

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. Pelotas. **Resumos...**, 2013.

RAMOS, J. D.; MATOS, L. E. S.; GONTIJO, T. C. A.; PIO, R.; JUNQUEIRA, K. P.; SANTOS, F. C. Enraizamento de estacas herbáceas de 'Mirabolano' (*Prunus cerasifera* Ehrn) em diferentes substratos e concentrações de ácido indolbutírico. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.25, n.1, p.189-191, 2003.

ROBERTO, S. R.; ZIETEMANN, C.; COLOMBO, L. A.; ASSIS, A. M.; SANTOS, C. E.; AGUIAR, R. S.; MORAES, V. J. Enraizamento de estacas herbáceas dos porta-enxertos IAC 572 'Jales' e IAC 766 'Campinas' em câmara de nebulização. **Acta Scientiarum. Agronomy**, Maringá, v.28, n.4, p.479-482, 2006.

SILVA, L. F. Propagação vegetativa do eucalipto: experiência da International Paper do Brasil. **IPEF Notícias**, Piracicaba, v.25, n.156, p.4-5, 2001.

TIMM, C. R. F. Enraizamento, dinâmica e protocolo de propagação de *Prunus*. 2016. 82f. Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2016.

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. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v.36, n.1, p.135-140, 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; 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.

TOMAZ, Z. F. P. Clonagem de porta-enxertos e produção de mudas de pessegueiro em sistemas de cultivo sem solo. 2013. 159f. Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Agronomia, 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, v.36, n.4, p.988-995, 2014.

WENDLING, I.; XAVIER, A.; GOMES, J. M.; PIRES, I. E.; ANDRADE, H. B. Efeito do regulador de crescimento AIB na propagação de clones de *Eucalyptus* spp. por miniestaquia. **Revista Árvore**, Viçosa, v.24, n.2, p.187-192, 2000.

XAVIER, A.; SANTOS, G. A.; WENDLING, I.; OLIVEIRA, M. L. Propagação vegetativa de cedro-rosa por miniestaquia. **Revista Árvore**, Viçosa, v.27, n.2, p.139-143, 2003.

ZUFFELLATO-RIBAS, K. C.; RODRIGUES, J. D. **Estaquia: uma abordagem dos principais aspectos fisiológicos**. Curitiba: UFPR, 2001. p.39.

Tabela 1. Número de raízes (NR), comprimento das três maiores raízes (C3MR), número de brotações (NB), comprimento médio de brotações (CMB) e número de folhas (NF) de miniestacas de videira Chardonnay e SO4 sob diferentes concentrações de AIB para o enraizamento.*

Chardonnay				
AIB (mg L⁻¹)	NR	C3MR (cm)	NB	CMB (cm)
0	8,33 ^{ns}	12,88 ^{ns}	0,90 ^{ns}	1,28 ^{ns}
500	8,28	14,55	1,13	1,30
1000	8,13	15,40	1,13	1,50
1500	7,73	15,55	1,18	1,50
p-valor	0,9986	0,7019	0,1448	0,5950
CV (%)	22,63	20,12	17,04	18,22
SO4				
AIB (mg L⁻¹)	NR	C3MR (cm)	NB	CMB (cm)
0	3,58 a	7,73 a	0,53 ^{ns}	0,50 ^{ns}
500	2,15 b	6,55 ab	0,45	0,50
1000	2,23 b	6,63 ab	0,65	0,68
1500	1,63 b	5,10 b	0,25	0,38
p-valor	0,0065	0,0073	0,1694	0,0134
CV (%)	19,75	15,00	59,95	40,75

*Médias seguidas pela mesma letra na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade; ns = não significativo pelo teste F, ao nível de 5% de probabilidade.

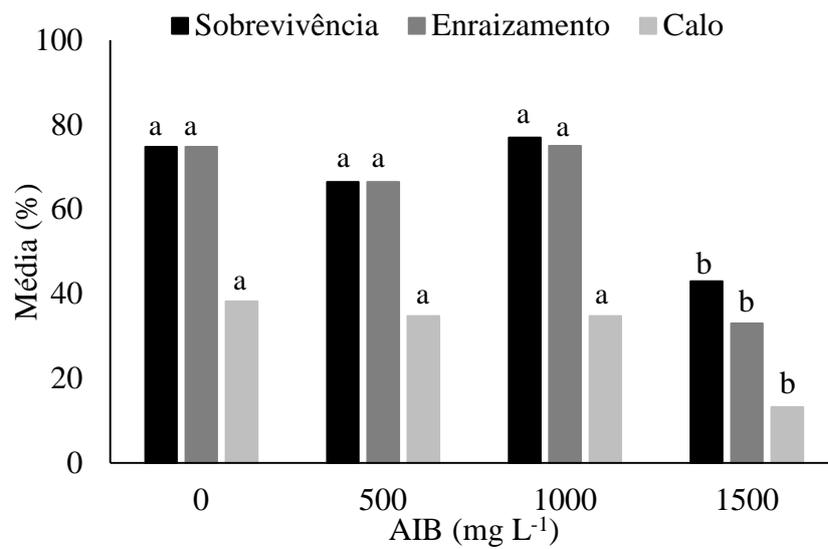


Figura 1. Porcentagens de sobrevivência, de enraizamento e de formação de calo de miniestacas do porta-enxerto de videira SO4, sob tratamentos de AIB. Colunas com a mesma letra, não diferem entre si pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

4.5 Artigo 5. Micro e minijardim clonal de videira em sistema de cultivo convencional e cultivo sem solo

Artigo a ser submetido para à “Revista Brasileira de Fruticultura”

MICRO E MINIJARDIM CLONAL DE VIDEIRA EM SISTEMA DE CULTIVO CONVENCIONAL E CULTIVO SEM SOLO¹

DANIELE CAMARGO NASCIMENTO², MAXIMILIANO DINI³, ROSEANE MAIDANA MOREIRA⁴, JANSEN MOREIRA SILVEIRA⁵, ROBERTA MARINS NOGUEIRA PEIL⁶, MÁRCIA WULFF SCHUCH⁷

RESUMO – O uso de técnicas como a micropropagação e miniestaquia juntamente com o sistema de cultivo sem solo são ferramentas promissoras para a melhoria na qualidade de produção de mudas. O objetivo deste trabalho foi avaliar o desenvolvimento de matrizes de um microjardim e minijardim clonal de videira Chardonnay em sistema de cultivo convencional e cultivo sem solo. Mudas produzidas pelas técnicas de micropropagação e miniestaquia foram mantidas em sistema de cultivo convencional, onde permaneceram em sacos de polietileno contendo substrato comercial e irrigadas com solução nutritiva a cada 15 dias. No sistema de cultivo sem solo, as mudas permaneceram em floreiras plásticas contendo areia e irrigadas com solução nutritiva diariamente. Foram avaliadas altura da parte aérea, número e comprimento médio das brotações, índices de clorofila, rendimento em micro e miniestacas, diâmetro e incremento do diâmetro de colo, massa de matéria fresca e seca da parte aérea e radicular, e análise nutricional das folhas. O tipo de muda não teve efeito significativo na maioria das avaliações e nas principais variáveis analisadas. A partir dos 60 dias, o número e o comprimento médio de brotações apresentaram melhores resultados no sistema de cultivo sem solo. Tanto mudas micropropagadas, quanto mudas obtidas por miniestaquia podem ser utilizadas para a formação de

¹ A pesquisa é parte integrante da tese de doutorado do primeiro autor.

^{2,3,4} Doutoranda (o) do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Universidade Federal de Pelotas (PPGA/UFPel), Pelotas, RS. E-mails: dcn.biologia@gmail.com; roseane_moreira@hotmail.com; maxidini@hotmail.com

⁵ Doutorando do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Pelotas (PPGCTA/UFPel), Pelotas, RS. E-mail: jansenmsilveira@gmail.com

^{6,7} Eng. Agr. Dra., Departamento de Fitotecnia, Universidade Federal de Pelotas (UFPel), Pelotas, RS. E-mails: rmnpeil@gmail.com; marciaws@ufpel.edu.br

jardins clonais de videira Chardonnay. O sistema de cultivo sem solo mostrou-se eficiente para o desenvolvimento de mudas de videira Chardonnay.

Termos para indexação: *Vitis vinifera*, propagação vegetativa, produção de mudas, solução nutritiva.

GRAPEVINE CLONAL MICRO AND MINIGARDEN IN CONVENTIONAL AND SOILLESS CULTIVATION SYSTEM

ABSTRACT - The use of techniques such as micropropagation and minicutting along with the soilless cultivation system are promising tools for improving plantlets quality. The objective of this work was to evaluate the development of a micro and minigarden clonal of Chardonnay grapevine in conventional and soilless cultivation system. Plantlets produced by micropropagation and minicutting techniques were maintained in a conventional cultivation system, where they remained in polyethylene bags containing commercial substrate and irrigated with nutritive solution every 15 days. In the soilless cultivation system, where they remained in plastic flowerpots containing sand and irrigated with nutritive solution daily. The shoot height, number and average length of shoots, chlorophyll index, micro and minicutting yield, diameter and increment of lap diameter, fresh and dry mass of shoot and root, and leaf nutritional analysis were evaluated. The type of plants had no significant effect on most of the evaluations and on the main variables analyzed. From the 60 days, the number and the average length of shoots presented better results in the system of cultivation soilless. Both micropropagated plants and obtained by minicutting can be used to form clonal gardens of Chardonnay grapevine. The soilless cultivation system proved to be efficient for the development of Chardonnay grapevine plants.

Index terms: *Vitis vinifera*, vegetative propagation, plant production, nutritive solution.

INTRODUÇÃO

A vitivinicultura é uma atividade de inquestionável importância para o desenvolvimento econômico, social e cultural de diversas regiões no mundo. Diversos fatores podem influenciar no desenvolvimento de uma vitivinicultura rentável, entre

eles, a implantação de um vinhedo com mudas de boa qualidade (LEÃO, 2003; KUHN et al., 2007; MELLO, 2009).

A propagação da videira, prevalentemente, é feita por estaquia para obtenção do porta-enxerto, com posterior enxertia da cultivar-copa para a obtenção da muda pronta. Em alguns casos, pode-se utilizar o plantio direto da muda, conhecida como “pé-franco”, geralmente empregado no plantio de variedades americanas e híbridas (NACTHIGAL, 2003; KUHN, 2007; FRONZA; HAMANN, 2015). Esta forma de propagação, a partir de métodos clássicos de enxertia e em escala comercial teve origem a mais de 130 anos. No decorrer dos anos, com a expansão da cultura, surgiu a necessidade de aumentar a escala de produção de mudas e que as mesmas apresentassem um padrão de qualidade superior (GROHS et al., 2017).

A busca por inovações e técnicas para a produção de mudas de qualidade em menor tempo e espaço físico aliado à qualidade dos produtos obtidos, despertam o interesse dos produtores e justificam o estudo e o emprego de novas tecnologias no sistema produtivo (REZENDE; PEREIRA, 2001; ROBERTO et al., 2006). Atualmente, o segmento viveirista mundial está revendo o processo de propagação de mudas no sentido de desenvolver estratégias para a redução de incidência de novas pragas e mínimo dano à muda ao longo das etapas da produção (GROHS et al., 2017).

A micropropagação é uma técnica de considerável importância para a viticultura, pois possibilita a propagação vegetativa em larga escala, viabilizando a implantação e ampliação da cultura com mudas de qualidade (DZAZIO et al., 2002; COLETTI et al., 2008). Esta técnica é uma alternativa para o saneamento de materiais com viroses, além de ser uma importante ferramenta para programas de melhoramento genético.

A partir de plantas micropropagadas há a possibilidade da formação de um jardim clonal, que constitui em um matrizeiro destinado ao fornecimento de material propagativo para a formação de novas mudas. A manutenção de jardins clonais em ambiente protegido possibilita a coleta de material propagativo praticamente durante todo o ano, além de facilitar o controle nutricional e sanitário das plantas (OLIVEIRA et al., 2010; CARVALHO; SILVA, 2012). A partir destas matrizes, podem ser retirados explantes para o cultivo *in vitro*, ramos para propagação mediante técnicas

convencionais de propagação vegetativa, como estaquia e enxertia (CARVALHO; SILVA, 2012), ou ainda para técnicas alternativas com maior aproveitamento do material, como a microestaquia.

Um fator que pode ser limitante para a utilização da microestaquia é o fato de que as mudas necessitam serem rejuvenescidas por meio da micropropagação, dependendo da existência de laboratórios de cultura de tecidos vegetais, o que pode aumentar os custos de produção de mudas (DUTRA et al., 2009; CARVALHO; SILVA, 2012).

A miniestaquia se torna uma alternativa interessante, pois constitui uma técnica inovadora em relação à estaquia convencional, menos onerosa que a microestaquia e que, em determinadas espécies, tem apresentado bons resultados como aumento de produtividade, uniformidade e porcentagem de enraizamento (TITON et al., 2003; TIMM et al., 2015). A miniestaquia difere da microestaquia, basicamente, quanto à origem do material propagativo. Enquanto na microestaquia as microcepas advêm da micropropagação, na miniestaquia, as minicepas iniciais são formadas a partir de mudas propagadas pela estaquia convencional, no qual o enraizamento sucessivo de brotações de estacas enraizadas promove o rejuvenescimento do material (XAVIER; SILVA, 2010; ASSIS, 2011).

O desenvolvimento dessas técnicas promoveu uma evolução nos sistemas de produção de mudas, cujos jardins clonais que antes eram mantidos apenas a campo, passaram a ser mantidos em ambiente protegido, com melhor controle de pragas e doenças e possibilidade do uso do cultivo sem solo. Com a utilização dos sistemas de cultivo sem solo, há maior eficiência na utilização da água e fertilizantes, eliminação das doenças causadas por patógenos de solo, diminuição de problemas relativos à sazonalidade, possibilitando aumentos significativos de produção de material propagativo (SILVA, 2001; TITON, 2003; AFFONSO, 2014).

O uso de sistemas de cultivo sem solo, combinado com propagação vegetativa, tem sido estudado em espécies frutíferas com grande potencial para obter maior quantidade de material propagativo, sem perder na qualidade das mudas obtidas (SCHUCH; PEIL, 2012; TOMAZ, 2013).

A eficiência de cada uma destas técnicas de propagação vegetativa aliada às vantagens do cultivo sem solo na formação de jardins clonais, pode trazer grandes avanços e otimização da técnica de produção de mudas de videira, melhorando a qualidade das mudas e, em longo prazo, os custos de produção.

O objetivo deste trabalho foi avaliar o desenvolvimento de matrizes de um microjardim e minijardim clonal de videira Chardonnay em sistema de cultivo convencional e cultivo sem solo.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado no viveiro de mudas pertencente à Universidade Federal do Pampa - Campus Dom Pedrito, RS, durante os meses de dezembro de 2016 a abril de 2017. O viveiro de mudas é construído em tela sombrite de sombreamento 50%, com dimensões de 16 x 32 x 3,5m.

O delineamento experimental utilizado foi em blocos ao acaso, organizado em esquema fatorial 2 x 2, sendo dois níveis para o fator tipo de muda (muda produzida por micropropagação e muda produzida por miniestaquia) e dois níveis para o fator sistema de cultivo (cultivo convencional e cultivo sem solo), totalizando quatro tratamentos com quatro repetições, cada repetição constituída por doze mudas.

Foram utilizadas mudas de videira Chardonnay obtidas pelas técnicas de micropropagação e de miniestaquia, propagadas a partir de material adquirido de plantas de um vinhedo localizado a 15km do município de Dom Pedrito (31°01'13" S, 54°36'13" O).

Para a formação das mudas micropropagadas, explantes (meristemas) de videira foram propagados e enraizados *in vitro*, em meio de cultura MS/2 (Murashige; Skoog, 1962, com a metade da concentração de sais), em condições controladas de sala de crescimento com temperatura de $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ e fotoperíodo de 16 horas. Logo, as plântulas foram aclimatizadas em embalagens plásticas transparentes com tampa articulada (10 x 13 x 20cm) contendo substrato composto de HDecker[®] + vermiculita (1:1), acondicionadas no viveiro de mudas. Após aclimatização, as mudas foram transplantadas para os recipientes (saquinhos e floreiras), nos respectivos sistemas de cultivo, convencional e cultivo sem solo. Quando transplantadas, as mudas possuíam

60 dias (desde que foram colocadas para aclimatizar) e continham de 5 a 7cm de altura de parte aérea, em haste única (sem brotações laterais).

Para a formação das mudas obtidas por miniestaquia, foram utilizadas miniestacas herbáceas de videira, padronizadas contendo duas gemas e duas meias folhas, com 5 a 8cm de comprimento. A base das miniestacas foi imersa por 10 segundos em solução de AIB (ácido indolbutírico) na concentração de 1000mg L^{-1} . Em seguida, foram acondicionadas em bandejas de isopor (72 células) contendo vermiculita de granulometria média e mantidas em câmara de microaspersão. A microaspersão foi programada através de um temporizador, com duração de 5 minutos, três vezes ao dia (a cada 8 horas). Após o enraizamento, as miniestacas enraizadas foram transplantadas para os recipientes (saquinhos e floreiras), nos respectivos sistemas de cultivo, convencional e cultivo sem solo. Quando transplantadas, as mudas possuíam 60 dias (desde que foram colocadas para enraizar) e continham de 6 a 8cm de parte aérea, em haste única.

No sistema de cultivo convencional, as mudas foram mantidas em sacos de polietileno (12 x 25cm) contendo substrato composto de HDecker[®] e vermiculita de granulometria média (1:1) para o crescimento das mesmas. Foi colocada uma muda para cada recipiente, com espaçamento de 0,10 x 0,10m entre centro a centro dos mesmos. Neste sistema foram fornecidos 100mL de solução nutritiva, em cada recipiente, a cada 15 dias. Nos demais dias a irrigação foi realizada com água da chuva.

No sistema de cultivo sem solo, as mudas foram mantidas em floreiras plásticas (35 x 27 x 72cm, capacidade 82,8 litros), contendo areia de granulometria média como substrato, colocando no fundo da floreira, uma camada de 5cm de brita para facilitar a drenagem. As floreiras foram colocadas sobre bancadas com, aproximadamente, 0,85cm de altura. Foram utilizadas 12 mudas por floreira, com espaçamento de 0,10 x 0,10 m. Neste sistema, a solução nutritiva foi fornecida diariamente, com aplicação feita manualmente de 1 litro por floreira, com exceção dos dias chuvosos, nos quais a evapotranspiração da cultura é menor, não sendo necessária a irrigação. A cada 15 dias a areia foi lavada com água da chuva para evitar a salinização.

A solução nutritiva foi formulada de acordo com as necessidades da cultura da videira e da recomendação de adubação referenciadas no “Manual de Adubação e de Calagem para os estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina” (BRUNETTO et al., 2016), com a seguinte composição de macronutrientes (em mmol L⁻¹): 12 de NO₃⁻, 1,2 de H₂PO₄⁻, 1,5 de SO₄²⁻, 0,8 de NH₄⁺, 4,4 de K⁺, 4,0 de Ca²⁺ e 1,5 de Mg²⁺; e de micronutrientes (em mg L⁻¹): 2,23 de Fe, 0,50 de Mn, 0,05 de Zn, 0,02 de Cu, 0,49 de B e 0,01 de Mo. Para o preparo da solução nutritiva empregaram-se água da chuva e os seguintes fertilizantes e produtos: nitrato de cálcio, fosfato de potássio, sulfato de magnésio, nitrato de potássio, sulfato de ferro, Na-EDTA, sulfato de manganês, sulfato de zinco, sulfato de cobre, ácido bórico e molibdato de sódio. O pH foi mantido entre 5,5 e 6,0 e a condutividade elétrica (CE) foi de 1,8dS m⁻¹.

As avaliações foram realizadas no período inicial da instalação do experimento e aos 30, 60, 90, 120 e 150 dias após a montagem do experimento. Foram avaliadas altura da parte aérea, número de brotações e comprimento médio das brotações. Aos 120 dias de cultivo foi feita a medição dos índices de clorofila *a*, clorofila *b* e clorofila total, com a utilização de um medidor eletrônico de clorofila. O medidor eletrônico de clorofila ClorofiLOG CFL1030, marca Falker[®] é um sensor comercial que analisa três faixas de frequência de luz na medição e, através de relações de absorção em diferentes frequências, determina um índice de clorofila (Índice de Clorofila Falker, ICF), levando em consideração a presença das clorofilas *a* e *b* (FALKER, 2008). Para realizar as leituras, foi feita uma amostragem de 120 folhas por tratamento (30 folhas de cada repetição).

Na última avaliação, verificou-se também o rendimento em microestacas/miniastacas, diâmetro do colo, incremento do diâmetro de colo, massa de matéria fresca da parte aérea e radicular, massa de matéria seca da parte aérea e radicular e foi realizado a análise nutricional das folhas. Para calcular o rendimento em microestacas/miniastacas, para cada planta, foram contabilizadas porções dos ramos de 5 a 8cm (tamanho médio do material propagativo que originaria uma micro ou miniastaca). Para verificar a massa de matéria fresca e seca, foi feita uma amostragem de cinco plantas por repetição (vinte plantas de cada tratamento). Para a análise nutricional, amostras de folhas foram moídas e submetidas a digestões nítrico-

perclórica e sulfúrica, na qual foram determinadas as concentrações dos elementos nos extratos obtidos, segundo a metodologia descrita por Tedesco et al. (1995). Para a interpretação dos teores médios dos macronutrientes e micronutrientes foram utilizadas as recomendações do “Manual de Adubação e Calagem para os estados do Rio Grande do Sul e de Santa Catarina”, da Sociedade Brasileira de Ciência do Solo (BRUNETTO et al., 2016).

Durante o período do experimento as temperaturas mínimas médias foram de 11°C e as temperaturas máximas médias 31,6°C, sendo que a mínima registrada foi de 7°C e a máxima 34°C e, a umidade do ar, ficou em torno de 64,9%. As medições de temperatura e umidade foram realizadas diariamente utilizando-se um termo-higrômetro digital.

Os dados foram submetidos à análise da variância pelo teste F e, quando significativos, submetidos à comparação entre médias, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. O programa estatístico utilizado foi o WinStat, versão 2.0 (MACHADO; CONCEIÇÃO, 2003).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com a análise da variância, não houve interação entre os fatores tipo de muda e sistema de cultivo para nenhuma das variáveis analisadas.

O tipo de muda não teve efeito significativo para as variáveis número de brotações e comprimento médio de brotações em nenhuma das avaliações anteriores aos 150 dias de cultivo (Figura 1B e 1C). Para a altura da parte aérea, apenas efeitos significativos foram encontrados aos 30 e 60 dias de cultivo, sendo mais altas as mudas produzidas por micropropagação (Figura 1A).

A partir dos 60 dias, o sistema de cultivo teve efeito significativo para as variáveis número de brotações e comprimento médio de brotações, no qual o sistema de cultivo sem solo proporcionou melhores resultados em relação ao sistema de cultivo convencional (Figura 1E e 1F).

Aos 30 dias de cultivo, para a variável altura da parte aérea, as mudas micropropagadas apresentaram média significativamente superior ($p=0,0042$) às mudas de miniestaquia (20,50 e 16,04cm, respectivamente) (Figura 1A). Quanto ao

sistema de cultivo, as mudas do cultivo convencional apresentaram maior altura (20,88cm) que as mudas do cultivo sem solo (15,66cm), sendo significativamente diferentes entre si ($p=0,0016$) (Figura 1D). O número de brotações nas mudas do cultivo sem solo apresentaram maior média (3,60) que as mudas do cultivo convencional (2,11), sendo significativamente diferentes entre si ($p=0,0029$) (Figura 1E). Em relação ao comprimento médio de brotações, nenhum dos fatores teve efeito significativo ($p>0,05$) aos 30 dias de cultivo (Figura 1F).

Aos 60 dias de cultivo, a altura da parte aérea das mudas micropropagadas também foi significativamente superior ($p=0,0029$) às mudas de miniestaquia (23,78 e 18,79cm, respectivamente) (Figura 1A). O sistema de cultivo sem solo proporcionou melhores resultados para o número de brotações e comprimento médio de brotações, nos dois casos diferenciando-se significativamente entre si ($p<0,01$). Quanto ao número de brotações, as mudas do cultivo sem solo apresentaram média de 4,94 e as do cultivo convencional 1,63. Em relação ao comprimento médio de brotações, a média das mudas do cultivo sem solo foi de 5,11cm, enquanto a do cultivo convencional foi de 3,24cm (Figura 1E e 1F).

Aos 90 dias de cultivo, para a variável altura da parte aérea, nenhum dos fatores teve efeito significativo ($p>0,05$). Quanto ao número de brotações, as mudas do cultivo sem solo apresentaram média de 5,51, significativamente superior ($p=0,0001$) da média do cultivo convencional 3,21 (Figura 1E). Em relação ao comprimento médio de brotações, a média das mudas do cultivo sem solo foi de 7,14cm, sendo significativamente maior ($p<0,0001$) que o comprimento médio do cultivo convencional que foi 3,23cm (Figura 1F).

Aos 120 dias, o sistema de cultivo proporcionou diferenças significativas ($p<0,05$), a favor do sistema de cultivo sem solo, para essas três variáveis analisadas. As mudas do cultivo sem solo apresentaram maior altura da parte aérea (34,05cm) que as mudas do cultivo convencional (29,24cm). Quanto ao número de brotações, as mudas do cultivo sem solo apresentaram a média duas vezes maior que a do cultivo convencional, 6,41 e 3,18, respectivamente. Em relação ao comprimento médio de brotações, a média das mudas do cultivo sem solo foi amplamente superior (8,73cm)

ao comprimento médio das mudas do cultivo convencional (3,36cm) (Figura 1D, 1E e 1F).

Em relação aos índices de clorofila, também verificados aos 120 dias cultivo, o tipo de muda não teve efeito significativo para os índices de clorofila *b* e clorofila total. Para clorofila *a*, as mudas micropropagadas tiveram médias maiores (27,81) que as mudas de miniestaquia (25,73). Quanto ao sistema de cultivo, o sistema de cultivo convencional proporcionou para as mudas, as maiores médias para clorofila *a* (29,15), clorofila *b* (8,01) e clorofila total (37,16), em comparação com as do cultivo sem solo (clorofila *a* 24,39, *b* 5,93 e total 30,31) (Tabela 1).

As clorofilas presentes nos vegetais são constantemente sintetizadas e destruídas, no qual os processos são influenciados por fatores internos e externos às plantas. Entre os fatores externos, se destacam a incidência da radiação que pode promover alteração na síntese dos pigmentos (TAIZ; ZEIGER, 2013; CHAVES et al., 2015). Não só a concentração total, mas a proporção entre os tipos de clorofila podem mudar em função da intensidade luminosa, sendo que, geralmente, a proporção entre clorofila *a* e *b* tende a diminuir com a redução da intensidade luminosa (ENGEL; POGGIAN, 1991). No presente trabalho, as plantas mantidas no sistema de cultivo sem solo, a partir dos 60 dias de cultivo apresentavam maior número e comprimento médio de brotações que as plantas do sistema de cultivo convencional (Figura 1). Esta característica, por questão do maior adensamento das brotações e folhas, pode ter causado um sombreamento entre as plantas, o que pode ter influenciado e reduzido a síntese de clorofila nas folhas das plantas mantidas neste sistema. Outro fator que poderia afetar os teores de clorofila seria a deficiência de nutrientes como o nitrogênio, mas esta hipótese é descartada visto que o mesmo se encontrava com teores até mesmo considerados excessivos para a cultura (Tabela 2).

Santos et al. (2015) verificou valores semelhantes de clorofila total (entre 30 a 45) em plantas adultas de um vinhedo de Syrah enxertada sobre Paulsen 1103, com diferentes tratamentos de fertirrigação. Valores mais altos foram encontrados por Basso et al. (2010) em plantas adultas de um vinhedo de Cabernet Franc (clorofila *a* 41,0 *b* 13,3 e total 54,3) e Cabernet Sauvignon (clorofila *a* 34,3 *b* 10,4 e total 44,7). Em ambos os estudos, as medições dos índices de clorofila foram realizadas da mesma

maneira que no presente trabalho, com a utilização do medidor eletrônico de clorofila ClorofiLOG.

Na última avaliação, realizada aos 150 dias de cultivo, para a variável altura da parte aérea, nenhum dos fatores teve efeito significativo ($p > 0,05$). Já para as variáveis número de brotações e comprimento médio de brotações, as mudas do sistema de cultivo sem solo mantiveram-se com as maiores médias ($p < 0,0001$). Quanto ao número de brotações, as mudas do cultivo sem solo apresentaram média de 5,35 e as do cultivo convencional 2,94. Em relação ao comprimento médio de brotações, as mudas de miniestaquia obtiveram maior média (6,61cm) que as mudas micropropagadas (5,50cm). E quanto ao sistema de cultivo, a média das mudas do cultivo sem solo foi de 8,55cm e das mudas do cultivo convencional foi 3,56cm (Figura 1E e 1F).

Nesta última avaliação (aos 150 dias), também foram analisados o rendimento em microestacas/miniestacas, diâmetro do colo, incremento do diâmetro de colo, massa de matéria fresca da parte aérea e radicular e massa de matéria seca aérea e radicular. Para todas estas variáveis, ao igual que para as outras anteriormente discutidas, não existiu interação significativa entre os fatores tipo de muda e sistema de cultivo, pelo que são estudados os efeitos principais de cada fator separadamente (Tabela 3).

O tipo de muda teve efeito significativo para diâmetro do colo, massa de matéria fresca e seca de parte aérea e massa de matéria fresca e seca de raiz, em que as mudas de miniestaquia obtiveram as médias mais altas (Tabela 3). As mudas obtidas por miniestaquia, inicialmente, já apresentavam essas características de serem aparentemente “mais rústicas” em relação às mudas obtidas por micropropagação que são mais tenras devido ao processo de cultivo *in vitro*.

Quanto ao sistema de cultivo, o cultivo sem solo proporcionou as maiores médias para todas as variáveis analisadas, quando comparadas ao sistema convencional (Tabela 3).

Destaca-se que o rendimento em microestacas/miniestacas, das mudas do sistema de cultivo sem solo é pelo menos sete vezes maior que das mudas do sistema de cultivo convencional (71,75 e 9,34, respectivamente). As médias de massa matéria

fresca e seca de parte aérea das mudas do cultivo sem solo (134,65g e 39,68g) são, pelo menos, o dobro do valor das médias das mudas do cultivo convencional (59,88g e 19,18g).

Não foram encontrados na literatura trabalhos semelhantes a este, em que tenham sido avaliadas características de desenvolvimento das plantas de videira em sistema de cultivo sem solo. No entanto, existem alguns trabalhos com sistemas de cultivo sem solo onde foram avaliadas outras características e que a montagem do sistema se deu com outros materiais.

Ferreira (2013) utilizou um modelo de sistema hidropônico durante o enraizamento do porta-enxerto Ripária do Traviú e o pegamento de enxertia deste porta-enxerto com a cultivar-copa Niágara Rosada. Verificou que o sistema hidropônico é viável para a produção de mudas do porta-enxerto, no entanto, o sistema convencional foi mais eficiente para o pegamento do enxerto. No referido trabalho, o sistema hidropônico o qual o autor se refere, as mudas foram plantadas em tubetes e estes eram imersos em solução nutritiva, onde a absorção da solução nutritiva pelas estacas se dá por capilaridade. Embora os modelos dos sistemas não sejam exatamente iguais ao do presente estudo, o objetivo principal dos experimentos segue a mesma linha, de verificar a viabilidade do uso do sistema de cultivo sem solo para a produção de mudas de videira.

Ao estudar a capacidade de absorção de macronutrientes de porta-enxertos e variedades produtoras de videira em hidroponia, Albuquerque e Dechen (2000) observaram que existe uma diferença na capacidade de acumular nutrientes entre porta-enxertos e entre estes e as produtoras, sendo que dentre as variedades avaliadas, destacou-se o porta-enxerto Jales - IAC 572. No experimento destes autores, as mudas também permaneceram em recipientes contendo areia, no entanto, o fornecimento da solução nutritiva era feito por meio de gotejamento intermitente. No presente estudo, o fornecimento da solução nutritiva era realizado manualmente, de acordo com a necessidade de irrigação. Quanto às variedades, não foi realizada uma comparação entre porta-enxertos e variedades produtoras, pois, inicialmente, o objetivo deste estudo foi testar os sistemas e os tipos de mudas. Certamente, estudos futuros com

outras variedades podem trazer mais resultados sobre o comportamento da videira nestes sistemas de cultivo.

Existem trabalhos em que foram avaliados estes mesmos sistemas de cultivo (convencional e sem solo) com outras frutíferas, como descritos a seguir.

Affonso (2015) trabalhando com mudas micropropagadas de duas cultivares de mirtilheiro, em sistemas de cultivo convencional e sem solo, observou que o sistema de cultivo sem solo foi superior ao sistema de cultivo convencional para as duas cultivares em relação à produção de microestacas. No referido trabalho, o autor realizou coletas e o enraizamento das microestacas. No presente estudo, foi feita uma mensuração do rendimento em micro e miniestacas na última avaliação realizada, pois o propósito do experimento foi avaliar o desenvolvimento das plantas para posterior uso como fonte de material propagativo. No entanto, resultados semelhantes foram encontrados no presente estudo, no qual o sistema de cultivo sem solo proporcionou maior rendimento em micro e miniestacas de videira em relação ao sistema de cultivo convencional.

Utilizando os mesmos sistemas de cultivo, Cappellaro (2013) avaliou o desenvolvimento de plantas de oliveira produzidas por miniestaquia, verificou que o sistema de cultivo sem solo proporcionou os melhores resultados.

Em outro trabalho semelhante, Tomaz (2013) estudou o uso de sistemas de cultivo sem solo para a produção de mudas de cultivares de pessegueiro por miniestaquia e concluiu que, este sistema de cultivo apresenta potencial para o desenvolvimento de mudas tanto de porta-enxertos quanto de cultivares-copa autoenraizadas, com significativa redução no tempo do ciclo vegetativo, podendo diminuir o tempo de obtenção de mudas em relação ao sistema de cultivo convencional.

Para a interpretação dos teores dos macronutrientes e micronutrientes, foram utilizados os valores descritos para a cultura da videira no “Manual de Adubação e de Calagem para os estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina” (BRUNETTO et al., 2016).

Quanto aos macronutrientes, os teores de nitrogênio, fósforo e potássio mostraram-se excessivos em todos os tratamentos ($>2,40$, $>0,40$ e $>1,60\%$,

respectivamente) Os teores de cálcio foram considerados normais (1,60 – 2,40%) apenas para as mudas de miniestaquia advindas do sistema de cultivo convencional, para os demais tratamentos, os valores classificaram-se como excessivos (>2,40%). Os teores de magnésio foram considerados normais (0,20 – 0,60%) para as mudas advindas da micropropagação do sistema de cultivo sem solo, já para os demais tratamentos, os valores foram excessivos (>0,60%).

Em relação aos micronutrientes, os teores de ferro mostraram-se excessivos (>180mg kg⁻¹) em todos os tratamentos. Os teores de zinco foram considerados excessivos (>60mg kg⁻¹) para as amostras de mudas micropropagadas, tanto do sistema convencional quanto do sistema de cultivo sem solo. Já para as mudas de miniestaquia, os teores de zinco encontravam-se normais (25-60mg kg⁻¹), em ambos os sistemas de cultivo. Os teores de manganês consideraram-se normais (30-300mg kg⁻¹) para as mudas micropropagadas e de miniestaquia advindas do sistema convencional. Já as mudas advindas do sistema de cultivo sem solo, tanto as micropropagadas como as de miniestaquia, apresentaram teores de manganês considerado excessivo (>300mg kg⁻¹).

De acordo com a interpretação dos resultados da análise nutricional, observa-se que a maioria dos macro e micronutrientes foram classificados como excessivos, demonstrando a necessidade de se adequar as concentrações destes elementos na solução nutritiva, embora os resultados tenham sido positivos para as variáveis de desenvolvimento das plantas analisados neste experimento.

Para que se obtenham produtividades satisfatórias das plantas mantidas em sistema de cultivo sem solo, a concentração dos nutrientes e o fornecimento da solução nutritiva devem ser adequados, e isso pode variar conforme as espécies e cultivares utilizadas (DALASTRA, 2017).

O suprimento inadequado de um nutriente pode resultar em uma desordem nutricional manifestada quase sempre através de sintomas característicos. Estas desordens estão relacionadas com o papel desempenhado pelos elementos essenciais no metabolismo da planta normal (TAIZ; ZEIGER, 2006; FERREIRA, 2013). No presente trabalho, o excesso de alguns nutrientes não chegou a gerar sintomas que fossem aparentemente perceptíveis, portanto, acredita-se, que não tenham causado danos ao desenvolvimento das plantas pelo período avaliado.

CONCLUSÃO

Tanto mudas micropropagadas, quanto mudas obtidas por miniestaquia podem ser utilizadas para a formação de jardins clonais de videira Chardonnay, não apresentando vantagens uma à outra em relação às principais variáveis de crescimento e de rendimento de mudas.

O sistema de cultivo sem solo mostrou-se eficiente para o desenvolvimento de mudas de videira Chardonnay, com a finalidade de formação de micro e minijardim clonal, mostrando superior ao sistema convencional de cultivo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AFFONSO, L. B.; PEIL, R. M. N.; SCHUCH, M. W.; CAPPELLARO, T. H.; OZELAME, G. L. C. Microjardim clonal de mirtilheiro em sistemas de cultivo sem solo. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.37, n.4, p.1037-1044, 2015.

ALBUQUERQUE, T. C. S.; DECHEN, A. R. Absorção de macronutrientes por porta-enxertos e cultivares de videira em hidroponia. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v.57, n.1, p.135-139, 2000.

ASSIS, T. F. Hybrids and mini-cutting: a powerful combination that has revolutionized the *Eucalyptus* clonal forestry. **BMC Proceedings**, v.5, supl.7, p.I18, 2011.

BASSO, M. F.; FAJARDO, T. V. M.; SANTOS, H. P.; GUERRA, C. C.; AYUB, R. A.; NICKEL, O. Fisiologia foliar e qualidade enológica da uva em videiras infectadas por vírus. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, v.35, n.6, p.351-359, 2010.

BRUNETTO, G.; ERNANI, P. R.; MELO, G. W. B.; NAVA, G. Frutíferas. In: **Manual de calagem e adubação; para os estados do rio Grande do Sul e de Santa Catarina**. Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, Núcleo Regional Sul, 2016. p.189-232

CAPPELLARO, T. H. Produção de mudas de oliveira em sistemas de cultivo sem solo. 2013. 105f. Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2013.

CARVALHO, J. M. F. C.; SILVA, M. M. A. **Plantas Matrizes na propagação vegetativa**. Documentos, 242. Campina Grande: Embrapa Algodão, 2012. p.36.

CHAVES, A. D. M.; LEAO, P. D. S.; PEREIRA, G. E.; AIDAR, S. D. T.; COSTA, B. R. S.; SANTOS, L. M. Comportamento da fluorescência da clorofila e do índice de clorofila a em plantas de videira Syrah e Chenin cultivadas em dois sistemas de

condução no Submédio do Vale do São Francisco. In: Embrapa Semiárido-Artigo em anais de congresso (ALICE). In: SIMPÓSIO DE FRUTICULTURA DO VALE DO SÃO FRANCISCO, 1, 2015, Juazeiro. **Resumos...** Petrolina: UNIVASF: 2015.

COLETTI, L. S.; MARTINS, C. R.; GOULART, M. Micropropagação de porta-enxerto de videira Paulsen 1103 “*in vitro*”, com diferentes concentrações de citocinina. **Revista da FZVA**, Uruguaiana, v.15, n.1, p.102-108, 2008.

DALASTRA, C. Nutrição e produção de alface americana em função da vazão, periodicidade de exposição e condutividade elétrica da solução nutritiva em sistema hidropônico. 2017. 98f. Tese (Doutorado) - Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira – UNESP, Ilha Solteira, 2017.

DUTRA, L. F.; WENDLING, I.; BRONDANI, G. E. A micropropagação de eucalipto. Pesquisa Florestal Brasileira, Colombo, n.58, p.49-59, 2009.

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

ENGEL, V. L.; POGGIANI, F. Estudo da concentração de clorofila nas folhas e seu espectro de absorção de luz em função do sombreamento em mudas de quatro espécies florestais nativas. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Campinas, v.3, n.1, p.39-45, 1991.

FALKER AUTOMAÇÃO AGRÍCOLA. **Medidor eletrônico de teor de clorofila ClorofiLOG CFL 1030**: Manual de instruções. Porto Alegre, 2008. p.33.

FERREIRA, F. T. Produção de videira pelos sistemas hidropônico e convencional. 2013. 69 p. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitotecnia, Universidade Federal de Lavras – UFLA, Lavras, 2013.

FRONZA, D.; HAMANN, J. J. **Viveiros e propagação de mudas**. Santa Maria: UFSM, Colégio Politécnico: Rede e-Tec Brasil, 2015, p.142.

GROHS, D.; ALMANÇA, M.; FAJARDO, T.; HALLEEN, F.; MIELE, A. Advances in propagation of grapevine in the world. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.39, n.4 (e-760), p.1-15, 2017.

KUHN, G. B; REGLA, R. A; MAZZAROLO, A. **Produção de mudas de videira (*Vitis spp.*) por enxertia de mesa**. Circular Técnica 74. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2007. p.15.

LEÃO, P. C. S. Utilização de diferentes tipos de estacas na produção de mudas do porta-enxerto de videira, CV. IAC572 ‘Jales’. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.33, n.1, p.165-168, 2003.

MELLO, L. M. R. **Área e Produção de Uvas: Panorama Mundial**. Artigo Técnico - EMBRAPA Uva e Vinho, 2009, 6p. Disponível em: <<http://www.cnpuv.embrapa.br/publica/artigos/producaomundial.pdf>>. Acesso em: 20 jun. 2017.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A. A revised medium for rapid growth and bio assaya with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.15, p.473-479, 1962.

NACHTIGAL, J. C. **Produção de mudas de videiras em Regiões Tropicais e Subtropicais**. Circular Técnica, 46. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2003. p.23.

OLIVEIRA, A. F.; VIEIRA NETO, J.; VILLA, F.; SILVA, L. F. O. Desempenho de jardins clonais de oliveira obtidos por estaquia e enxertia em cortes sucessivos. **Scientia Agraria**, Curitiba, v.11, n.4, p.299-305, 2010.

REZENDE, L. P.; PEREIRA, F. M. Produção de mudas de videira 'Rubi' pelo método de enxertia de mesa em estacas herbáceas dos porta-enxertos IAC 313 'Tropical' e IAC 766 'Campinas'. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.23, n.3, p.662-667, 2001.

ROBERTO, S. R.; ZIETEMANN, C.; COLOMBO, L. A.; ASSIS, A. M.; SANTOS, C. E.; AGUIAR, R. S.; MORAES, V. J. Enraizamento de estacas herbáceas dos porta-enxertos IAC 572 'Jales' e IAC 766 'Campinas' em câmara de nebulização. **Acta Scientiarum. Agronomy**, Maringá, v.28, n.4, 2006.

SANTOS, L. M.; DE SOUZA, D. R. M.; DA SILVA, A. O.; SILVA, D.; CHAVES, A. D. M. Aspectos ecofisiológicos em videira fertirrigada com diferentes concentrações de nitrogênio e potássio. In: Embrapa Semiárido-Artigo em anais de congresso (ALICE). In: JORNADA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA EMBRAPA SEMIÁRIDO, 10, 2015, Petrolina. **Anais...** Petrolina: Embrapa Semiárido, 2015.

SCHUCH, M.W.; PEIL, R. M. N. Soilless cultivation systems: A new approach in fruit plants propagation in southern Brazil. **Acta Horticulturae**, Leuven, v.952, p.877-883, 2012.

SILVA, L. F. Propagação vegetativa do eucalipto: experiência da International Paper do Brasil. **IPEF Notícias**, Piracicaba, v.25, n.156, p.4-5, 2001.

TAIZ, L., ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**, 5ª Edição. Porto Alegre: Editora Artmed, 2013. p.954.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Plant Physiology**. 4th ed. Sunderland: Sinauer Associates, 2006. p.764.

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. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v.36, n.1, p.135-140, 2015.

TITON, M.; XAVIER, A.; OTONI, W. C.; REIS, G. G. Efeito do AIB no enraizamento de miniestacas e microestacas de *Eucalyptus grandis* W. Hill ex Maiden. **Revista Árvore**, Viçosa, v.27, n.1, p.1-7, 2003.

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

XAVIER, A.; SILVA, R. L. Evolução da silvicultura clonal de *Eucalyptus* no Brasil. **Agronomía Costarricense**, San José, v.34, n.1, p.93-98, 2010.

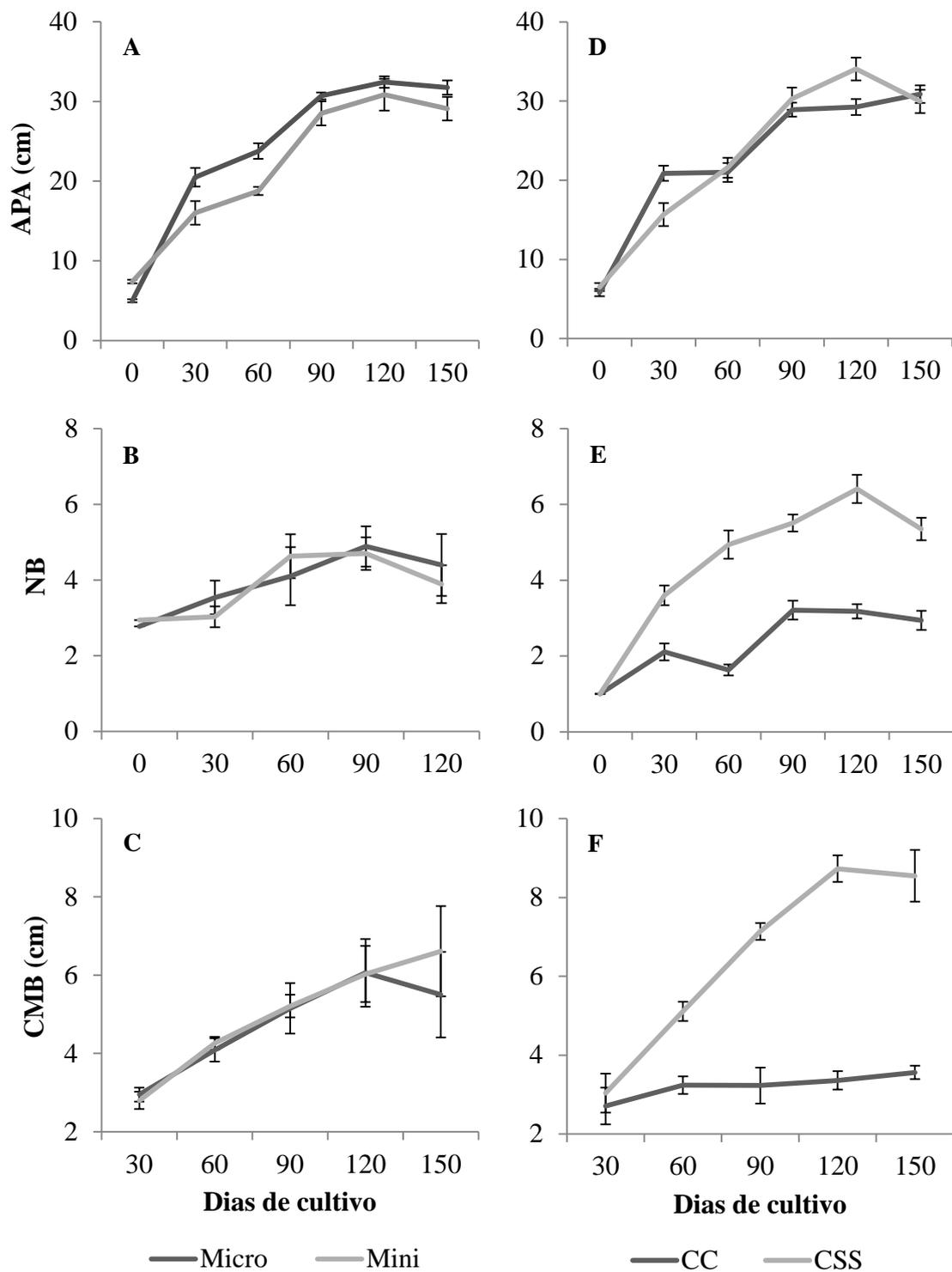


Figura 1. A e D: Altura da parte aérea (APA), B e E: número de brotações (NB), C e F: comprimento médio de brotações (CMB) de plantas de videira Chardonnay produzidas por micropropagação (Micro) e miniestaqueia (Mini) em sistema de cultivo convencional (CC) e cultivo sem solo (CSS). As barras representam o erro-padrão da média.

Tabela 1. Índices de clorofila A, clorofila B e clorofila total de plantas de videira Chardonnay produzidas por micropropagação e miniestaquia aos 120 dias de cultivo em sistema de cultivo convencional (CC) e cultivo sem solo (CSS).

Índice de Clorofila			
Tipo de muda	Clorofila A	Clorofila B	Clorofila Total
Micropropagada	27,81 a	6,73 ^{ns}	34,54 ^{ns}
Miniestaquia	25,73 b	7,21	32,94
Sistema de cultivo			
CC	29,15 a	8,01 a	37,16 a
CSS	24,39 b	5,93 b	30,31 b
p-valor	0,0020	0,0026	0,0015
CV (%)	5,43	8,80	5,57

*Médias seguidas pela mesma letra, maiúsculas na linha e minúsculas na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade; ns = não significativo pelo teste F, ao nível de 5% de probabilidade.

Tabela 2. Análise nutricional de folhas de videira Chardonnay produzidas por micropropagação e miniestaquia aos 150 dias de cultivo em sistema de cultivo convencional (CC) e cultivo sem solo (CSS).

	Macronutrientes (%)					Micronutrientes (mg kg⁻¹)		
	N	P	K	Ca	Mg	Fe	Zn	Mn
Micro/CC	2,90	1,43	1,85	2,47	0,68	436,93	62,58	145,78
Micro/CSS	3,66	1,88	2,20	3,51	0,53	836,27	68,83	558,22
Mini/CC	2,65	1,87	1,91	2,32	0,67	347,63	38,51	132,74
Mini/CSS	3,90	1,75	2,43	2,60	0,47	436,33	34,18	374,52

Tabela 3. Rendimento em micro/miniestacas (RM), diâmetro do colo (DC), incremento do diâmetro do colo (IDC), massa de matéria fresca da parte aérea (MF PA), massa de matéria seca da parte aérea (MS PA), massa de matéria fresca radicular (MF R) e massa de matéria seca radicular (MS R) de plantas de videira Chardonnay produzidas por micropropagação e miniestaquia aos 150 dias de cultivo em sistema de cultivo convencional (CC) e cultivo sem solo (CSS).

Tipo de muda	RM (N°)	DC (mm)	IDC (mm)	MF PA (g)	MS PA (g)	MF R (g)	MS R (g)
Micropropagada	39,35 ^{ns}	3,33 b	1,98 ^{ns}	75,16 b	21,94 b	325,61 b	126,53 b
Miniestaquia	41,74	5,18 a	1,83	119,36 a	36,91 a	390,29 a	158,21 a
Sistema de cultivo							
CC	9,34 b	3,55 b	1,25 b	59,88 b	19,18 b	262,64 b	82,09 b
CSS	71,75 a	4,96 a	2,56 a	134,65 a	39,68 a	453,26 a	202,65 a
p-valor	<0,0001	0,0004	0,0199	<0,0001	<0,0001	0,0001	<0,0001
CV (%)	16,23	12,13	27,37	13,53	13,61	10,28	13,97

*Médias seguidas pela mesma letra, maiúsculas na linha e minúsculas na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade; ns = não significativo pelo teste F, ao nível de 5% de probabilidade.

5 Conclusões

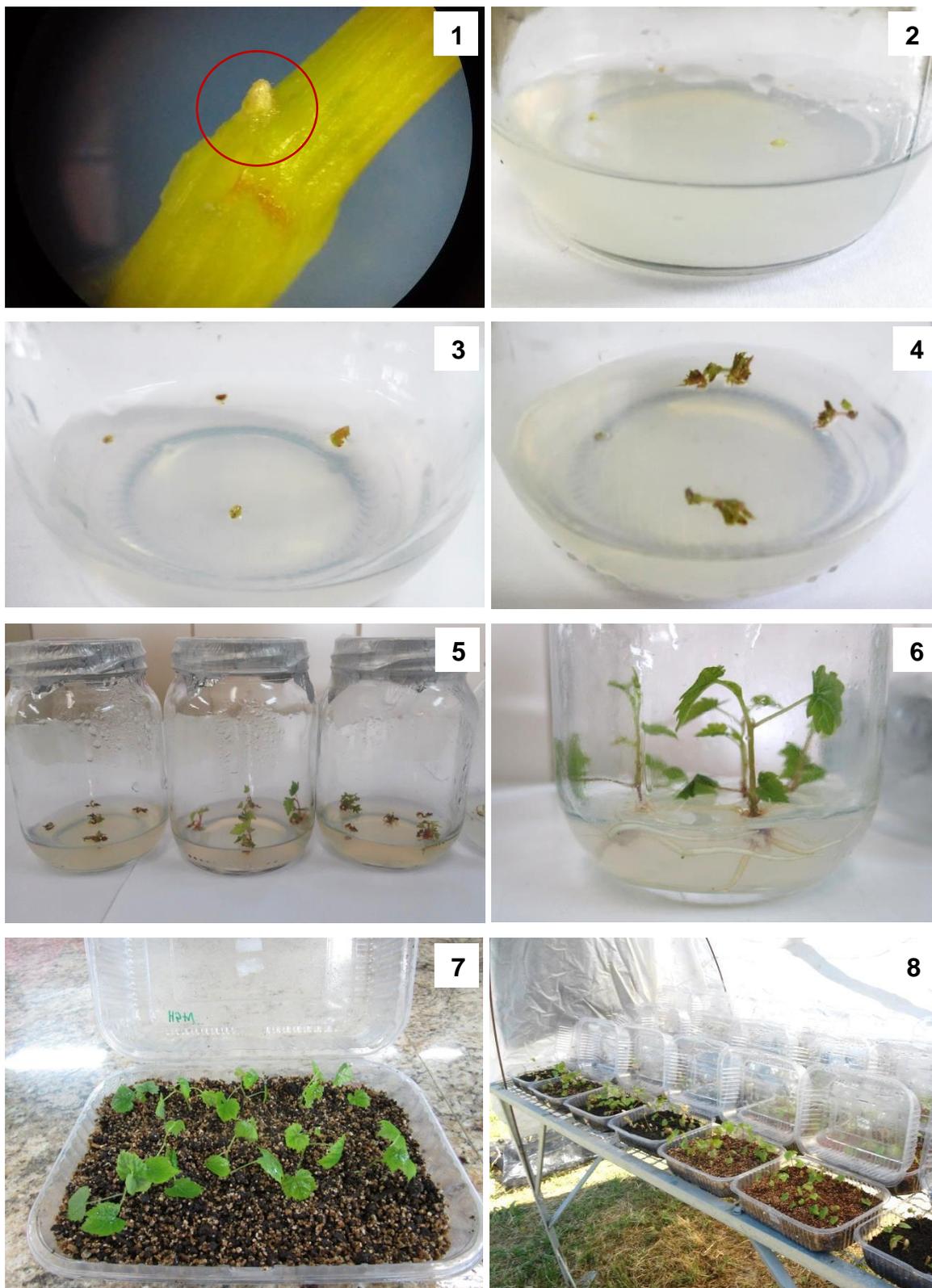
Quanto ao protocolo de micropropagação de videira Chardonnay, conclui-se que o meio de cultura MS pode ser utilizado tanto com a concentração completa, quanto com metade da concentração dos sais. Para multiplicação, recomenda-se o uso de $10\mu\text{M}$ de BAP. Para o enraizamento, é indicado o uso de $0,1\text{mg L}^{-1}$ de AIB.

Já na etapa de aclimatização, os substratos contendo vermiculita na composição, proporcionaram os melhores resultados.

Em relação à miniestaquia, foi possível concluir que miniestacas herbáceas de videira Chardonnay e do porta-enxerto SO4 podem ser enraizadas mesmo sem o uso de regulador de crescimento.

Para a formação dos jardins clonais, tanto as mudas micropropagadas, quanto mudas obtidas por miniestaquia podem ser utilizadas. O sistema de cultivo sem solo mostrou-se eficiente para o desenvolvimento de mudas de videira Chardonnay, sendo superior ao sistema convencional de cultivo.

Apêndices

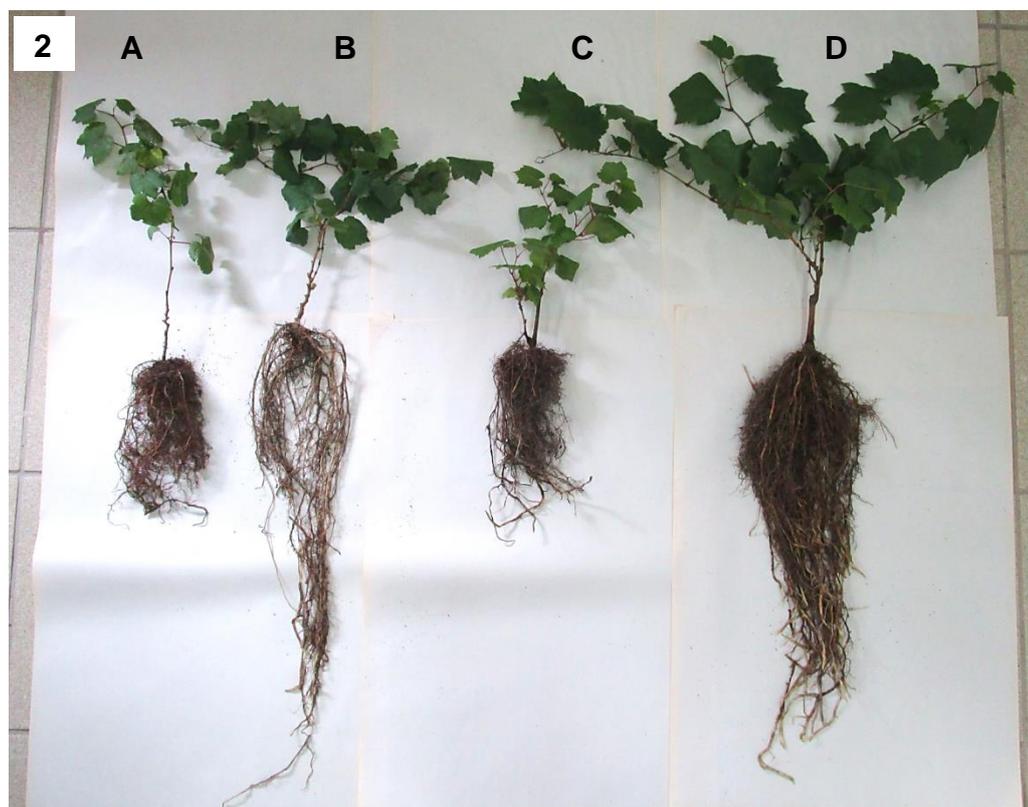
Apêndice A – Etapas da micropropagação.

1 e 2: estabelecimento do meristema *in vitro*; **3:** meristema após 14 dias de cultivo; **4:** meristema após 28 dias de cultivo; **5:** multiplicação dos explantes; **6:** enraizamento *in vitro*; **7 e 8:** aclimatização das plântulas.

Apêndice B – Jardins clonais.

1, 3 e 5: Microjardim clonal em sistema de cultivo convencional e cultivo sem solo na instalação do experimento, aos 60 dias e aos 150 dias. **2, 4 e 6:** Minijardim clonal em sistema de cultivo convencional e cultivo sem solo na instalação do experimento, aos 60 dias e aos 150 dias.

Apêndice C – Mudas micropropagadas e de miniestaquia na montagem e na avaliação final do experimento dos jardins clonais.



1: Mudanças iniciais na montagem do experimento dos jardins clonais; muda obtida por micropropagação (1A); muda obtida por miniestaquia (1B). **2:** Mudanças representativas de cada tratamento durante a avaliação final, aos 150 dias de cultivo; mudas micropropagadas provenientes do sistema de cultivo convencional e do cultivo sem solo (2A e 2B); mudas de miniestaquia do sistema de cultivo convencional e do cultivo sem solo (2C e 2D).