

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
CAMPUS DE BOTUCATU

**ÁCIDO INDOL-BUTÍRICO, 2,6-DI-HIDROXIACETOFENONA E GENE
ARRO-1 NO ENRAIZAMENTO DE ESTACAS DE PESSEGUEIRO**

MAURO BRASIL DIAS TOFANELLI

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agronômicas da UNESP – Campus de Botucatu, para obtenção de título de Doutor em Agronomia – Área de Concentração em Horticultura.

BOTUCATU – SP

Novembro – 2002

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS
CAMPUS DE BOTUCATU

**ÁCIDO INDOL-BUTÍRICO, 2,6-DI-HIDROXIACETOFENONA E GENE
ARRO-1 NO ENRAIZAMENTO DE ESTACAS DE PESSEGUEIRO**

MAURO BRASIL DIAS TOFANELLI
Engenheiro Agrônomo

Orientador: Prof. Dr. João Domingos Rodrigues

Co-orientador: Prof. Dr. Celso Luis Marino

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agronômicas da UNESP – Campus de Botucatu, para obtenção de título de Doutor em Agronomia – Área de Concentração em Horticultura.

BOTUCATU – SP

Novembro – 2002

OFERECIMENTOS

À minha querida Mãe,

pelo amor, educação e toda dedicação

À memória de meu Pai,

por todos os ensinamentos

Dedico

Meus irmãos, minha Avó Belinha, minha madrinha Kátia

homenageio

À Aline, minha esposa

Ao Maurílio, meu filho.

Ofereço

AGRADECIMENTOS

À Deus por iluminar os meus caminhos;

À minha Mãe, Mírian Brasil Dias, pelo amor, educação e apoio dedicados a mim;

Ao meu Pai, Lúcio Tofanelli, que mesmo ausente em nosso mundo, esteve olhando espiritualmente por mim;

À minha esposa, Aline, pelo compartilhamento nos momentos bons e difíceis durante o curso;

Ao meu filho, Maurílio, pois, desde quando nasceu, mudou para melhor o sentido da minha vida;

Ao Departamento de Produção Vegetal/Horticultura – FCA/UNESP, por ter concedido a oportunidade de cursar o Doutorado;

À CAPES, pela concessão da bolsa de estudo e financiamentos;

Ao meu orientador Professor Dr. João Domingos Rodrigues, pelos, sincera amizade, confiança e liberdade de expressão das minhas idéias;

Ao Professor Dr. Celso Luis Marino, pela co-orientação, ensinamentos concedidos, sincera amizade e oportunidade de estudo;

À Professora Dra. Elizabeth Orika Ono, pelo intenso auxílio nos estudos e trabalhos e pela amizade;

Aos docentes do Departamento de Produção Vegetal/Horticultura, especialmente, aos Professores Dr. Lin Chau Ming, coordenador do curso de Pós-Graduação da Horticultura, e Dra. Romy Goto, pelas contribuições e amizade;

Aos colegas da Pós-Graduação da Horticultura; Paulo, Julio, Sílvio, Mosca, Célio, Vandeir, Polyana, Magnólia, Celina, Giuliana, Santino, Juliana, Rubem, Domingos, Lília, Marco (Carioca), Marco Tecchio e Marcos O. de Oliveira pelo compartilhamento nos estudos e nos trabalhos e pelos momentos de lazer e descontração.

Aos funcionários do Departamento de Produção Vegetal/Horticultura, especialmente, à secretária Rosemeire e ao Sr. Benedito Thomé Franco, pelo auxílio no andamento do curso e dos experimentos e pela amizade;

Aos docentes, funcionários e alunos da Pós-Graduação do Departamento de Botânica/IB/UNESP, especialmente à aluna Andréa, às secretárias Dirce e Maria Helena e ao funcionário José Eduardo, pelas contribuições e amizade;

Aos docentes, alunos da Pós-Graduação e funcionários do Departamento de Genética/IB/UNESP, pelas colaborações e amizade, em especial ao aluno do curso de Mestrado, Henrique Campos, pela intensa colaboração nos trabalhos desenvolvidos no laboratório do Departamento;

Ao Professor Dr. Ivan de Godoy Maia, pela importante contribuição no planejamento dos testes desenvolvidos no Departamento de Genética;

Ao Engenheiro Agrônomo Emmanuel Afonso Souza Moraes, Diretor da CATI (Itaberá, SP), e aos seus funcionários pelo fornecimento do material vegetal de pesquisa e pelos serviços prestados durante minha estada nesta repartição;

Aos meus irmãos Lúcio e José e famílias, pelo apoio e estímulo ao curso;

À minha Avó Belinha, pelo amor e incentivo durante todo o curso;

À todos meus familiares que torceram pelo meu sucesso no curso;

Aos colegas e alunos da Pós-Graduação do Departamento de Produção Vegetal/Agricultura: Edwin, Aragão, Bárbara, Eduardo, Patrícia, Moraes, Marcelo, Elza, Rogério, Max e Juliano, pelos momentos de descontração e amizade;

Ao Dr. Antônio de Pádua Sousa, Professor do Departamento de Engenharia Rural - FCA/UNESP, pela convivência e sincera amizade;

Aos funcionários do CEMEQ/UNESP pelo auxílio na manutenção da casa de vegetação;

Enfim, obrigado a todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para que esse sonho se realizasse.

SUMÁRIO

1 RESUMO	1
2 SUMMARY	3
3 INTRODUÇÃO.....	5
4 REVISÃO DE LITERATURA	7
4.1 O pessegueiro	7
4.1.1 Botânica.....	7
4.1.2 Biologia	7
4.1.3 Propagação	9
4.1.3.1 Método convencional.....	9
4.1.3.2 Estaquia	9
4.2 Alguns fatores que influenciam no enraizamento de estacas	10
4.2.1 Cultivar	10
4.2.2 Tipo de estaca	11
4.2.3 Auxinas.....	12
4.2.4 Conjugação das auxinas	14
4.2.5 Fatores moleculares	17
5 MATERIAL E MÉTODOS.....	20
5.1 Instalação dos experimentos	20
5.1.1 Experimento 1	23
5.1.2 Experimento 2	23
5.1.3 Experimento 3	23
5.1.4 Experimento 4	24
5.2 Análise estatística.....	24
5.3 Análise molecular.....	25
5.3.1 Extração do DNA.....	25
5.3.2 Quantificação.....	26
5.3.3 Reação de PCR	27

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO	29
6.1 Método de aplicação do IBA.....	29
6.1.1 Estacas lenhosas	29
6.1.2 Estacas herbáceas	38
6.1.3 Estacas semi-lenhosas	50
6.2 Aplicação de 2,6-di-hidroxiacetofenona	57
6.2.1 Antes da aplicação de 200mg L ⁻¹ de IBA.....	57
6.2.2 Antes da aplicação de 2.500mg L ⁻¹ de IBA.....	62
6.3 Testes moleculares	65
7 CONSIDERAÇÕES FINAIS	67
8 CONCLUSÕES.....	69
9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	70

LISTA DE QUADROS

Quadro		Figura
1	Resumo da análise de variância para os parâmetros analisados no Experimento 1 com estacas lenhosas de cultivares de pessegueiro	30
2	Enraizamento, brotação, mortalidade, formação de calo, número de raízes e comprimento de raiz em estacas lenhosas de pessegueiros tratadas com ácido indol-butírico em diferentes métodos de aplicação	31
3	Regressão polinomial para os níveis do tratamento imersão rápida no enraizamento de estacas lenhosas de pessegueiros tratadas com soluções concentradas de IBA	32
4	Coefficientes de correlação simples entre as variáveis enraizamento e brotação em estacas lenhosas de cultivares de pessegueiro	33
5	Análise de variância para regressão polinomial dos níveis do tratamento imersão rápida na brotação de estacas lenhosas de pessegueiro	33
6	Regressão polinomial para os níveis do tratamento imersão lenta na mortalidade de estacas lenhosas de pessegueiro	35
7	Coefficientes de correlação simples entre as variáveis enraizamento, brotação, formação de calos e mortalidade em estacas lenhosas de cultivares de pessegueiro	36
8	Regressão polinomial para os níveis do tratamento imersão rápida na variável número de raízes em estacas lenhosas de pessegueiro	37
9	Resumo da análise de variância para os parâmetros analisados no Experimento 2 com estacas herbáceas de cultivares de pessegueiro	38
10	Enraizamento, brotação, mortalidade, formação de calo, número de raízes e comprimento de raiz em estacas herbáceas de pessegueiros tratadas com ácido indol-butírico em diferentes métodos de aplicação	39
11	Análise de variância para regressão polinomial dos níveis do tratamento imersão rápida no enraizamento de estacas herbáceas de pessegueiro	40

12	Coeficientes de correlação simples entre as variáveis enraizamento e brotação em estacas herbáceas de cultivares de pessegueiro	43
13	Análise de variância para regressão polinomial dos níveis do tratamento imersão rápida na brotação de estacas herbáceas de pessegueiro	43
14	Coeficientes de correlação simples entre as variáveis enraizamento e mortalidade de estacas herbáceas de cultivares de pessegueiro	44
15	Análise de variância para regressão polinomial dos níveis do tratamento imersão rápida na mortalidade de estacas herbáceas de pessegueiro	45
16	Coeficientes de correlação simples entre as variáveis enraizamento e formação de calos em estacas herbáceas de cultivares de pessegueiro	46
17	Regressão polinomial para os níveis do tratamento imersão rápida na formação de calos em estacas herbáceas de pessegueiro	46
18	Regressão polinomial para os níveis do tratamento imersão rápida no número de raízes de estacas herbáceas enraizadas de pessegueiro	48
19	Regressão polinomial para os níveis do tratamento imersão rápida no comprimento de raízes de estacas herbáceas enraizadas de pessegueiro	48
20	Coeficientes de correlação simples entre as variáveis enraizamento, número e comprimento de raízes em estacas herbáceas de cultivares de pessegueiro	49
21	Coeficientes de correlação simples entre as variáveis percentual de estacas mortas, brotadas, número de raízes e comprimento de raiz em estacas herbáceas de cultivares de pessegueiro	49
22	Resumo da análise de variância para os parâmetros analisados no Experimento 3 para avaliar a aplicação do ácido indol-butírico em estacas semi-lenhosas de cultivares de pessegueiro	50
23	Enraizamento, brotação, mortalidade, formação de calo, número de raízes e comprimento de raiz em estacas semi-lenhosas de pessegueiros tratadas com ácido indol-butírico em diferentes métodos de aplicação	51
24	Regressão polinomial dos níveis do tratamento imersão rápida e imersão lenta nas variáveis avaliadas no experimento 3 com estacas semi-lenhosas de pessegueiro	54

25	Resumo da análise de variância para as variáveis analisadas no Experimento 3 para avaliar a aplicação prévia do 2,6-di-hidroxiacetofenona ao ácido indol-butírico (200mg L ⁻¹) em estacas semi-lenhosas de cultivares de pessegueiro	58
26	Enraizamento, brotação, mortalidade, formação de calo, número de raízes e comprimento de raiz em estacas sesemi-lenhosas de pessegueiro tratadas com 2,6-di-hidroxiacetofenona aplicado previamente ao ácido indol-butírico (200mg L ⁻¹)	59
27	Coefficientes de correlação simples entre as variáveis percentual de estacas enraizadas, número de raízes e comprimento de raiz em estacas semi-lenhosas de cultivares de pessegueiro	62
28	Resumo da análise de variância para as variáveis avaliadas no Experimento 3 para avaliar a aplicação prévia de 2,6-di-hidroxiacetofenona ao ácido indol-butírico (2.500mg L ⁻¹) em estacas semi-lenhosas de cultivares de pessegueiro	63
29	Enraizamento, brotação, mortalidade, formação de calo, número de raízes e comprimento de raiz em estacas sesemi-lenhosas de pessegueiro tratadas com 2,6-di-hidroxiacetofenona aplicado previamente ao ácido indol-butírico (2.500mg L ⁻¹)	64

LISTA DE FIGURAS

Figura	Página
1 Possíveis passos na ação da auxina: (1) auxina se ligando ao seu receptor na membrana plasmática, (2) IAA-receptor interage com outros compostos iniciando uma cadeia de eventos bioquímicos chamados de caminho de tradução do sinal; (3) bomba de próton da membrana plasmática é ativada, acidificando e causando a destruição da parede; (4) síntese e secreção da parede celular são estimulados; (5) proteínas regulatórias migram do citossol para o núcleo; (6) proteínas regulatórias se ligam ao sítio regulatório em um específico gene, estimulando a transcrição; (7) tradução do mRNA regulado pela auxina resulta em proteínas requeridas para crescimento. (adaptado de Taiz & Zeiger, 1991)	18
2 Efeito do ácido indol-butírico no enraizamento de estacas lenhosas de pessegueiro. Médias das cultivares Delicioso Precoce, Jóia 1 e Okinawa	32
3 Estaca lenhosa enraizada e brotada de pessegueiro cv. Okinawa submetida ao tratamento com 2.500mg L ⁻¹ de IBA	34
4 Efeito do ácido indol-butírico na porcentagem de estacas lenhosas de pessegueiro mortas das cultivares Delicioso Precoce e Okinawa	35
5 Efeito do ácido indol-butírico no número de raízes por estaca lenhosa enraizada de pessegueiro. Médias das cultivares Delicioso Precoce, Jóia 1 e Okinawa	37
6 Efeito do ácido indol-butírico no enraizamento de estacas herbáceas de pessegueiro das cultivares Okinawa e Delicioso Precoce	41
7 Estaca herbácea enraizada e brotada de pessegueiro cv. Okinawa submetida ao tratamento com 3.750mg L ⁻¹ de IBA	42
8 Efeito do ácido indol-butírico na porcentagem de estacas herbáceas de pessegueiro mortas das cultivares Okinawa, Delicioso Precoce e Jóia 1	45
9 Efeito do ácido indol-butírico na porcentagem de estacas herbáceas de pessegueiro com calo da cultivar Delicioso Precoce	47

10	Estaca herbácea enraizada e brotada de pessegueiro da cultivar Okinawa submetida ao tratamento com 3.750mg L^{-1} de IBA	53
11	Efeito do ácido indol-butírico no enraizamento de estacas semi-lenhosas de pessegueiro. Médias das cultivares Delicioso Precoce, Jóia 1 e Okinawa	55
12	Efeito do ácido indol-butírico no número de raízes por estaca semi-lenhosa de pessegueiro enraizada. Médias das cultivares Delicioso Precoce, Jóia 1 e Okinawa	55
13	Efeito do ácido indol-butírico no comprimento de raízes por estaca semi-lenhosa de pessegueiro enraizada. Médias das cultivares Delicioso Precoce, Jóia 1 e Okinawa	56
14	Efeito do IBA na brotação em estacas semi-lenhosas de pessegueiro cv. Okinawa. Médias das cultivares Delicioso Precoce, Jóia 1 e Okinawa	57
15	Estaca semi-lenhosa enraizada e brotada de pessegueiro da cultivar Okinawa submetida ao tratamento com 300mg L^{-1} de 2,6-DHAP e 200mg L^{-1} de IBA	60
16	Quantificação das amostras de DNA extraídas de material vegetal (folhas) de pessegueiros das cultivares Delicioso Precoce, Jóia 1 e Okinawa e de amoreira	65
17	Bandas inespecíficas resultantes da reação de PCR utilizando-se a combinação dos “primers” (FORW e REV) de pessegueiros para as amostras de DNA da amoreira (A) e das cultivares Delicioso Precoce (D), Jóia 1 (J) e Okinawa (O)	66

1 RESUMO

Este trabalho teve como objetivo avaliar o potencial de enraizamento de estacas de cultivares de pessegueiro (*Prunus persica* (L.) Batsch) através da aplicação exógena do ácido indol-3-butírico (IBA) e do 2,6-di-hidroxiacetofenona (2,6-DHAP) e do uso do gene *ARRO-1*. As estacas foram coletadas das cultivares Delicioso Precoce, Jóia 1 e Okinawa em três épocas em 2001 (experimentos 1, 2 e 3): junho (estacas lenhosas), setembro (estacas herbáceas) e dezembro (estacas semi-lenhosas). Em todos os experimentos, as estacas foram submetidas aos tratamentos com IBA: imersão rápida (0, 1.250, 2.500 e 3.750mg L⁻¹) por 5 segundos e imersão lenta (0, 100, 200 e 300mg L⁻¹) por 24 horas. Os tratamentos com 2,6-DHAP (0 e 300mg L⁻¹) aplicado previamente ao IBA (200 e 2.500mg L⁻¹) e os estudos moleculares foram realizados somente com estacas semi-lenhosas. Após serem submetidas aos tratamentos, as estacas foram plantadas e colocadas em casa de nebulização por 45 dias. Com estacas lenhosas, o maior percentual de enraizamento (6,1%) foi obtido com o método de imersão rápida. Nas estacas herbáceas, foi obtido com a cultivar Jóia 1 utilizando-se o método de imersão rápida (37,3%). Nas estacas semi-lenhosas, com a cultivar Okinawa (29,0%) e com o método de imersão rápida (9,0%). A aplicação do 2,6-DHAP + 200mg L⁻¹ de IBA em estacas semi-lenhosas da cultivar Okinawa promoveu o maior enraizamento (41,6%). Na aplicação do 2,6-DHAP + 2.500mg L⁻¹ de IBA, não foi observado efeito no enraizamento. Na cultivar Okinawa, o método de imersão rápida e o 2,6-DHAP + 200mg L⁻¹ de IBA se destacaram nos resultados obtidos nas variáveis de maior relevância para a produção de mudas

através de estacas. A metodologia utilizada para verificar a presença do gene *ARRO-1* nos pessegueiros precisa ser otimizada.

INDOLEBUTYRIC ACID, 2,6-DIHYDROXYACETOPHENONE AND *ARRO-1* GENE ON THE ROOTING OF PEACH CUTTINGS. Botucatu, 2002. 83p. Tese (Doutorado em Agronomia/Horticultura) – Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista.

Author: MAURO BRASIL DIAS TOFANELLI

Adviser: JOÃO DOMINGOS RODRIGUES

Co-adviser: CELSO LUIS MARINO

2 SUMMARY

This work aimed to evaluate rooting potential of peach (*Prunus persica* (L.) Batsch) cultivars cuttings through indolebutyric acid (IBA) and 2,6-dihydroxyacetophenone (2,6-DHAP) exogenous application and use of the *ARRO-1* gene. The cuttings were taken from the cultivars Delicioso Precoce, Jóia 1 and Okinawa in three periods in 2001 (experiments 1, 2 and 3): June (hardwood cuttings), September (herbaceous cuttings) and December (semihardwood cuttings). All the cuttings were treated with IBA using two application methods: quick immersion (0, 1250; 2500 and 3750mg L⁻¹) for 5 seconds and slow immersion (0, 100, 200 and 300mg L⁻¹) for 24 hours. The 2,6-DHAP treatments (0 and 300mg L⁻¹), which were applied previously to the IBA (200 and 2500mg L⁻¹), and molecular studies were realized only with semihardwood cuttings. The cuttings were planted and put into the greenhouse during 45 days. The higher rooting percentage (6,1%) was showed with quick immersion in the hardwood cuttings. With cultivar Jóia 1 and quick immersion (37,3%) in the herbaceous cuttings. With cultivar Okinawa (29,0%) and with quick immersion (9,0%) in the semihardwood cuttings. 2,6-DHAP + 200mg L⁻¹ IBA on the cultivar Okinawa showed the best results of rooting (41,6%). 2,6-DHAP + 2500mg L⁻¹ IBA showed no effect on rooting. In the cultivar Okinawa, the quick immersion method and the 2,6-DHAP + 200mg L⁻¹ IBA showed the best results for propagation by cutting. The methodology used in the molecular studies needs to be optimised in order to verify *ARRO-1* gene presence.

Keywords: *Prunus persica*, Rosaceae, vegetative propagation, plant growth regulator, dihydroxyphenol, auxin conjugation, gene presence.

3 INTRODUÇÃO

Dentre as frutíferas de clima temperado, o pessegueiro (*Prunus persica* (L.) Batsch) se destaca na fruticultura mundial, principalmente, pelas propriedades nutritivas e pela apreciação da palatabilidade de seus frutos. O maior produtor mundial nos últimos anos tem sido a China (FAO, 2000). No Brasil, a produção em 2000 foi de 1.824.643.000 frutos de pêssego, tendo como o maior produtor o estado do Rio Grande do Sul (IBGE, 2000).

A propagação do pessegueiro no Brasil baseia-se na enxertia de borbulhas de cultivares-copa em porta-enxertos propagados por sementes. Porém, este método apresenta alguns inconvenientes, como maior tempo e custo para a produção das mudas e risco de segregação entre os porta-enxertos por várias gerações, que poderiam ser atenuados pela propagação por estacas. A estaquia em plantas frutíferas é praticada com sucesso em várias espécies. No entanto, para o pessegueiro não vem sendo utilizado com frequência, devido, principalmente, à baixa capacidade de formar raízes adventícias em estacas e à carência de estudos e de novas técnicas de propagação para esta espécie. A utilização da estaquia para a propagação do pessegueiro auxiliaria em programas de certificação de mudas e na produção em massa de mudas de qualidade. Além disso, possibilitaria a clonagem de plantas melhoradas sem correr o risco de perder as características agronômicas desejáveis por gerações, o que não é garantido no caso da propagação por sementes utilizada para os porta-enxertos de pessegueiro no Brasil. Em solos especiais, como aqueles livres da infestação com nematóides,

a estaquia para a produção de mudas de cultivares-copa, sem a necessidade da enxertia, seria uma técnica fácil, rápida e barata para ser utilizada na composição de novos pomares.

O pessegueiro, além da baixa capacidade de formar raízes adventícias em estacas, apresenta também muita variação no potencial de enraizamento, devido aos muitos fatores que os influenciam. Por conseguinte, algumas técnicas vêm sendo utilizadas com o objetivo de maximizar o percentual de enraizamento, mas os resultados, muitas vezes, não são satisfatórios. Uma das principais técnicas é a aplicação exógena de reguladores vegetais, destacando-se as auxinas e, dentre elas, o ácido indol-butírico (IBA). Porém, os resultados obtidos com a utilização desta técnica têm sido bastante diferenciados. Entre tantas dúvidas remanescentes, cita-se qual seria o método (forma) ideal de aplicação do regulador vegetal para uma determinada situação (espécie, cultivar, tipo de estaca, tipo de regulador e outros fatores).

A utilização de outras técnicas mais ousadas na tentativa de maximizar o enraizamento em estacas também é estudada, como, por exemplo, a aplicação exógena de di-hidroxifenóis em estacas para prevenir a inativação de promotores do enraizamento através da interação destes com outros compostos. Além disso, há o estudo dos mecanismos moleculares envolvidos na indução do enraizamento adventício para a caracterização e identificação de possíveis regiões genômicas e/ou genes envolvidos no processo, bem como, a confecção de marcadores moleculares capazes de auxiliar na escolha de plantas com facilidade de formar raízes em estacas.

O estudo de novas técnicas de propagação por estaca e de aspectos fisiológicos, bioquímicos e genéticos envolvidos no processo de formação de raízes adventícias, contribuiria para melhor entendimento do enraizamento de estacas e serviria de informação para a maximização da capacidade de formação de raízes em estacas de ramos de pessegueiro.

Este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito do ácido indol-butírico e do 2,6-di-hidroxiacetofenona no enraizamento de estacas de ramos de cultivares de pessegueiro e estudar a possibilidade da utilização do gene *ARRO-1* na determinação do potencial genético dos pessegueiros à formação de raízes em estacas.

4 REVISÃO DE LITERATURA

4.1 O pessegueiro

4.1.1 Botânica

O pessegueiro pertence à família Rosaceae, subfamília Prunoidea, tribo Amigdalaceae, gênero *Prunus* e subgênero *Amygdalus*, sendo, *P. persica* variedade *vulgaris*, a principal variedade botânica explorada comercialmente (Sachs & Campos, 1998).

A grande maioria dos gêneros desta família está nas regiões temperadas do hemisfério norte e, no Brasil, é representada por apenas cinco gêneros distribuídos principalmente na região Sul (Antunes et al., 1997). Graças à introdução e à criação de novas cultivares, realizadas principalmente pelo Instituto Agronômico de Campinas (IAC), existem cultivares adaptadas às regiões mais quentes, exigindo número de horas de frio bem menor do que as cultivares plantadas nas regiões de inverno rigoroso (Kluge et al., 2001)

4.1.2 Biologia

É uma planta vigorosa que pode atingir até 8m de altura e inicia sua produção em torno dos três anos de idade (Chalfun & Hoffmann, 1997). Como todas as

frutíferas de clima temperado, o pessegueiro tem a característica de perder suas folhas durante o outono e ficar em repouso vegetativo no inverno. No final do inverno e início da primavera, dependendo da exigência de horas de frio para a quebra da dormência, a planta reinicia o crescimento e desenvolvimento vegetativo, sendo que, a floração e posterior frutificação, ocorrem nos ramos do último surto de crescimento (Antunes et al., 1997).

As raízes são, a princípio, pivotantes; posteriormente, ramificam-se lateralmente, tornando-se numerosas, extensas e pouco profundas. Possuem lenticelas e a zona de exploração vai muito além da projeção da copa, podendo atingir até o dobro dessa superfície. Os ramos são inicialmente verdes, passando a ter, à medida que envelhecem, coloração marrom (Sachs & Campos, 1998).

As folhas são oblongas, lanceoladas, com pecíolo curtos. A cada nó corresponde uma folha, mas em ramos muito vigorosos podem ser encontradas duas ou três folhas por nó. As gemas são formadas nas axilas dos pecíolos das folhas foliares durante todo o período de crescimento dos ramos, podendo ser de lenho (gema vegetativa) ou de flor (gema reprodutiva). É freqüente a presença de uma gema vegetativa franqueada por duas reprodutivas (Sachs & Campos, 1998).

As flores são perfeitas, autoférteis, hermafroditas, de simetria radial, possuindo pólen de alto poder germinativo e aparecem antes das folhas após a quebra da dormência. Para que ocorra a floração, a planta necessita ainda passar por um período de temperaturas inferiores a 7,2°C para superar a fase de repouso, seguido de um acúmulo de temperaturas amenas, após o qual ocorrerá a antese (Sachs & Campos, 1998).

O fruto é uma drupa carnosa, com fino pericarpo, mesocarpo polposo e endocarpo lenhoso. Apresenta forma mais ou menos esférica, podendo ser redonda, cônica, oblata, oblonga, elíptica ou ovalada. A epiderme apresenta coloração creme-esverdeada e amarelo-claro ao alanrajado, podendo aparecer pigmentação de fundo rósea a vermelhada. O pericarpo pode ser livre ou aderente. A polpa pode ser branca ou amarela e ser livre ou aderente ao caroço. O sabor da polpa geralmente é doce-acidulado. O caroço pode apresentar duas, ou mais comumente, uma semente, com a mesma forma do caroço. É uma semente dicotiledônea (Sachs & Campos, 1998).

4.1.3 PROPAGAÇÃO

4.1.3.1 Método convencional

O principal método de propagação do pessegueiro no Brasil é a enxertia por borbulhia, sendo o porta-enxerto propagado por semente (Fachinello et al., 1984; Tofanelli et al., 1997; Biasi et al., 2000; Rufato & Kersten, 2000). No entanto, este método apresenta algumas desvantagens, como maior tempo para a obtenção da muda, maior custo de produção de muda, necessidade de mão-de-obra especializada para realização da enxertia, morte de plantas, falta de adaptação e maior desuniformidade no pomar, já que o pessegueiro, mesmo apresentando baixo índice de polinização cruzada (5%), apresenta risco de segregação genética entre os porta-enxertos oriundos de sementes (Fachinello et al., 1982; Chalfun et al., 1994; Chalfun & Hoffmann, 1997; Tonietto et al., 1997; Tofanelli et al., 2001).

4.1.3.2 Estaquia

A propagação do pessegueiro através de estacas é ainda incipiente no Brasil. Já em outros países, como Estados Unidos, Israel e Itália, esta prática vem sendo utilizada com mais frequência (Chalfun & Hoffmann, 1997). De acordo com Rufato et al. (2000), em Israel a maioria das cultivares apresenta percentuais de enraizamento de estaca satisfatórios, em torno de 90%. Porém no Brasil, os resultados não têm sido tão expressivos.

Alguns fatores contribuem para a obtenção dos baixos percentuais de estacas enraizadas demonstrados pela maioria das cultivares plantadas no Brasil e, dentre eles, destaca-se o baixo e diferenciado potencial genético de enraizamento das cultivares (Rufato et al., 2000). O tipo de estaca, balanço hormonal, estado fisiológico e nutricional da planta, sanidade, oxidação de compostos fenólicos na base das estacas, temperatura, luz, umidade, substrato e condicionamento também podem influenciar no enraizamento (Hartmann et al., 1990; Fachinello et al., 1995).

Fachinello et al. (1995) consideraram que as mudas de pessegueiro obtidas por estacas não necessitariam ser enxertadas e, no campo, apresentam desenvolvimento e produção similares às plantas enxertadas.

4.2 Alguns fatores que influenciam no enraizamento de estacas

4.2.1 Cultivar

O efeito da cultivar na capacidade de formação de raízes em estaca pode ser observado em várias espécies, por serem as cultivares possuidoras de diferentes potenciais de enraizamento. Para Fachinello et al. (1995), a utilização da estaquia é limitada à capacidade de formar raízes das espécies e/ou cultivares utilizadas.

No caso do pessegueiro, esta variação existe; no entanto, na maioria das cultivares, o enraizamento das estacas é quase sempre incipiente (Abrahão & Nogueira, 1983).

Tem-se observado nos trabalhos desenvolvidos para avaliar a capacidade de enraizamento de estacas de pessegueiro uma falta de repetibilidade dos resultados.

Fachinello et al. (1984) demonstraram que a cultivar Capdeboscq foi superior às cultivares Convênio e Diamante, apresentando, respectivamente, 69,4%; 39,3% e 38,8% de estacas enraizadas, quando estas foram coletadas em maio e tratadas com 3.000mg L⁻¹ de ácido indolil-butírico (IBA).

Couvillon & Erez (1980) aplicaram 2.500mg L⁻¹ de IBA em estacas de várias cultivares de pessegueiro plantadas na Georgia (EUA) e também observaram diferença no enraizamento, onde a cultivar Lovel apresentou menor enraizamento (70,0%) e a cultivar Sungold o maior (99,7%).

Kaundal et al. (1993) demonstraram grande variação nos percentuais de enraizamento de estacas entre as cultivares utilizadas quando estudaram o efeito do IBA aplicado nas concentrações de 0, 500, 1.000, 1.500 e 2.000mg L⁻¹. Estes autores observaram enraizamentos de 25,4 a 38,6% na cultivar Flordasun, de 15,4 a 43,2% na Shan-i-Punjab, de 20,6 a 51,8% na Florda Red e de 21,6 a 45,9% na Sharbati.

4.2.2 Tipo de estaca

Hoffmann et al. (1996) consideraram que existem três tipos básicos de estacas: radicular, caulinar (ramos) e foliar. Para as estacas caulinares estes autores consideraram ainda dois tipos: lenhosas e herbáceas. Eles também mencionaram que o tipo de estaca varia de acordo com seu preparo, podendo ser do tipo simples, talão, cruzeta, tanchão e gema. Para Hartmann et al. (1990), os tipos de estacas de ramos são: lenhosas, semi-lenhosas, levemente lenhosas e herbáceas. Estes autores destacaram que quando a espécie apresenta estacas de fácil enraizamento, o tipo preferido é a lenhosa, devido à simplicidade de obtenção e ao baixo custo. Já Fachinello et al. (1995), consideraram que o tipo ideal de estaca varia com a espécie ou, até mesmo, com a cultivar; entretanto, os autores mencionaram que quanto maior a dificuldade de formação de raízes adventícias, maior a necessidade da correta escolha do tipo de estaca. Eles ainda relataram que há várias classificações para o tipo de estaca, estabelecidas por diversos autores, adotando-se diferentes critérios, no entanto, destacaram a seguinte classificação de acordo com a época de coleta: estacas herbáceas, semi-lenhosas e lenhosas.

Trabalhos vêm sendo desenvolvidos para avaliar a influência do tipo de estaca na capacidade de formação de raízes adventícias. Tofanelli (1999) trabalhou com o enraizamento de estacas lenhosas e semi-lenhosas de várias cultivares de pessegueiro e observou que as estacas lenhosas da cultivar Diamante tratadas com 2.000mg L^{-1} de IBA e as estacas semi-lenhosas das cultivares Pérola de Mairinque e Tropical tratadas com 3.000mg L^{-1} de IBA obtiveram os melhores enraizamentos, 73,37%; 63,33% e 60,0%, respectivamente. Este autor demonstrou que as estacas semi-lenhosas, em geral, apresentaram os melhores resultados de enraizamento.

Já Wiesman et al. (1989), citaram trabalhos em que foram obtidos enraizamentos insatisfatórios em estacas semi-lenhosas de pessegueiro cv. Maravilha e que os índices de sobrevivência destas a campo foram baixos.

Dutra & Kersten (1996) estudaram o enraizamento de diferentes tipos de estacas de ameixeira (*Prunus domestica* L.) da cultivar Frontier tratadas com 3.000mg L^{-1}

de IBA e observaram maior enraizamento nas estacas coletadas em janeiro e março (68,22% e 65,99%, respectivamente).

Kersten et al. (1994) obtiveram 94,4% de enraizamento em estacas de ameixeira da cultivar Frontier quando estas foram coletadas em novembro, no entanto, quando foram coletadas em março e janeiro, apresentaram percentuais inferiores, 34,8% e 25,8%, respectivamente.

4.2.3 Auxinas

Os reguladores vegetais desempenham importante papel no crescimento e desenvolvimento das plantas, pois inibem ou estimulam processos fisiológicos, bioquímicos e moleculares nos vegetais. As auxinas, em especial, proporcionam variados efeitos, dependendo da concentração endógena e do local de atuação, tendo uma grande aplicação comercial na agricultura. Podem promover o alongamento de ramos e coleótilos, inibir o alongamento de raízes, promover a divisão celular em ramos e inibir em gemas laterais, influenciar no crescimento de frutos, atrasar a senescência de folhas, estimular a diferenciação de floema e xilema, promover a dominância apical, inibir ou promover a abscisão de folhas e frutos (via etileno), estimular a partenocarpia, atrasar o amadurecimento de frutos e induzir a formação de raízes adventícias (Taiz & Zeiger, 1991; Davies, 1995). Para Taiz & Zeiger (1991), os efeitos das auxinas ainda dependem do estágio de desenvolvimento do tecido ou órgão, da concentração de auxina, do tipo de auxina (natural ou sintética), do envolvimento de outros hormônios vegetais e do uso de tecidos intactos e incisados.

As auxinas são substâncias químicas relacionadas com o ácido indol-3-acético (IAA), principal e primeira auxina a ser identificada. São produzidas principalmente nos tecidos jovens e apresentam transporte polar e basal (Fachinello et al., 1996).

Uma das principais aplicações das auxinas na agricultura é na indução do enraizamento de estacas e, de acordo com Ono & Rodrigues (1996), esta prática vem de longa data, pois desde 1938 Went tinha observado, em estacas de hipocótilo de ervilha (*Pisum sativum* L.) que o tratamento com auxina levou a aumentos no número de raízes formadas. A aplicação exógena de auxinas sintéticas para induzir a formação de raízes adventícias é

bastante praticada para as espécies que apresentam dificuldade de enraizamento (Hoffmann et al., 1996). Blakesley et al. (1991) citaram vários trabalhos, que estudaram o efeito da aplicação exógena de auxinas no enraizamento e em vários destes, o uso de auxina foi eficiente na promoção do enraizamento; no entanto, citaram também trabalhos em que a auxina não foi suficiente para induzir a formação de raízes.

Dentre as auxinas mais utilizadas para promover o enraizamento em estacas, destaca-se o IBA, seja pela sua maior resistência à degradação por ação da luz, ou pela sua maior resistência à inativação por ação biológica (Hoffmann et al., 1996). Ono et al. (1992) utilizaram vários tratamentos para a formação de raízes em estacas de camélia (*Camellia japonica* L.) e observaram que, aqueles que continham IBA, foram mais eficientes na promoção do enraizamento.

Vários são os trabalhos desenvolvidos para avaliar o efeito do IBA no enraizamento de estacas de pessegueiro. Fachinello et al. (1982) obtiveram os maiores percentuais de enraizamento nas estacas de pessegueiro da cultivar Diamante tratadas com 3.000mg L⁻¹ de IBA (48%) e 2.000mg L⁻¹ de IBA (46%), quando os ramos foram dobrados seis meses antes da coleta das estacas.

Tonietto et al. (1997) demonstraram tendência de melhor enraizamento de estacas de pessegueiro cv. Diamante (38%) na concentração de 1.752mg L⁻¹ de IBA.

Tofanelli et al. (1997) obtiveram em estacas semi-lenhosas de pessegueiro da cultivar Pérola de Mairinque máximo de 61,26% de enraizamento e, em estacas lenhosas da cultivar Diamante, máximo de 51,95%, ambas tratadas com 3.000mg L⁻¹ de IBA.

Conforme Fachinello et al. (1995) e Hoffmann et al. (1996) existem, basicamente, três tipos de métodos (formas) de aplicação dos reguladores vegetais: na forma de pó, na forma de solução diluída (até 200mg L⁻¹ em imersão por 2 a 24 horas, consideradas imersão lenta) e na forma de solução concentrada (de 200 a 10.000mg L⁻¹ em imersão por 1 a 5 segundos, consideradas imersão rápida). Ono & Rodrigues (1996) também mencionaram existir estes métodos de aplicação de reguladores vegetais em estacas; no entanto, as concentrações nas soluções diluídas variariam de 0 a 500mg L⁻¹ em imersão por 24 horas e na solução concentrada de 500 a 10.000mg L⁻¹ em imersão por 5 a 10 segundos.

No entanto, o método ideal de aplicação do regulador para cada caso, é quase sempre indefinido, pois varia muito com a espécie e/ou cultivar, tipo de estaca, entre outros fatores.

Higashi & Gonçalves (2000) descreveram diversas formas de aplicação do IBA para o enraizamento de estacas de várias espécies de *Eucalyptus*, mas, mesmo assim, frisaram que não existe uma receita ideal para o uso do regulador para cada espécie deste gênero e que estudos ainda seriam necessários para definir a melhor dosagem e forma de aplicação do regulador vegetal.

Chalfun et al. (1994) trataram estacas de pessegueiro da cultivar Okinawa com soluções diluídas de IBA nas concentrações de 0, 50, 100 e 200mg.L⁻¹ por 24 horas e demonstraram estimativa de 100,0% de enraizamento na concentração de 130,25mg L⁻¹ de IBA.

Biasi et al. (2000) obtiveram em estacas de pessegueiro estimativa de 91,2% de enraizamento com 1.475mg L⁻¹ de IBA na cultivar Ouro e 83,7% na cultivar Coral, bem como de 75% na cultivar Sun Red com 2.000mg L⁻¹ de IBA, utilizando-se imersão por 5 segundos.

4.2.4 CONJUGAÇÃO DAS AUXINAS

Os níveis de auxinas endógenas nas plantas são controlados nos processos metabólicos de síntese, degradação, conjugação e transporte (Taiz & Zeiger, 1991; Tam et al., 2000). Vários são os fatores que controlam estes níveis e, dentre eles, pode-se citar a formação e hidrólise de compostos conjugados, ou seja, formação do IAA conjugado e do IAA livre (Lee & Starratt, 1986; Jarvis, 1986; Normanly & Bartel, 1999).

Venis (1972) já demonstrara que o tratamento de seções de epicótilos de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) com auxina aumentou a síntese de IAA e NAA (ácido naftalenoacético) conjugados com aspartato.

Gaspar & Hofinger (1988) dividiram a conjugação do IAA em duas categorias: uma representada pela conjugação com amino-ácidos e a outra pela conjugação com açúcares ou inositol. Estes autores destacaram que a auxina conjugada, como o indol-3-

acetilaspártato, é largamente distribuída e produz compostos naturais em plantas que não receberam tratamento exógeno com auxina, mas que, a realização do tratamento, induziria a conjugação não-natural.

Muitos estudos são necessários para se chegar a uma concreta conclusão sobre a importância dos efeitos da conjugação das auxinas na iniciação do enraizamento, porém, este processo normalmente favorece a iniciação de raízes adventícias (Haissig, 1986; Heloir et al., 1996). No entanto, a formação de alguns compostos conjugados como o ácido *N*-(indol-3-acetil)-*L*-aspártico (IAAsp) e o ácido *N*-(indol-3-acetil)-*L*-glutâmico (IAGlu) regula os níveis endógenos de auxina livre, sendo estes compostos de difícil hidrólise (Lee & Starratt, 1986; Tam et al., 2000). Epstein et al. (1993a) estudaram a absorção e metabolismo de IBA e IAA em suspensão de cultura de tecido de petúnia (*Petunia hybrida*) e observaram que o IBA foi rapidamente metabolizados em dois compostos que foram identificados como IBA aspartato (IBAAsp) e IBA glicose (IBAGlu).

Nordström et al. (1991) aplicaram IAA e IBA em estacas de ervilha e observaram, por quatro dias, que o IAA promoveu aumento nos níveis internos deste regulador por 24 horas e de IAAsp por 72 horas e que o IBA promoveu aumento nos níveis internos deste regulador e do IBAAsp até o último dia de avaliação (4^a dia).

Para Haissig (1986), a conjugação com os fenólicos pode ainda atuar como uma forma de proteção do IAA da ação da IAA-Oxidase (Ox-IAA). Já para Bartel (1997), o IAA conjugado pode servir como um reservatório de IAA inativo que poderá ser hidrolisado para fornecer à planta o hormônio na forma ativa. Östin et al. (1998) estudaram o metabolismo do IAA em *Arabidopsis* e demonstraram que as formas conjugadas de IAA (IAAsp e IAGlu) não puderam ser hidrolisadas, permanecendo inativas.

Nordström et al. (1991) avaliaram os efeitos da aplicação de IAA e IBA nos níveis endógenos das respectivas auxinas e da conjugação com ácido aspartático durante o enraizamento em estacas de ervilha e observaram que o aumento de IAAsp coincidiu com a diminuição da concentração interna de IAA e que este era muito mais metabolizado pelo ácido aspartático do que o IBA.

Nordström & Eliasson (1991), em estudo para determinar os níveis endógenos de IAA e IAAsp durante o enraizamento de estacas de ervilha, elucidaram que a metabolização e hidrólise da forma conjugada da auxina foi importante para manter a

concentração interna do regulador na zona de regeneração de raiz ideal para formação dos primórdios radiculares. Por outro lado, Epstein et al. (1993b) mencionaram que a conjugação da auxina e posterior incapacidade de hidrolizar o composto conjugado é determinante na dificuldade de formação de raízes em estacas.

Tam et al. (2000) quantificaram o IAA em *Arabidopsis* e relataram que 90% do IAA estava na forma conjugada com amido, 10% conjugado com éster e 1% na forma livre. Já Szein et al. (1999), estudaram o metabolismo da auxina em várias plantas inferiores e demonstraram que em todas elas o percentual de IAA livre foi sempre menor do que o conjugado, variando de 8 a 33%.

Vários trabalhos têm sido desenvolvidos para avaliar a inibição da conjugação do IAA com o uso de ácidos fenólicos em cultura de tecido e em enraizamento de estacas (Bandurski et al., 1995).

Coll et al. (1992) citado por Ono & Rodrigues (1996), consideram dois grupos de ácidos fenólicos: os orto-di-hidroxifenóis e os tri-hidroxifenóis que aumentam a concentração de IAA endógeno através da diminuição da atividade da enzima IAA-oxidase (OxIAA) e os mono-hidroxifenóis que diminuem a concentração de IAA endógeno através do aumento da atividade da OxIAA.

Epstein et al. (1993b) estudaram a utilização de 1,6-DHAP em estacas de cerejeira (*Prunus avium* L.) e observaram que, onde houve baixo enraizamento, o produto não afetou a conjugação e onde houve aumento do enraizamento, o 1,6-DHAP diminuiu a presença de IAA conjugado que, posteriormente, não seria hidrolisado, aumentando assim, a concentração de IAA livre. Os autores ainda demonstraram no mesmo trabalho que o percentual de estacas enraizadas de oliveira (*Olea europaea* L.) cultivar Uovo de Piccione, de difícil enraizamento, aumentou com a aplicação de 300mg L⁻¹ de 1,6-DHAP.

Lee & Starratt (1986) relataram que a aplicação de 2,6-DHAP em talos de *Teucrium canadense* diminuiu a formação de IAAsp em 88%, de IAGlu em 66% e de OxIAA em 50% e aumentou, aproximadamente, em cinco vezes a concentração de IAA livre nestes talos, quando comparado com o controle.

Lee et al. (1981) demonstraram que as di-hidroxiacetofenonas, além de inibirem a atividade da OxIAA, também são inibidores persistentes, pois demonstraram que o 3,4-DHAP permaneceu por mais de 10 minutos no tecido após o tratamento, inibindo a

OxIAA. Já o ácido 3,4-di-hidroxifenilacético persistiu somente até 3 minutos aproximadamente. Resultados semelhantes foram observados por Hangarter & Good (1981), quando estudaram a liberação (hidrólise) lenta de IAAs conjugados em ervilha. Estes autores demonstraram lenta hidrólise do IAA-L-alanina e do IAA-glicina até 48 horas após serem sintetizados, ao passo que, o IAA livre foi rapidamente descarboxilado nas primeiras horas.

Klein et al. (2000) desenvolveram um trabalho para avaliar o efeito da época de coleta e da aplicação exógena de 300mg L^{-1} de 2,6-DHAP em estacas de murta (*Myrtle communis* L.) e constataram que o composto não influenciou no percentual de enraizamento de estacas da cultivar Rehovot e influenciou na cultivar Tzfat, aumentando em 6% o percentual de estacas enraizadas.

4.2.5 Fatores moleculares

O enraizamento de estacas tem sido, algumas vezes, observado como um processo positivamente relacionado com a atividade enzimática ou com o metabolismo específico dependentes da expressão gênica, processos que participam e desempenham importante papel na iniciação dos primórdios radiculares. Porém, este é um ramo da ciência que necessita de muitas confirmações, pois não se sabe definitivamente se os efeitos genéticos são diretos, correlacionados ou regulatórios e nem como eles se manifestam fisiologicamente e bioquimicamente (Haissig & Riemenschneider, 1988; Blakesley & Chaldecott, 1993; Hagen, 1995; Schell et al., 1995; Lund et al., 1997). Para Abel & Theologis (1996), entender os mecanismos moleculares da ação das auxinas é um dos grandes desafios na biologia de plantas. No entanto, para Nakazawa et al. (2001), a indução da expressão de genes pela auxina é bem conhecida.

Um efeito que tem sido bastante estudado, é a ação das auxinas na ativação ou repressão de genes que codificam polipeptídeos envolvidos nos processos bioquímicos relacionados com a formação de raízes adventícias. Guilfoyle et al. (1998) mencionaram que as auxinas atuam como sinais para divisão, extensão e diferenciação durante o ciclo de vida da planta. Estes autores estudaram como as auxinas induzem um gene e concluíram que estes caminhos percorridos no processo precisam ser elucidados. Também

Butter & Gallagher (1999) relataram que a expressão de genes durante a formação de raízes em meristemas é pouco entendida e para Hagen (1995) um dos maiores desafios é determinar a função dos polipeptídeos codificados por genes induzidos pela auxina e definir o papel destes no crescimento. Taiz & Zeiger (1991) resumiram este caminho da ação da auxina através de um diagrama (Figura 1).

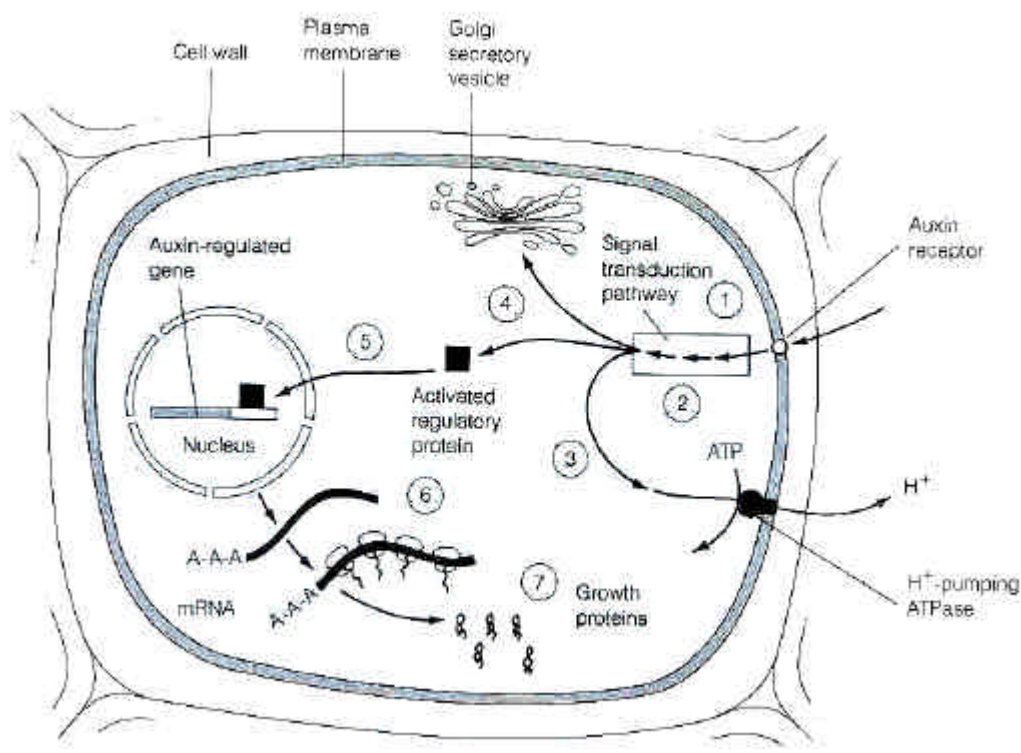


Figura 1. Possíveis passos na ação da auxina: (1) auxina se ligando ao seu receptor na membrana plasmática, (2) IAA-receptor interage com outros compostos iniciando uma cadeia de eventos bioquímicos chamados de caminho de tradução do sinal; (3) bomba de próton da membrana plasmática é ativada, acidificando e causando a destruição da parede; (4) síntese e secreção da parede celular são estimulados; (5) proteínas regulatórias migram do citosol para o núcleo; (6) proteínas regulatórias se ligam ao sítio regulatório em um gene específico, estimulando a transcrição; (7) tradução do mRNA regulado pela auxina resulta em proteínas requeridas para o crescimento. (adaptado de Taiz & Zeiger, 1991). Botucatu, SP, 2002.

Sobretudo, vários trabalhos vêm sendo desenvolvidos neste sentido, relacionando-se a atuação da auxina à ativação de genes. Lund et al. (1997) utilizaram os genes *HRGPnt3*, *iaa4/5* e *gh3*, os quais tinham sido previamente associados com o enraizamento adventício em meristema, para estudar a diferença de expressão gênica em resposta ao tratamento com auxina em estacas de tabaco selvagem (*Nicotiana tabacum* cv. Xanthii) de fácil enraizamento e de tabaco mutante (*rac*) de difícil enraizamento, concluindo que houve diferença na expressão dos genes entre os dois materiais. Hagen (1995) também relatou a ativação do gene *gh3* pela auxina na formação de raízes adventícias.

Chen et al. (1996), em trabalho desenvolvido para caracterizar genes regulados pela auxina em estacas de hipocótilos de feijão-mungo (*Vigna radiata* (L.) Rwigl), demonstraram que a expressão das regiões genômicas clonadas *MII3* e *MII4* foram induzidas pela aplicação de IAA, o que correspondeu com o aumento do enraizamento.

Butter & Gallagher (1999) isolaram e caracterizaram o gene *ARRO-1* (Adventitious Rooting Related Oxygenase) em macieira (*Malus domestica*), determinando que este codifica 2-oxoácido (2-ODD), que é dependente da dioxigenase. Os autores mencionaram que os 2-ODDs tipicamente catalisa reações como a hidroxilação e epoxidação e estão envolvidos em uma variedade de diferentes caminhos biossintéticos, inclusive os do enraizamento. Baseados nos resultados obtidos no trabalho, os autores sugeriram a utilização do gene *ARRO-1* como um possível marcador para identificar espécies lenhosas com fácil e difícil enraizamento de estaca.

Butter & Gallagher (2000), baseados em análises “Southern blot”, relataram que o gene *ARRO-1* isolado em macieira é fortemente hibridizado com vários fragmentos nos genomas de pereira (*Pyrus communis*) e ameixeira, sugerindo que o *ARRO-1* é relativamente conservado em Rosaceae. Os autores demonstraram no mesmo trabalho, através de análises da expressão do gene *ARRO-1* em raiz primária de mudas de maçã, que o gene é altamente regulado na raiz em resposta ao IAA e ao IBA. Mencionaram também que a expressão em raiz primária sugere que o papel do *ARRO-1* pode estar relacionado com a regulação intrínseca dos níveis de auxina natural em tecidos de plantas.

5 MATERIAL E MÉTODOS

5.1 INSTALAÇÃO DOS EXPERIMENTOS

O trabalho foi realizado na Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP), Campus de Botucatu, SP, no período de junho de 2001 a fevereiro de 2002. O município de Botucatu localiza-se na latitude de 22°51 S, longitude 48°2 W Grw, com altitude de 786 metros, tendo seu clima classificado como Cfa (método de Köppen) ou temperado chuvoso constantemente úmido, com verões quentes.

A elaboração, digitação e análises estatísticas foram realizadas no Departamento de Produção Vegetal - Setor Horticultura da Faculdade de Ciências Agronômicas (FCA); a instalação e condução dos experimentos foram realizadas no Departamento de Botânica do Instituto de Biociências (IB) e os testes moleculares foram realizados no Departamento de Genética do IB.

Os experimentos foram realizados em três fases: Experimento 1 (estacas lenhosas), Experimento 2 (estacas herbáceas) e Experimentos 3 e 4 (estacas semi-lenhosas). Em todos os experimentos utilizou-se, para coleta das estacas, ramos de pessegueiro das cultivares-copa Delicioso Precoce e Jóia 1 e do porta-enxerto Okinawa. Os ramos foram obtidos de plantas matrizes com idade média de dez anos do pomar da Estação Experimental da Coordenadoria de Assistência Técnica Integral (CATI), localizada em Itaberá, SP. Este

município possui uma altitude de 641m e clima tropical de altitude e está localizada na latitude 23°25 S e longitude 49°05 W a uma distância de 172Km de Botucatu. Logo após coletados, os ramos foram imediatamente transportados para o IB/UNESP, onde realizou-se o preparo, os tratamentos e o plantio das estacas.

Descrição das cultivares:

a) Delicioso Precoce: é uma cultivar-copa desenvolvida pelo IAC (Campinas, SP) que apresenta baixa exigência de horas de frio; ou seja, menos que 200 horas, alta produtividade, maturação precoce que é indicada para o Sudeste do Brasil. Tem dupla finalidade, ou seja, é indicada para a indústria e mesa. Possui frutos de tamanho médio, de 90 a 120g, polpa branca e solta, agridoce, bom sabor (13⁰ Brix e pH 4,2), coloração de epiderme amarelo-esverdeada com 50 a 60% de coloração vermelho-rosada e caroço aderente (Nakasu et al., 1997; EPAGRI, 1995).

b) Jóia 1: também desenvolvida pelo IAC, esta cultivar-copa apresenta maturação precoce, tamanho de fruto médio a pequeno, de sabor excelente e indicado para mesa, caroço desprendido da polpa, polpa branca e bom sabor (13⁰ Brix e pH 4,1), coloração da epiderme amarelo-creme-esverdeado e apresenta baixa exigência em frio (Penteado, 1986; Steinberg, 1989; Raseira & Nakasu, 1998).

c) Okinawa: é originária da Ilha de Ryuku em Okinawa no Japão, sendo enviada por Henriz Chikasse para um programa de melhoramento da Universidade da Flórida nos Estados Unidos, de onde foi difundida para o mundo, inclusive para o Brasil por volta de 1969 (Nachtigal & Pereira, 2000). Esta cultivar é o porta-enxerto mais utilizado na propagação convencional do pessegueiro em São Paulo e em Minas Gerais, devido, principalmente, à sua resistência a maioria dos nematóides do gênero *Meloidogyne* (Nogueira, 1983; Chalfun & Hoffmann, 1997). É também resistente à bacteriose (Finardi, 1998), cujo agente etiológico é a *Xanthomonas arboricola* pv. *Pruni* (Fortes & Martins, 1998), e sua exigência de frio é estimada em 100 horas (Raseira & Nakasu, 1998). É uma planta que apresenta boa compatibilidade com as cultivares-copa de pessegueiro, porte médio e baixa tolerância à asfixia (Chalfun & Hoffmann, 1997). Esta última característica é uma das principais desvantagens deste porta-enxerto, ficando este limitado a plantios em locais não sujeitos à inundações (Finardi, 1995). Outra desvantagem apresentado por este porta-enxerto é a possibilidade de produção de caroços com sementes duplas (Finardi, 1998).

Também em todos os experimentos foram realizados tratamentos das bases das estacas com ácido indol-butírico (IBA) em dois métodos de aplicação: imersão lenta em soluções diluídas (0, 100, 200 e 300mg L⁻¹ de IBA) por 24 horas em aeração e imersão rápida em soluções concentradas (0, 1.250, 2.500 e 3.750mg L⁻¹ de IBA) por 5 segundos. Antes da imersão das estacas nas soluções de IBA, foi realizado corte das bases das estacas em aproximadamente 2mm para evitar os efeitos da oxidação. O preparo das soluções de IBA foi realizado diluindo-se o regulador na forma de pó em 5ml de álcool comum (98°GL) para as concentrações do tratamento lento e em 20ml de álcool para as concentrações do tratamento rápido, sendo ambas diluições completadas com água destilada até 1L. Antes da realização de todos os tratamentos, cortou-se aproximadamente 2mm da base das estacas para evitar os efeitos da oxidação dos compostos fenólicos na extremidade basal das mesmas.

O plantio das estacas foi realizado em bandejas de poliestireno expandido com vermiculita de textura fina, introduzindo-se 1/3 de seu comprimento no substrato. As estacas plantadas foram então colocadas em casa de nebulização intermitente onde permaneceram por um período de 45 dias, quando foram coletados os dados. Nesta estrutura, a umidade relativa média foi de 80%, a temperatura de 25 ± 2°C e com 50% de sombreamento (sombrite). Durante os experimentos, foram realizadas pulverizações quinzenais com Benlate (Benomyl) a 0,06% para prevenir o ataque de patógenos.

O delineamento experimental adotado foi inteiramente casualizado com três repetições por tratamento e doze estacas por repetição. O esquema fatorial dos experimentos foi 3 × 2, sendo constituído pelas três cultivares de pessegueiro e pelos dois métodos de aplicação de IBA. No experimento 3 foi utilizado também o fatorial 3 × 2 envolvendo as três cultivares e o tratamento com 2,6-di-hidroxiacetofenona (0 e 300mg L⁻¹ de 2,6-DHAP) aplicado previamente ao IBA (200 e 2.500mg L⁻¹).

As variáveis avaliadas nos experimentos foram o percentual de enraizamento; sendo considerada enraizada toda estaca que apresentasse pelo menos um primórdio radicular emitido, percentual de brotação, percentual de estacas mortas, percentual de estacas com calo, o número médio de raízes primárias por estaca enraizada e o comprimento médio da maior raiz por estaca enraizada.

5.1.1 Experimento 1

Neste experimento foram coletados ramos lenhosos em 25 de junho de 2001. O preparo das estacas foi realizado de maneira que apresentassem, aproximadamente, 12cm de comprimento e 7mm de diâmetro, sendo cada estaca cortada na extremidade superior em bisel e na extremidade inferior em corte horizontal. Foram mantidas, no mínimo, quatro gemas por estaca. As estacas lenhosas receberam tratamento com fungicida, mergulhando-as em solução de Benlate a 0,06% durante 1 minuto. Em seguida, realizaram-se os tratamentos com IBA e o plantio.

5.1.2 Experimento 2

Neste experimento foram coletados ramos herbáceos em 12 de setembro de 2001. Durante a coleta, os ramos foram sendo colocados em baldes com água para evitar a desidratação dos mesmos até que se realizassem os tratamentos e plantio. O preparo das estacas foi realizado de maneira que apresentassem, aproximadamente, 12cm de comprimento, 7mm de diâmetro e no mínimo quatro gemas por estaca, sendo cada uma cortada na extremidade superior em bisel e na extremidade inferior em corte horizontal. Foram mantidas duas folhas cortadas ao meio por estaca. Em seguida, realizaram-se os tratamentos com IBA e o plantio. Logo após o plantio, pulverizou-se as estacas com Benlate a 0,06%.

5.1.3 Experimento 3

Neste experimento foram coletados ramos semi-lenhosos em 11 de dezembro de 2001. Durante a coleta, os ramos foram sendo colocados em baldes com água. O preparo das estacas foi realizado de maneira que apresentassem, aproximadamente, 12cm de comprimento e 7mm de diâmetro, mantendo-se um mínimo de quatro gemas por estaca. Devido à infestação excessiva de ferrugem, causada pelo fungo *Transchelia discolor*, não

foram mantidas folhas nas estacas. Após preparadas, as estacas foram tratadas com IBA e depois plantadas. Depois do plantio, foi realizada uma pulverização das estacas com Benlate a 0,06%.

5.1.4 Experimento 4

Neste experimento foram realizados os tratamentos das estacas com 2,6-DHAP, de acordo com metodologia utilizada por Klein et al. (2000). Em 11 de dezembro de 2001, foram coletados ramos semi-lenhosos. O preparo das estacas foi o mesmo utilizado no Experimento 3. Depois de preparadas, as estacas semi-lenhosas tiveram suas bases imersas a 4cm em soluções com 0 (controle) e 300mg L⁻¹ de 2,6-DHAP por 4 horas em aeração, ambas diluídas em 50% de isopropanol. Em seguida, metade das estacas foram tratadas com 200mg L⁻¹ de IBA e outra metade com 2.500mg L⁻¹ de IBA. Depois do plantio, foi realizada uma pulverização das estacas com Benlate a 0,06%.

5.2 Análise estatística

As análises estatísticas foram realizadas separadamente para cada experimento, comparando-se as médias pelo teste de Duncan com nível de significância de 5%. Quando houve diferença significativa entre os resultados obtidos para os métodos de aplicação de IBA em cada variável, foi realizada análise de regressão polinomial linear para estudo do efeito das concentrações do regulador no método que apresentasse o melhor resultado (Pimentel Gomes, 1990). Efetuou-se a transformação dos dados segundo a equação arco seno $\sqrt{x/100}$ para os dados em porcentagem e $\sqrt{x+1}$ para os valores quantitativos. Utilizou-se como ferramenta para processamento das análises estatísticas o “software” Sanest (Zonta & Machado, 1991).

5.3 Análise molecular

5.3.1 EXTRAÇÃO DO DNA

As análises moleculares foram realizadas para verificar a presença e a expressão diferencial do gene *ARRO-1* nas três cultivares de pessegueiro de difícil enraizamento e na amoreira (*Morus* sp) de fácil enraizamento. Para tal, DNA genômico foi extraído de folhas frescas, utilizando-se o método adaptado de extração de DNA – “Método CTAB” (Ferreira & Grattapaglia, 1996), adotando-se os seguintes passos:

- utilizou-se tubos (eppendorfs) de 1,7mL;
- colocou-se nos tubos, em média, amostras de 150mg de folhas jovens congeladas de cada planta;
- as folhas foram maceradas individualmente em nitrogênio líquido (N₂);
- adicionou-se imediatamente em capela de exaustão 700µL de solução de extração com polivinilpirrolidona (PVP) e 2-mercaptoetanol (2µL/mL de solução de extração). Misturou-se com uma espátula para que toda a solução entrasse em contato com o material macerado;
- as amostras foram colocadas então em banho-maria a 65°C por 60 minutos;
- após este período, deixou-se os tubos esfriarem e, em capela de exaustão, realizou-se a primeira extração com 600µL de clorofórmio-álcool isoamílico, na proporção de 24:1 (CIA 24:1). Misturou-se bem a solução com o auxílio de um agitador do tipo “Vortex”, a fim de que o CIA atuasse em todo o tecido macerado;
- em seguida, centrifugou-se a 12000 rpm por 5 minutos a 10°C;
- os tubos foram removidos da centrífuga sem que eles fossem agitados. Das três fases formadas, retirou-se a fase superior para outro tubo de 1,7mL autoclavado. Retirou-se então aproximadamente 450µL desta fase;
- adicionou-se 100µL de brometo de cetiltrimetilamônio 5% (CTAB) em cada tubo e homogeneizou-se levemente cada tubo;
- adicionou-se então, em capela de exaustão, mais 600µL de CIA 24:1 e homogeneizou-se em um agitador do tipo “Vortex”;
- centrifugou-se novamente nas mesmas condições anteriores;

- após centrifugado, removeu-se os tubos sem agitá-los e transferiu-se os sobrenadantes ($\pm 500\mu\text{L}$) para tubos de 1,7mL autoclavados;
- adicionou-se nestes tubos 400 μL de NaCl 5M;
- centrifugou-se novamente nas condições anteriores;
- após centrifugado, os tubos foram removidos sem agitar e transferiu-se os sobrenadantes ($\pm 500\mu\text{L}$) para tubos de 1,7mL novos e autoclavados;
- adicionou-se $\pm 400\mu\text{L}$ de álcool isopropílico, que deve estar a temperatura próxima a 4^oC;
- nesse ponto, as amostras foram incubadas “over-night” a -20^oC;
- no dia seguinte, centrifugou-se nas condições anteriores;
- após centrifugado, retirou-se os sobrenadantes vertendo os tubos em um descarte, tomando-se o cuidado para não descartar os “pellets” depositados no fundo dos tubos.
- lavou-se uma vez cada “pellet” com $\pm 500\mu\text{L}$ de etanol 95% por 3 minutos e, após a lavagem, retirou-se o etanol vertendo os tubos em um descarte;
- os “pellets” foram então secados em centrífuga à vácuo durante 5 minutos;
- os mesmos foram re-suspenso em 50 μL de tampão TE (Tris-HCl 10mM, pH 8,0; EDTA 1mM) contendo 10mg/ μL de RNase;
- incubou-se os “pellets” em banho-maria a 37^oC durante 40 minutos para a digestão do RNA;
- e, finalmente, os DNAs extraídos foram conservados em -20^oC para futuros testes.

5.3.2 QUANTIFICAÇÃO

Para a quantificação do DNA foram aplicados 3 μL das amostras de DNA e 5 μL de solução de carregamento (TE acrescido de 0,25% de azul de bromofenol, 40% sacarose e 2 $\mu\text{L}/\text{mL}$ de brometo de etídeo) em gel de agarose a 0,8%, acompanhadas por marcador molecular (λ DNA - Gibco) de concentração conhecida. O tempo de corrida foi de 40 minutos a 80 volts. O tampão utilizado para preparo do gel e para corrida foi o Tris-Borato-EDTA (TBE) 1X pH 8,0. Foram obtidos cerca de 30ng de DNA/ μL de solução para cada amostra.

5.3.3 REAÇÃO DE PCR

A presença ou não do gene foi avaliada através de teste de PCR (Reação de Polimerização em Cadeia – Mullis & Faloona, 1987) e, para isso, foram desenhados e confeccionados "primers" degenerados, com base na seqüência de nucleotídeos do gene *ARRO-1*, já disponíveis no banco de dados (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>). Os “primers” desenhados foram:

- forward 1: 5' TGG GGN TGY TTY CG^{3'};
- forward 2: 5' TGG GGN TGY TTY AG^{3'};
- forward 3: 5' TGG GGN TGY TTY AC^{3'};
- reverse 1: 5' GC RTC NAC RAA YTC^{3'} e
- reverse 2: 5' GG RTC NAC RAA YTC^{3'}.

A combinação destes “primers” foi então utilizada no teste PCR para o DNA genômico extraído de cada cultivar de pessegueiro e da amoreira. Para as reações os DNAs-mãe foram diluídos em tampão Tris-EDTA (T.E.) pH 8,0 até a concentração de 5ng/μL. Posteriormente foi feita uma corrida de quantificação para confirmar a diluição.

Para cada amostra foi preparado um coquetel de reagentes para a reação baseado no proposto pela Invitrogen[®], contendo:

(Concentração final)

- | | |
|----------------------------|----------------------|
| - Tampão 10x | 1x |
| - Coquetel de nucleotídeos | 0,2mM |
| - Primer (cada) | 0,5mM |
| - Cloreto de Magnésio | 1,5mM |
| - Taq DNA polimerase | 1u |
| - DNA diluído | 10ng |
| - Água miliQ autoclavada | completar para 50 μl |

Dessa forma, para cada espécie estudada havia seis reações, que totalizavam as possíveis combinações entre os primers sintetizados.

Cada amostra com coquetel foi aplicada em um tubo de 0,2 mL, compatível com o termociclador MJ Research/modelo PTC 100TM. Posteriormente, as mesmas foram levadas a um termociclador (MJ Research/modelo PTC 100TM) previamente programado para as condições ideais de temperatura e tempo para a duplicação do DNA *in vitro*. As condições de amplificação foram as seguintes:

- 45 segundos a 94°C (desnaturação);
- 30 segundos a 40°C (anelamento) e
- 1'30" a 72°C (extensão).

A temperatura de anelamento foi baseada na sugerida pelo fabricante dos “primers” (Gibco®). Após 30 repetições desse ciclo o DNA foi submetido a um período de extensão de 10 minutos a 72 °C.

A visualização dos resultados das reações foi feita em gel de agarose 1,5% com tampão Tris-borato (TBE) 1x pH 8,0. Foram misturados 10µL de tampão de carregamento com 10µL de cada reação e aplicados em poços separados no gel. Os fragmentos foram separados através da técnica de eletroforese, a 5 volts/cm de gel.

Após três horas, o resultado da corrida eletroforética foi visualizado através de incidência de luz Ultra Violeta e os sinais capturados pelo programa computacional EagleSight v.3.2, da Stratagene®.

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 MÉTODO DE APLICAÇÃO DO IBA

6.1.1 Estacas lenhosas

No Quadro são demonstrados os resultados da Análise de Variância para os dados das variáveis avaliadas no Experimento 1. Para as variáveis enraizamento, brotação e estacas mortas, não foi constatado efeito significativo nem da cultivar, nem da interação entre os fatores cultivar e método de aplicação do IBA. Todavia, houve efeito do método de aplicação nestas variáveis. Para as variáveis percentual de estacas com calo e número de raízes houve efeito significativo em todas as causas de variação, já na variável comprimento de raiz não houve efeito em nenhum dos fatores e nem da interação.

Quadro 1: Resumo da análise de variância para os parâmetros analisados no Experimento 1 com estacas lenhosas de cultivares de pessegueiro. Botucatu, SP, 2002.

Variáveis	Causas da Variação	Graus de Liberdade	Q.M.
Enraizamento	Cultivar	2	11,44 ns
	Método IBA	1	315,73 *
	Cul x IBA	2	56,96 ns
CV (%)		68,06	
Brotação	Cultivar	2	10,55 ns
	Método IBA	1	307,68 *
	Cul x IBA	2	47,73 ns
CV (%)		16,48	
Estacas mortas	Cultivar	2	10,55 ns
	Método IBA	1	307,68 *
	Cul x IBA	2	47,73 ns
CV (%)		11,22	
Formação de calo	Cultivar	2	436,77**
	Método IBA	1	1120,44**
	Cul x IBA	2	274,17**
CV (%)		51,20	
Número de raízes	Cultivar	2	0,26 *
	Método IBA	1	0,64**
	Cul x IBA	2	0,53**
CV(%)		18,58	
Comprimento de raiz	Cultivar	2	0,02 ns
	Método IBA	1	0,59 ns
	Cul x IBA	2	0,27 ns
CV (%)		24,56	

** teste F significativo ($P < 0,01$)

* teste F significativo ($P < 0,05$)

ns teste F não significativo ($P > 0,05$)

Em função dos resultados obtidos, realizou-se os testes de médias em todas variáveis (Quadro 2). O maior percentual de estacas enraizadas (7,4%) foi obtido com as soluções concentradas. Conforme Hartmann et al. (1990) e Fachinello et al. (1995), as soluções diluídas podem ter sua eficiência comprometida e, conseqüentemente, perder sua atividade, pela influência das variações ambientais durante o tratamento, e isso pode ter ocorrido no presente experimento, pois o ambiente (casa de vegetação) aonde as estacas permaneceram durante o tratamento com as soluções diluídas somente possuía sistema de ventilação. Antunes et al. (1996) também observaram maiores percentuais de estacas semi-

lenhosas enraizadas de pereira (*Pyrus calleryana*) quando utilizaram o método de imersão rápida.

Quadro 2: Enraizamento, brotação, mortalidade, formação de calos, número de raízes e comprimento de raiz em estacas lenhosas de pessegueiros tratadas com ácido indol-butírico em diferentes métodos de aplicação. Botucatu, SP, 2002.⁽¹⁾

Variável	Cultivar	Método de aplicação do IBA		Médias
		Imersão lenta	Imersão rápida	
Enraizamento (%)	Delicioso Precoce	3,3	6,4	4,9
	Jóia 1	1,4	4,6	3,0
	Okinawa	1,4	11,1	6,3
Médias		2,0B	7,4A	
Brotação (%)	Delicioso Precoce	35,8	43,1	39,5
	Jóia 1	39,2	48,7	43,9
	Okinawa	30,5	55,5	43,0
Médias		35,2B	49,1A	
Estacas mortas (%)	Delicioso Precoce	64,2	40,0	52,1
	Jóia 1	58,1	49,5	58,8
	Okinawa	69,5	44,6	57,0
Médias		63,9A	44,7B	
Formação de calos (%)	Delicioso Precoce	0,8aB	29,2aA	15,0
	Jóia 1	3,5aB	13,2bA	8,3
	Okinawa	0,0aA	0,7cA	0,4
Médias		1,4	14,3	
Número de raízes	Delicioso Precoce	1,0aA	0,7bA	0,9
	Jóia 1	0,3aA	0,7bA	0,5
	Okinawa	0,2aB	3,6aA	1,9
Médias		0,5	1,7	
Comprimento de raiz (cm)	Delicioso Precoce	1,2	1,3	1,2
	Jóia 1	0,9	1,6	1,2
	Okinawa	0,3	2,8	1,5
Médias		0,8	1,9	

⁽¹⁾Médias observadas seguidas por letras minúsculas na coluna e maiúsculas na linha, diferem entre si pelo teste Duncan ($P < 0,05$).

Devido ao fato do método de imersão rápida ter proporcionado maior enraizamento, foi realizada análise de regressão polinomial para as dosagens das soluções concentradas utilizadas neste experimento (Quadro 3).

Quadro 3: Regressão polinomial para os níveis do tratamento imersão rápida no enraizamento de estacas lenhosas de pessegueiros tratadas com soluções concentradas de IBA. Botucatu, SP, 2002.

Causas da Variação	Graus de Liberdade	Q.M.
IBA	3	439,46 *
Cul x IBA	6	173,11 ns
Regressão quadrática	1	650,88 *
CV (%)	104,93	

* teste F significativo ($P < 0,05$)

ns teste F não significativo ($P > 0,05$)

Observa-se na Figura 2 a tendência de um máximo 16,4% de estacas enraizadas com $2.393,6 \text{ mg L}^{-1}$ de IBA. Rufato & Kersten (2000) estudando o enraizamento de estacas de pessegueiro, concluíram que a concentração de 2.700 mg L^{-1} de IBA proporciona os melhores percentuais de estacas enraizadas da cultivar Esmeralda.

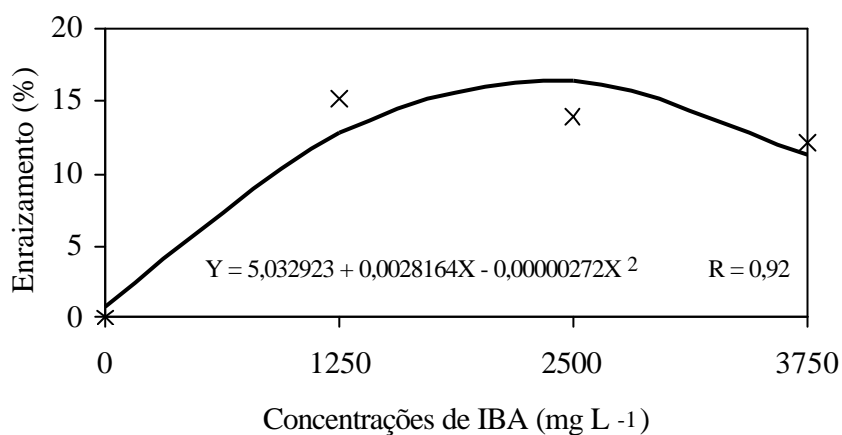


Figura 2: Efeito do ácido indol-butírico no enraizamento de estacas lenhosas de pessegueiro. Médias das cultivares Delicioso Precoce, Jóia 1 e Okinawa. Botucatu, SP, 2002.

Na variável brotação as soluções concentradas demonstraram percentual superior (49,1%) ao das soluções diluídas (35,2%) (Quadro 1). Levando-se em

conta os baixos percentuais de enraizamentos e os percentuais mais acentuados de brotação obtidos no Experimento 1, há indicação que a formação de brotos contribuiu na obtenção das baixas porcentagens de estacas enraizadas. No entanto, esta relação não pôde ser comprovada pela análise de correlação (Quadro 4). Conforme Fachinello et al. (1995) citados por Norberto et al. (2001), a brotação é indesejável quando esta ocorre antes da formação das raízes nas estacas, porque provocaria perda de umidade da estaca sem absorção de água. Além disso, para Chauhan et al. (1997), a emissão de brotos consome reservas, prejudicando o enraizamento.

Quadro 4: Coeficientes de correlação simples entre as variáveis enraizamento e brotação em estacas lenhosas de cultivares de pessegueiro. Botucatu, SP, 2002.

Variáveis	Coeficiente de correlação	Probabilidade > t ⁽¹⁾
Enraizamento × brotação	0,42	0,08

⁽¹⁾ P>0,05.

Não houve efeito significativo das dosagens das soluções concentradas de IBA na formação de brotos nas estacas herbáceas (Quadro 5).

Quadro 5: Análise de variância para regressão polinomial dos níveis do tratamento imersão rápida na brotação de estacas lenhosas de pessegueiro. Botucatu, SP, 2002.

Causas da Variação	Graus de Liberdade	Q.M.
IBA	3	582,12 ns
Cul x IBA	6	206,11 ns
CV (%)		44,48

ns teste F não significativo (P>0,05)

Na Figura 3 é demonstrada uma estaca enraizada e com brotos da cultivar Okinawa tratada com 2.500mg L⁻¹ de IBA.



Figura 3: Estaca lenhosa enraizada e com brotação de pessegueiro cv. Okinawa submetida ao tratamento com 2.500mg L^{-1} de IBA. Botucatu, SP, 2002.

Os maiores percentuais de estacas mortas (63,9%) foram observados com as soluções diluídas (Quadro 1). Verifica-se que as soluções concentradas promoveram maior enraizamento e brotação e menor morte das estacas. A análise de regressão para os níveis de IBA (soluções diluídas) demonstrou efeito significativo do IBA e da interação cultivar \times IBA (Quadro 6).

Quadro 6: Regressão polinomial para os níveis do tratamento imersão lenta na mortalidade de estacas lenhosas de pessegueiro. Botucatu, SP, 2002.

Causas da Variação	Graus de Liberdade	Q.M.
IBA	3	2853,03 **
Cul x IBA	6	840,67 **
Regressão quadrática (Okinawa)	1	994,09 *
Regressão linear (Delicioso Precoce)	1	5197,15 **
CV (%)	27,64	

* teste F significativo (P<0,05)

** teste F significativo (P<0,01)

Observa-se na Figura 4 que a cultivar Delicioso Precoce apresentou tendência de maior mortalidade (84,2%) na concentração de 300mg L⁻¹ de IBA e a cultivar Okinawa um máximo de 85,7% na concentração de 267,3mg L⁻¹ de IBA.

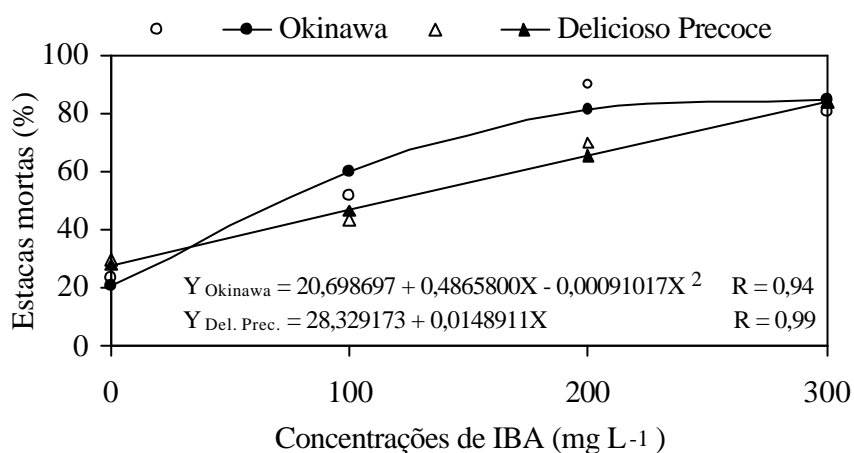


Figura 4: Efeito do ácido indol-butírico na porcentagem de estacas lenhosas de pessegueiro mortas das cultivares Delicioso Precoce e Okinawa. Botucatu, SP, 2002.

Houve efeito dos fatores cultivar, método de aplicação e da interação dos fatores na formação de calo (Quadro 1). A maior formação de estacas com calo (29,2%) ocorreu na cultivar Delicioso Precoce quando elas foram tratadas com soluções concentradas

(Quadro 2). Realizou-se análise de regressão para os níveis do método imersão rápida e não constatou-se efeito das concentrações de IBA e nem da interação cultivar \times IBA. A formação de calo é, muitas vezes, considerada indesejável quando se quer enraizar estacas, devidos aos promotores do enraizamento serem deslocados em benefício da calogênese. Por outro lado, a presença de calo pode ser um indício de rizogênese em estaca, pois conforme Hartmann et al. (1990), raízes adventícias podem surgir a partir do calo. Pacheco et al. (1998) estudaram aspectos anatômicos do enraizamento da videira muscadínia (*Vitis rotundifolia*) e destacaram a importância da calogênese na propagação através de estacas, no entanto, demonstraram que as raízes adventícias sempre surgiram das proximidades do câmbio vascular e não dos meristemas neoformados.

Observou-se no experimento que as estacas mortas, normalmente, eram aquelas que não enraizaram, não brotaram e/ou não formaram calo. No entanto, pela análise de correlação, constatou-se que a relação negativa entre brotação \times mortalidade e calogênese \times mortalidade foram significativas (Quadro 7), ou seja, quanto maior a brotação e a formação de calos, menor foi o percentual de estacas mortas.

Quadro 7: Coeficientes de correlação simples entre as variáveis enraizamento, brotação, formação de calos e mortalidade em estacas lenhosas de cultivares de pessegueiro. Botucatu, SP, 2002.

Variáveis	Coeficiente de correlação	Probabilidade $> t^{(1)}$
Enraizamento \times mortalidade	-0,19	0,54
Brotação \times mortalidade	-0,71	0,001
Calogênese \times mortalidade	-0,62	0,049

⁽¹⁾ $P > 0,05$.

Para a variável número de raízes, observou-se que as estacas da cultivar Okinawa tratadas com as soluções concentradas de IBA apresentaram maior número de raízes (3,6 raízes) (Quadro 2). Através da análise de regressão efetuada para as soluções concentradas, verificou-se que houve efeito significativo das concentrações de IBA do método de imersão rápida, porém a interação cultivar \times IBA não foi significativa (Quadro 8).

Quadro 8: Regressão polinomial para os níveis do tratamento imersão rápida na variável número de raízes em estacas lenhosas de pessegueiro. Botucatu, SP, 2002.

Causas da Variação	Graus de Liberdade	Q.M.
IBA	3	1,05 **
Cul x IBA	6	0,38 ns
Regressão quadrática	1	1,99 **
CV (%)	33,19	

** teste F significativo ($P < 0,01$)

ns teste F não significativo ($P > 0,05$)

Na Figura 5 é demonstrado o efeito das dosagens de IBA utilizadas nas soluções concentradas. Observa-se que houve tendência de um máximo de 1,8 raiz/estaca com 2.310,7mg L⁻¹ de IBA.

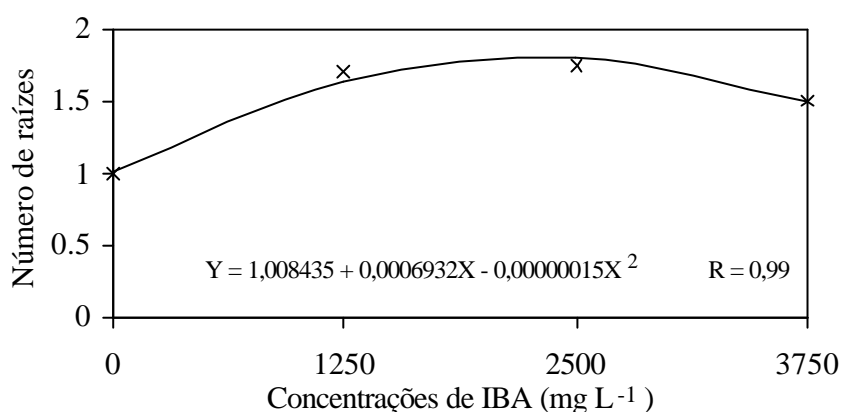


Figura 5: Efeito do ácido indol-butírico no número de raízes por estaca lenhosa enraizada de pessegueiro. Médias das cultivares Delicioso Precoce, Jóia 1 e Okinawa. Botucatu, SP, 2002.

Comparando as Figuras 2 e 5, verifica-se que houve comportamento semelhante entre o enraizamento e número de raízes quanto ao efeito das concentrações de IBA do método de imersão rápida. Nyomora & Mnzana (1982) também demonstraram comportamento similar entre enraizamento e número de raízes em estacas de pessegueiro, pois obtiveram maior número de raízes onde houve maior percentual de estacas enraizadas.

Não houve efeito significativo da cultivar, do método de aplicação do IBA e nem da interação dos fatores no comprimento de raiz.

6.1.2 Estacas herbáceas

No Quadro 9 são demonstrados os resultados da análise de variância das variáveis avaliadas no Experimento 2.

Quadro 9: Resumo da análise de variância para os parâmetros analisados no Experimento 2 com estacas herbáceas de cultivares de pessegueiro. Botucatu, SP, 2002.

Variáveis	Causas da Variação	Graus de Liberdade	Q.M.
Enraizamento	Cultivar	2	92,64 ns
	Método IBA	1	1452,90**
	Cul x IBA	2	177,84 *
CV (%)			30,00
Brotação	Cultivar	2	152,57 *
	Método IBA	1	510,52**
	Cul x IBA	2	37,62 ns
CV (%)			28,80
Estacas mortas	Cultivar	2	374,12**
	Método IBA	1	1119,45**
	Cul x IBA	2	122,35 ns
CV (%)			9,58
Formação de calo	Cultivar	2	76,43 *
	Método IBA	1	265,25**
	Cul x IBA	2	175,18**
CV (%)			33,34
Número de raízes	Cultivar	2	0,38 *
	Método IBA	1	14,61**
	Cul x IBA	2	0,46 *
CV(%)			13,40
Comprimento de raiz	Cultivar	2	0,24 ns
	Método IBA	1	4,07**
	Cul x IBA	2	0,61 *
CV (%)			18,05

** teste F significativo (P<0,01)

* teste F significativo (P<0,05)

ns teste F não significativo (P>0,05)

Na variável enraizamento não houve influência significativa da cultivar, mas houve efeito do método de aplicação e da interação cultivar \times método de aplicação na formação de raízes nas estacas herbáceas de pessegueiro.

De acordo com os resultados obtidos, foram realizados os testes de médias em cada variável (Quadro 10).

Quadro 10: Enraizamento, brotação, mortalidade, formação de calo, número de raízes e comprimento de raiz em estacas herbáceas de pessegueiros tratadas com ácido indol-butírico em diferentes métodos de aplicação. Botucatu, SP, 2002.⁽¹⁾

Variável	Cultivar	Método de aplicação do IBA		Médias
		Imersão lenta	Imersão rápida	
Enraizamento (%)	Delicioso Precoce	3,5aB	16,0bA	9,7
	Jóia 1	2,8aB	37,5aA	20,2
	Okinawa	10,5aA	20,8bA	15,7
Médias		5,6	24,8	
Brotação (%)	Delicioso Precoce	3,5	7,0	5,2b
	Jóia 1	4,2	21,5	12,8a
	Okinawa	7,6	18,8	13,2a
Médias		5,1B	15,7A	
Estacas mortas (%)	Delicioso Precoce	93,8	81,3	87,5a
	Jóia 1	96,5	64,6	80,5a
	Okinawa	75,0	61,8	68,4b
Médias		88,4A	69,2B	
Formação de calo (%)	Delicioso Precoce	0,7bB	10,4aA	5,6
	Jóia 1	3,5aB	15,3aA	9,4
	Okinawa	5,6aA	2,1bA	3,8
Médias		3,3	9,3	
Número de raízes	Delicioso Precoce	0,4aB	5,0cA	2,7
	Jóia 1	0,3aB	11,3aA	5,8
	Okinawa	0,5aB	8,2bA	4,4
Médias		0,4	8,1	
Comprimento de raiz (cm)	Delicioso Precoce	1,3aA	2,5bA	1,9
	Jóia 1	0,4aB	7,0aA	3,7
	Okinawa	1,7aB	5,2abA	3,4
Médias		1,1	4,9	

⁽¹⁾ Médias observadas seguidas por letras minúsculas na coluna e maiúsculas na linha, diferem entre si pelo teste Duncan ($P > 0,05$).

Observa-se que a cultivar Jóia 1 apresentou melhor enraizamento (37,5%) quando as estacas de ambas as cultivares foram tratadas com soluções concentradas de IBA.

Realizou-se regressão polinomial para as soluções concentradas de IBA (Quadro 11). Observando-se que houve efeito significativo das concentrações de IBA no enraizamento de estacas das cultivares Delicioso Precoce e Okinawa.

Quadro 11: Análise de variância para regressão polinomial dos níveis do tratamento imersão rápida no enraizamento de estacas herbáceas de pessegueiro. Botucatu, SP, 2002.

Causas da Variação	Graus de Liberdade	Q.M.
IBA	3	314,84 ns
Cul x IBA	6	734,11**
Regressão quadrática (Delicioso Precoce)	1	1261,44**
Regressão quadrática (Okinawa)	1	1261,44**
CV (%)	49,23	

** teste F significativo ($P < 0,01$)

ns teste F não significativo ($P > 0,05$)

Conforme demonstrado na Figura 6, a cultivar Okinawa apresentou tendência de máximo enraizamento (36,6%) na concentração de $1.735,1 \text{ mg L}^{-1}$ de IBA. Já a cultivar Delicioso Precoce obteve mínimo de 1,3% de estacas enraizadas na concentração de $998,8 \text{ mg L}^{-1}$ de IBA, voltando a incrementar o enraizamento a partir deste ponto até a concentração de 3.750 mg L^{-1} de IBA, onde demonstrou 43,7% de estacas enraizadas. A cultivar Jóia 1 não obteve regressão significativa ao nível de 5% de probabilidade.

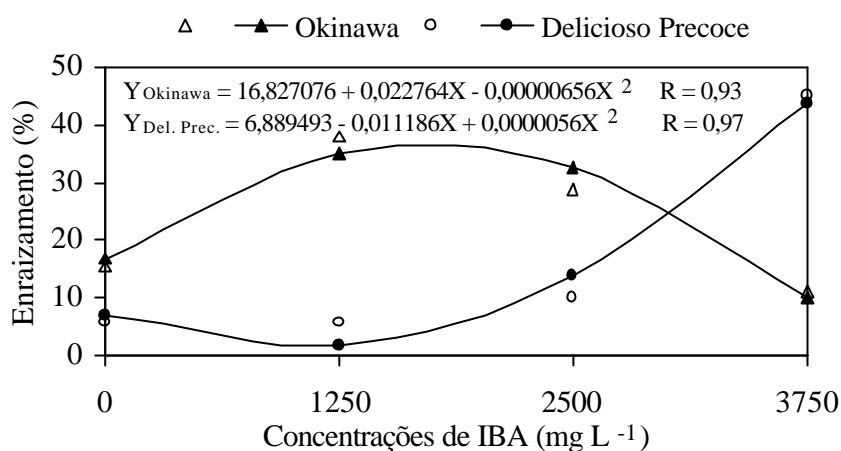


Figura 6: Efeito do ácido indol-butírico no enraizamento de estacas herbáceas de pessegueiro das cultivares Okinawa e Delicioso Precoce. Botucatu, SP, 2002.

As concentrações ideais de auxina nas soluções utilizadas para aplicação exógena em estaca visando aumentar o enraizamento são bastante variáveis e um dos fatores que contribui para esta variação, é a cultivar. Isto pode ser observado na Figura 6, onde as concentrações que proporcionam maiores percentuais de estacas enraizadas variaram de acordo com a cultivar. Tofanelli (1999) também observou resultados diferenciados quanto à concentração de IBA que proporcionou os maiores percentuais de enraizamento em estacas de pessegueiros, pois demonstrou que as cultivares Ouromel, Pérola de Mairinque e Tropical apresentaram máximos de enraizamento com 3.000mg L⁻¹ de IBA (35,33%, 69,0% e 56,67%, respectivamente) e a cultivar Biuti com 2.026,53mg L⁻¹ de IBA (36,78%).

Na Figura 7 é demonstrada uma estaca herbácea enraizada e brotada da cultivar Jóia 1 tratada com 3.750mg L⁻¹ de IBA.



Figura 7: Estaca herbácea enraizada e brotada de pessegueiro cv. Okinawa submetida ao tratamento com 3.750mg L^{-1} de IBA. Botucatu, SP, 2002.

Nas variáveis brotação e morte de estacas, só não houve efeito significativo da interação cultivar \times método de aplicação de IBA (Quadro 9).

A maior brotação de estacas foi observada nas cultivares Okinawa (13,2%) e Jóia 1 (12,8%) e a solução concentrada (15,7%) foi superior à solução diluída (5,1%) (Quadro 10). Considerando o método de aplicação do IBA, observou-se que houve comportamento semelhante entre as porcentagens de enraizamento e brotação, pois, em ambas, obteve-se aumento nos resultados com o método de imersão rápida (Quadro 10). A análise de correlação confirmou a relação positiva entre as duas variáveis (Quadro 12).

Quadro 12: Coeficientes de correlação simples entre as variáveis enraizamento e brotação em estacas herbáceas de cultivares de pessegueiro. Botucatu, SP, 2002.

Variáveis	Coeficiente de correlação	Probabilidade > t ⁽¹⁾
Enraizamento × brotação	0,72	0,001

⁽¹⁾ P>0,05.

Biasi et al. (2000) estudaram a formação de raízes em estacas de cultivares de pessegueiro e nectarineira (*P. persica* var. *nucipersica*) e observaram que as estacas brotadas, geralmente, foram as que enraizaram. Também, Antunes et al. (2000) obtiveram resultados similares em amoreira-preta (*Rubus* spp). Os resultados obtidos no presente trabalho estão em concordância com estes autores, pois se observou que, para o fator cultivar, aquela que apresentou o maior enraizamento (Jóia 1), foi também umas das que demonstrou maior brotação. A relação entre formação de raízes e brotos em estacas é bastante discutida. Alves et al. (1991) mencionaram que as brotações podem ocorrer antes ou após o enraizamento das estacas e Hartmann & Kerstem (1990) citados por Antunes et al. (1996) relataram que é importante ocorrer o enraizamento antes da brotação, pois a brotação antecipada, prejudicaria a formação de raízes em estacas pelo consumo de reservas.

A análise de regressão para os níveis do método de imersão rápida na variável brotação demonstrou que não houve efeito significativo nem do fator IBA nem da interação cultivar × IBA (Quadro 13).

Quadro 13: Análise de variância para regressão polinomial dos níveis do tratamento imersão rápida na brotação de estacas herbáceas de pessegueiro. Botucatu, SP, 2002.

Causas da Variação	Graus de Liberdade	Q.M.
IBA	3	172,10 ns
Cul x IBA	6	409,73 ns
CV (%)	71,38	

ns teste F não significativo (P>0,05).

Para a morte de estacas, as cultivares Delicioso Precoce (87,5%) e Jóia 1 (80,5%) apresentaram maior porcentagem de estacas mortas e a imersão lenta foi a que

apresentou maior porcentagem de estacas mortas (88,4%) (Quadro 10). O causa para a maior morte de estacas herbáceas apresentada pelo método de imersão lenta pode ter sido também devido ao efeito do ambiente sobre as soluções diluídas de IBA e sobre as estacas durante o período de tratamento das mesmas.

As soluções diluídas proporcionaram maior morte de estacas e menor enraizamento (Quadro 10), ou seja, as estacas não enraizadas, normalmente, morreram. Assim, a maior morte de estacas esteve relacionada com menor enraizamento (Quadro 14).

Quadro 14: Coeficientes de correlação simples entre as variáveis enraizamento e mortalidade de estacas herbáceas de cultivares de pessegueiro. Botucatu, SP, 2002.

Variáveis	Coeficiente de correlação	Probabilidade > t ⁽¹⁾
Enraizamento × mortalidade	-0,88	0,00002

⁽¹⁾ P<0,05.

As estacas herbáceas, por serem mais tenras, devem possuir maior sensibilidade à exposição em soluções auxínicas durante maior tempo. É provável que o tratamento das estacas nas soluções diluídas de IBA por um período de 24 horas foi prejudicial à sobrevivência das mesmas, pois, durante o tratamento, as estacas não estavam em condições de alta umidade e isso pode ter contribuído com a perda de água, inibindo a formação de raízes e, posteriormente, levando as estacas à morte.

Para os níveis do método de imersão lenta, houve efeito significativo tanto do fator IBA quanto da interação cultivar × IBA na variável percentual de estacas mortas (Quadro 15).

Quadro 15: Análise de variância para regressão polinomial dos níveis do tratamento imersão rápida na mortalidade de estacas herbáceas de pessegueiro. Botucatu, SP, 2002.

Causas da Variação	Graus de Liberdade	Q.M.
IBA	3	3383,12**
Cul x IBA	6	543,81**
Regressão linear (Jóia 1)	1	633,46 *
Regressão quadrática (Delicioso Precoce)	1	474,60**
Regressão quadrática (Okinawa)	1	4661,49**
CV (%)	12,28	

* teste F significativo (P<0,05)

** teste F significativo (P<0,01)

O efeito das soluções diluídas no percentual de estacas mortas pode ser observado na Figura 8. Nas cultivares Okinawa e Delicioso Precoce houve tendência de comportamento quadrático, demonstrando, as respectivas cultivares, máximos de 97,2% com 200,5mg L⁻¹ e 93,9% com 210,0mg L⁻¹ de IBA. Já a cultivar Jóia 1 apresentou comportamento linear obtendo maior porcentagem de morte na concentração de 300mg L⁻¹ de IBA (94,3%).

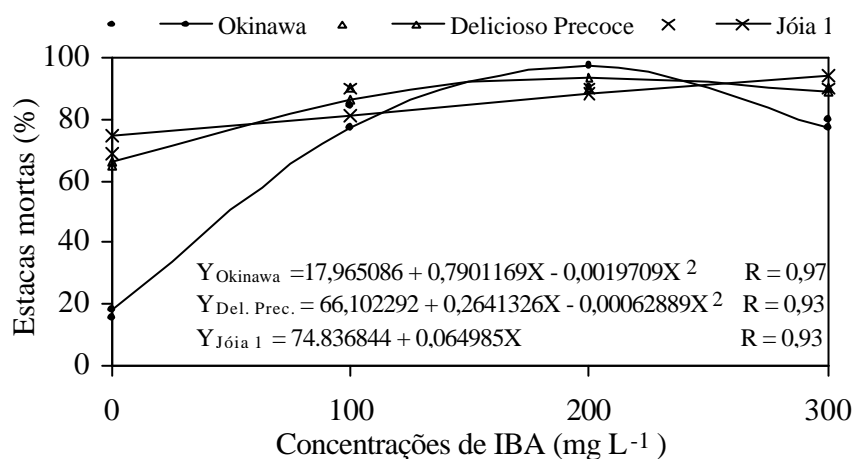


Figura 8: Efeito do ácido indol-3-butírico na porcentagem de estacas herbáceas mortas de pessegueiro das cultivares Okinawa, Delicioso Precoce e Jóia 1. Botucatu, SP, 2002.

A formação de calo e número de raízes foram influenciados pela cultivar, pelo método de aplicação e pela interação destes fatores e o comprimento de raiz pelo método de aplicação e pela interação (Quadro 9). As cultivares Jóia 1 (15,3%) e Delicioso Precoce (10,4%) apresentaram as maiores porcentagens de estacas com calos quando foram tratadas com as soluções concentradas de IBA (Quadro 10). Estacas da cultivar Jóia 1 apresentaram maior porcentagem de enraizamento e, também, maior porcentagem de calejamento. No Quadro 16 é demonstrada a correlação positiva significativa entre a formação de raízes e de calos.

Quadro 16: Coeficientes de correlação simples entre as variáveis enraizamento e formação de calos em estacas herbáceas de cultivares de pessegueiro. Botucatu, SP, 2002.

Variáveis	Coeficiente de correlação	Probabilidade > t ⁽¹⁾
Enraizamento × calogênese	0,64	0,005

⁽¹⁾ P<0,05.

Antunes et al. (2000) observaram o mesmo comportamento em estacas de amora-preta quando obtiveram padrão similar entre enraizamento e formação de calos e mencionaram que estes dois processos se completam. Já Ono et al. (1992) afirmaram que a calogênese não é interessante, pois demonstraram que, os calos formados em estacas de cafeeiro (*Coffea arabica*) não se diferenciaram em raízes.

Observa-se no Quadro 17 que somente a cultivar Delicioso Precoce obteve efeito significativo dos níveis do tratamento imersão rápida.

Quadro 17: Regressão polinomial para os níveis do tratamento imersão rápida na formação de calos em estacas herbáceas de pessegueiro. Botucatu, SP, 2002.

Causas da Variação	Graus de Liberdade	Q.M.
IBA	3	530,94**
Cul x IBA	6	318,82**
Regressão quadrática (Delicioso Precoce)	1	1174,35**
CV (%)	87,51	

** teste F significativo (P<0,01)

Na Figura 9 é demonstrado o efeito das concentrações das soluções concentradas de IBA na formação de calos. Observa-se que as estacas da cultivar Delicioso Precoce não obtiveram formação de calos na concentração de 1.407,4mg L⁻¹ de IBA. No entanto, a partir deste ponto voltaram a incrementar os percentuais até a concentração de 3.750mg L⁻¹ do regulador vegetal (33,7%).

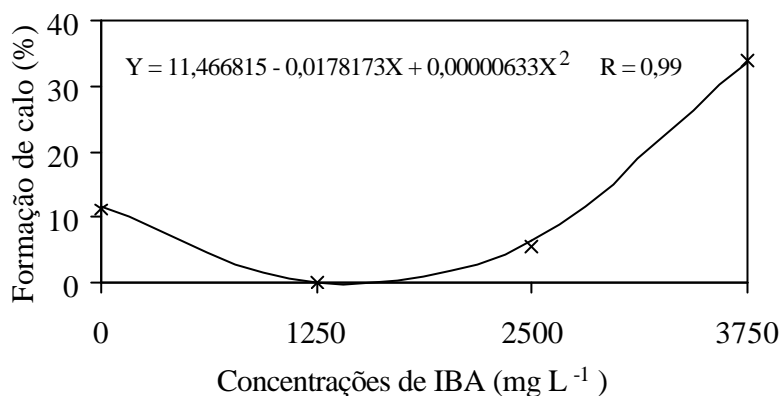


Figura 9: Efeito do ácido indol-butírico na porcentagem de estacas herbáceas de pessegueiro com calos da cultivar Delicioso Precoce. Botucatu, SP, 2002.

Para a variável número de raízes, houve efeito da cultivar, do método de aplicação de IBA e da interação (Quadro 9). O melhor resultado de número de raízes (11,3 raízes) foi obtido com a cultivar Jóia 1 quando as suas estacas foram tratadas com as soluções concentradas de IBA (Quadro 10).

Pela análise de regressão pôde-se observar que não houve efeito significativo nem dos níveis do tratamento imersão rápida e nem da interação destes com o fator cultivar no número de raízes (Quadro 18).

Quadro 18: Regressão polinomial para os níveis do tratamento imersão rápida no número de raízes de estacas herbáceas de pessegueiro. Botucatu, SP, 2002.

Causas da Variação	Graus de Liberdade	Q.M.
IBA	3	2,37 ns
Cul x IBA	6	0,80 ns
CV (%)	40,90	

ns teste F não significativo ($P > 0,05$)

Para a variável comprimento de raiz, não houve efeito da cultivar, mas houve do método de aplicação de IBA e da interação (Quadro 9). O maior comprimento de raiz (7,0cm) foi observado na cultivar Jóia 1, embora esta tenha sido estatisticamente equivalente à cultivar Okinawa (5,2cm), quando foram tratadas com as soluções concentradas de IBA (Quadro 10).

Como tinha acontecido para a variável número de raízes, também não houve efeito das concentrações de IBA do método imersão rápida e da interação cultivar x IBA no comprimento de raiz (Quadro 19).

Quadro 19: Regressão polinomial para os níveis do tratamento imersão rápida no comprimento de raízes de estacas herbáceas enraizadas de pessegueiro. Botucatu, SP, 2002.

Causas da Variação	Graus de Liberdade	Q.M.
IBA	3	0,33 ns
Cul x IBA	6	0,65 ns
CV (%)	34,73	

ns teste F não significativo ($P > 0,05$)

A cultivar Jóia 1 apresentou o melhor resultado para o enraizamento, o maior número de raízes e o maior comprimento de raiz quando suas estacas foram tratadas com soluções concentradas. Assim, observou-se que um maior número de raízes e maior comprimento de raiz estiveram relacionados com um melhor enraizamento. Tal relação foi constatada com a análise de correlação realizada entre as três variáveis (Quadro 20). Sharma & Aier (1989) demonstraram que entre as cultivares de ameixeira (*Prunus* spp) Santa Rosa,

Beauty, Greengage e Early Transparent Gage, foi a primeira que apresentou o maior enraizamento, número e comprimento de raiz.

Quadro 20: Coeficientes de correlação simples entre as variáveis enraizamento, número e comprimento de raízes em estacas herbáceas de cultivares de pessegueiro. Botucatu, SP, 2002.

Variáveis	Coefficiente de correlação	Probabilidade > t ⁽¹⁾
Enraizamento × número de raízes	0,83	0,0001
Enraizamento × comprimento de raiz	0,82	0,0001
Número de raízes × comprimento de raiz	0,90	0,00001

⁽¹⁾ P<0,05.

Tofanelli et al. (2002a) também demonstraram a relação significativa e positiva entre enraizamento, número de raízes e comprimento de raiz quando estudaram o enraizamento de estacas lenhosas e semi-lenhosas de cultivares de ameixeira com várias concentrações de ácido indol-butírico.

É importante ressaltar que, para as estacas herbáceas, observou-se no experimento, em análise visual, que a mortalidade de estacas esteve relacionada com o menor enraizamento, menor brotação, menor formação de calos, menor número de raízes e menor comprimento de raiz. Esta relação negativa pôde ser comprovada através da análise de correlação, embora a correlação entre mortalidade × formação de calos não foi significativa (Quadros 14 e 21).

Quadro 21: Coeficientes de correlação simples entre as variáveis percentual de estacas mortas, brotadas, número de raízes e comprimento de raiz em estacas herbáceas de cultivares de pessegueiro. Botucatu, SP, 2002.

Variáveis	Coefficiente de correlação	Probabilidade > t ⁽¹⁾
Mortalidade × brotação	-0,79	0,0003
Mortalidade × formação de calos	-0,46	0,06
Mortalidade × número de raízes	-0,74	0,001
Mortalidade × comprimento de raiz	-0,81	0,0001

⁽¹⁾ P<0,05.

6.1.3 Estacas semi-lenhosas

No Quadro 22 são demonstrados os resultados da análise de variância nas variáveis avaliadas no Experimento 3. Em todas as variáveis, com exceção da variável percentual de estacas mortas, houve efeito da cultivar e do método de aplicação do IBA. No entanto, não houve efeito da interação. Para a porcentagem de estacas mortas, houve efeito da cultivar e da interação.

Quadro 22: Resumo da análise de variância para os parâmetros analisados no Experimento 3 para avaliar a aplicação do ácido indol-butírico em estacas semi-lenhosas de cultivares de pessegueiro. Botucatu, SP, 2002.

Variáveis	Causas da Variação	Graus de Liberdade	Q.M.
Enraizamento	Cultivar	2	1689,77**
	Método IBA	1	249,92**
	Cul x IBA	2	10,60 ns
CV (%)		30,00	
Brotação	Cultivar	2	502,55**
	Método IBA	1	479,59**
	Cul x IBA	2	95,35 ns
CV (%)		24,21	
Estacas mortas	Cultivar	2	3416,02**
	Método IBA	1	24,21ns
	Cul x IBA	2	211,96**
CV (%)		10,56	
Formação de calos	Cultivar	2	1712,32**
	Método IBA	1	247,53**
	Cul x IBA	2	10,65 ns
CV (%)		22,90	
Número de raízes	Cultivar	2	0,001**
	Método IBA	1	0,22 *
	Cul x IBA	2	0,01 ns
CV(%)		14,12	
Comprimento de raiz	Cultivar	2	0,61**
	Método IBA	1	0,23**
	Cul x IBA	2	0,03 ns
CV (%)		9,30	

** teste F significativo (P<0,01)

* teste F significativo (P<0,05)

ns teste F não significativo (P>0,05)

De acordo com os resultados obtidos, realizou-se os testes de médias para cada variável (Quadro 23).

Quadro 23: Enraizamento, brotação, mortalidade, formação de calo, número de raízes e comprimento de raiz em estacas semi-lenhosas de pessegueiros tratadas com ácido indol-butírico em diferentes métodos de aplicação. Botucatu, SP, 2002.⁽¹⁾

Variável	Cultivar	Método de aplicação do IBA		Médias
		Imersão lenta	Imersão rápida	
Enraizamento (%)	Delicioso Precoce	0	2,1	1,1b
	Jóia 1	0	3,5	1,8b
	Okinawa	25,0	33,4	29,2a
Médias		8,3B	13,0A	
Brotação (%)	Delicioso Precoce	41,0	37,5	39,2c
	Jóia 1	68,7	37,5	52,8b
	Okinawa	78,5	61,3	69,8a
Médias		62,5A	45,4B	
Estacas mortas (%)	Delicioso Precoce	77,1aA	64,6bB	70,8
	Jóia 1	50,7bB	76,7aA	63,2
	Okinawa	6,3cA	6,3bA	6,3
Médias		44,7	48,9	
Formação de calo (%)	Delicioso Precoce	0	2,1	1,1b
	Jóia 1	0	3,5	1,7b
	Okinawa	26,4	34,6	30,6a
Médias		8,8B	13,4A	
Número de raízes	Delicioso Precoce	0	0,7	0,3b
	Jóia 1	0	0,6	0,3b
	Okinawa	2,0	2,4	2,2a
Médias		0,7B	1,2A	
Comprimento de raiz (cm)	Delicioso Precoce	0	0,1	0,1b
	Jóia 1	0	0,6	0,3b
	Okinawa	1,2	2,3	1,7a
Médias		0,4B	1,0A	

⁽¹⁾ Médias observadas seguidas por letras minúsculas na coluna e maiúsculas na linha, diferem entre si pelo teste Duncan ao nível de 5% de significância.

A cultivar Okinawa apresentou maior enraizamento (29,2%), brotação (69,8%), formação de calos (30,6%), número de raízes (2,2 raízes) e comprimento de raiz (1,7cm). Para o método de aplicação, apenas na brotação houve superioridade do tratamento de imersão lenta. A maior formação de brotos obtida nas estacas tratadas com soluções

diluídas, pode também ter sido uns dos fatores que contribuiu para o menor enraizamento demonstrado neste tratamento. Conforme Hartmann & Kersten (1990) citados por Antunes et al. (1996), a brotação antes do enraizamento é prejudicial à formação de raízes nas estacas devido ao consumo de reservas. A maior mortalidade de estacas ocorreu na cultivar Delicioso Precoce com o método de imersão lenta (77,1%) e na cultivar Jóia 1 com o método de imersão rápida (76,7%) (Quadro 23). Verifica-se ainda que, a cultivar Okinawa apresentou as menores taxas de mortalidade, fato este que pode ser explicado pelo maior enraizamento e maior brotação obtido por esta cultivar.

A diferença da capacidade de enraizamento de estacas entre cultivares de pessegueiro é mencionada em diversos trabalhos, como o desenvolvido por Fachinello et al. (1984), que demonstraram serem as cultivares Capdebosq e Convênio superiores à cultivar Diamante quanto à formação de raízes em estacas lenhosas. Como também Okie (1984), demonstrou ser a cultivar de pessegueiro Siberian C (80,0%) superior às cultivares Halford (56,0%) e Lovell (64,0%) quanto à capacidade de enraizamento de estacas retiradas de mudas jovens aos 79 dias. Para Rufato & Kersten (2000), o potencial genético de enraizamento de cada cultivar é a principal explicação para a diferença de percentuais de estacas enraizadas entre as cultivares BR2 e Esmeralda obtida no trabalho. Discordando desses resultados, Dutra et al. (1999) não encontraram diferenças significativas nos percentuais de estacas semi-lenhosas enraizadas entre as cultivares de pessegueiro BR-2, Capdebosq e Diamante.

Embora a aplicação exógena do IBA em estacas, utilizando-se concentrações diluídas seja recomendada, o método de imersão rápida das estacas em soluções concentradas pode proporcionar melhores resultados. Antunes et al. (1996) também obtiveram maior enraizamento quando utilizaram soluções concentradas de IBA em estacas de pereira (*Pyrus calleryana*), em comparação às soluções diluídas. Uma das explicações para estes resultados pode ser o efeito do ambiente durante o tratamento de imersão lenta.

Na Figura 10 é demonstrada uma estaca enraizada e brotada da cultivar Okinawa que recebeu o tratamento com 2.500mg L⁻¹ de IBA.



Figura 10: Estaca herbácea enraizada e brotada de pessegueiro da cultivar Okinawa submetida ao tratamento com 3.750mg L^{-1} de IBA. Botucatu, SP, 2002.

Através da análise de regressão, realizada para verificar o efeito das concentrações nas soluções de IBA no enraizamento, na brotação, na calogênese, no número de raízes e no comprimento de raiz, observou-se efeito do IBA e efeito não significativo da interação cultivar \times IBA (Quadro 24). Para a porcentagem de estacas com brotos, não houve efeito dos níveis do fator IBA (concentrações das soluções diluídas), porém a interação foi significativa.

Quadro 24: Regressão polinomial dos níveis do tratamento imersão rápida e imersão lenta nas variáveis avaliadas no experimento 3 com estacas semi-lenhosas de pessegueiro. Botucatu, SP, 2002.

Variável	Causas da Variação	Graus de Liberdade	Q.M.
Enraizamento	IBA ⁽¹⁾	3	671,48**
	Cul x IBA	6	240,11ns
	Regressão linear	1	1595,25**
	CV (%)	72,82	
Brotação	IBA ⁽²⁾	3	82,80 ns
	Cul x IBA	6	261,52 *
	Regressão linear (Okinawa)	1	501,80 *
	CV (%)	21,94	
Formação de calos	IBA ⁽¹⁾	3	88,00 ns
	Cul x IBA	6	133,50 ns
	CV (%)	67,61	
Número de raízes	IBA ⁽¹⁾	3	0,49 *
	Cul x IBA	6	0,139 ns
	Regressão linear	1	1,22 *
	CV (%)	28,66	
Comprimento de raiz	IBA ⁽¹⁾	3	0,48**
	Cul x IBA	6	0,23 ns
	Regressão quadrática	1	0,45 *
	CV (%)	22,80	

⁽¹⁾ concentrações de IBA do método de aplicação imersão rápida.

⁽²⁾ concentrações de IBA do método de aplicação imersão lenta.

** teste F significativo (P<0,01)

* teste F significativo (P<0,05)

ns teste F não significativo (P>0,05)

O maior enraizamento (23,1%) e o maior número de raízes (1,7 raiz) foram obtidos com 3.750mg L⁻¹ e o maior comprimento de raiz (1,53 cm) foi obtido com 2.757,1mg L⁻¹ de IBA (Figuras 11, 12 e 13 respectivamente). Na variável percentual de formação de calo, não houve efeito nem do IBA e nem da interação.

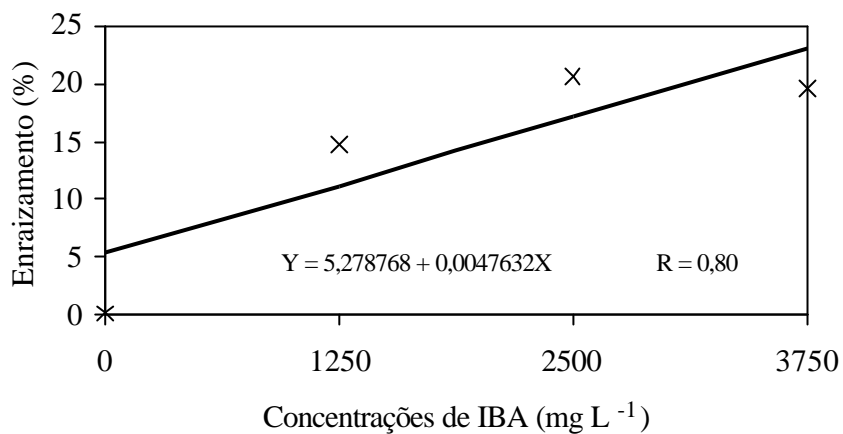


Figura 11: Efeito do ácido indol-butírico no enraizamento de estacas semi-lenhosas de pessegueiro. Médias das cultivares Delicioso Precoce, Jóia 1 e Okinawa. Botucatu, SP, 2002.

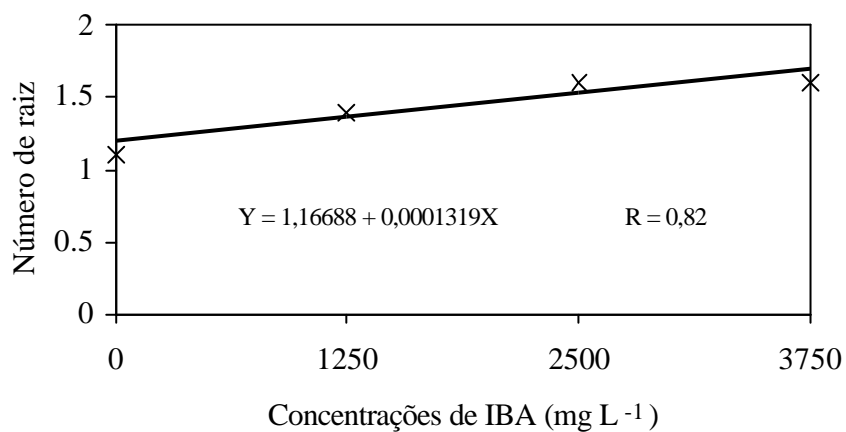


Figura 12: Efeito do ácido indol-butírico no número de raízes por estaca semi-lenhosa de pessegueiro enraizada. Médias das cultivares Delicioso Precoce, Jóia 1 e Okinawa. Botucatu, SP, 2002.

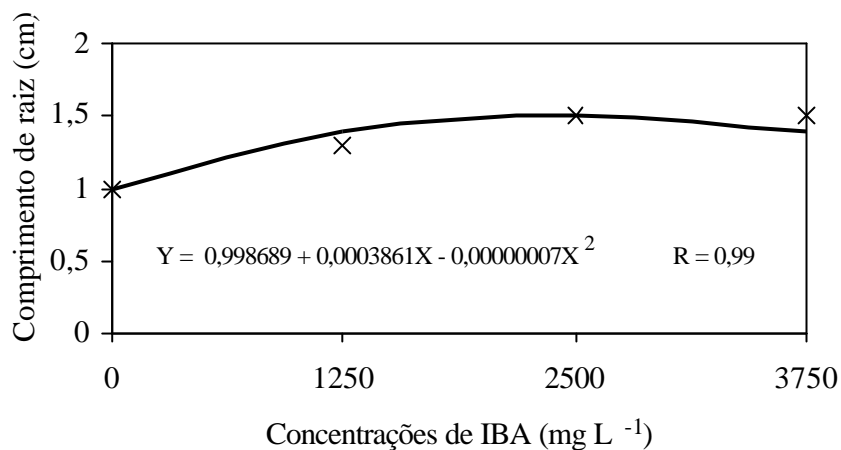


Figura 13: Efeito do ácido indol-butírico no comprimento de raízes por estaca semi-lenhosa de pessegueiro enraizada. Médias das cultivares Delicioso Precoce, Jóia 1 e Okinawa. Botucatu, SP, 2002.

Observa-se nas Figuras 11 e 12 que houve incremento linear do enraizamento e do número de raízes com o aumento das concentrações de IBA. Tofanelli et al. (2002b) também obtiveram aumento linear do enraizamento e do número de raízes até a concentração de 3.000mg L⁻¹ de IBA nas cultivares de pessegueiro Pérola de Mairinque, Ouromel e Tropical.

Para a variável estacas com brotação, apenas a cultivar Okinawa obteve efeito significativo das concentrações de IBA, tendendo a apresentar um máximo de 73,0% de brotação na concentração de 140,0mg L⁻¹ de IBA (Figura 14).

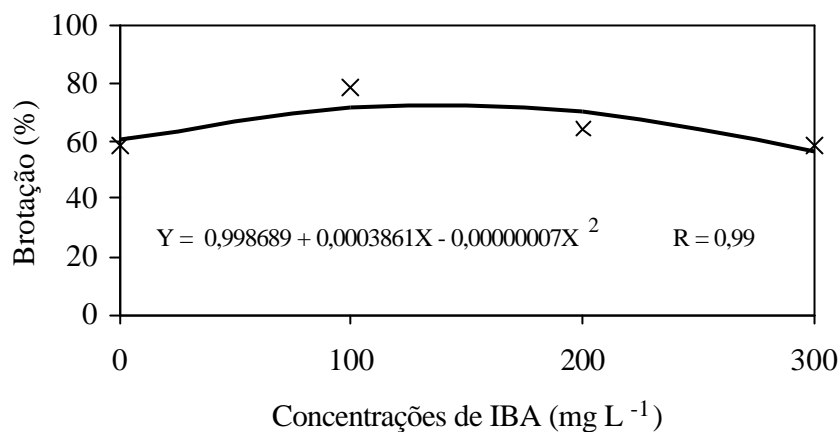


Figura 14: Efeito do IBA na brotação em estacas semi-lenhosas de pessegueiro cv. Okinawa. Médias das cultivares Delicioso Precoce, Jóia 1 e Okinawa. Botucatu, SP, 2002.

De um modo geral, os melhores resultados, para as variáveis de maior relevância para produção de mudas por estaquia avaliadas no experimento com estacas semi-lenhosas, foram observados com estacas da cultivar Okinawa com o método de imersão rápida. Antunes et al. (1996) também demonstraram em estacas de pereira melhores resultados de enraizamento com o método de imersão rápida em comparação com o método de imersão lenta.

6.2 APLICAÇÃO DE 2,6-di-hidroxiacetofenona

6.2.1 ANTES DA APLICAÇÃO DE 200mg L⁻¹ de IBA

No Quadro 25 são apresentados os resultados da análise de variância das variáveis avaliadas no Experimento 3.

Quadro 25: Resumo da análise de variância para as variáveis analisadas no Experimento 3 para avaliar a aplicação prévia do 2,6-di-hidroxiacetofenona ao ácido indolbutírico (200mg L^{-1}) em estacas semi-lenhosas de cultivares de pessegueiro. Botucatu, SP, 2002.

Variáveis	Causas da Variação	Graus de Liberdade	Q.M.
Enraizamento	Cultivar	2	1845,93**
	2,6-DHAP	1	597,68**
	Cult × 2,6-DHAP	2	597,68**
CV (%)		57,99	
Brotação	Cultivar	2	8356,32**
	2,6-DHAP	1	374,73 *
	Cult × 2,6-DHAP	2	94,48 ns
CV (%)		21,50	
Estacas mortas	Cultivar	2	12927,86**
	2,6-DHAP	1	32,32 ns
	Cult × 2,6-DHAP	2	32,32 ns
CV (%)		10,14	
Formação de calo	Cultivar	2	2429,01**
	2,6-DHAP	1	47,04 ns
	Cult × 2,6-DHAP	2	47,04 ns
CV (%)		53,86	
Número de raízes	Cultivar	2	0,72**
	2,6-DHAP	1	0,43**
	Cult × 2,6-DHAP	2	0,43**
CV (%)		17,12	
Comprimento de raiz	Cultivar	2	0,19**
	2,6-DHAP	1	0,06 *
	Cult × 2,6-DHAP	2	0,06 *
CV (%)		9,81	

** teste F significativo ($P < 0,01$)

* teste F significativo ($P < 0,05$)

ns teste F não significativo ($P > 0,05$)

De acordo com os resultados obtidos, foi realizado o teste de médias em cada variável (Quadro 26).

Quadro 26: Enraizamento, brotação, mortalidade, formação de calo, número de raízes e comprimento de raiz em estacas semi-lenhosas de pessegueiro tratadas com 2,6-di-hidroxiacetofenona aplicado previamente ao ácido indol-butírico (200mg L^{-1}). Botucatu, SP, 2002.⁽¹⁾

Variável	Cultivar	2,6-DHAP (mg L^{-1})		Médias
		0	300	
Enraizamento (%)	Delicioso Precoce	0aA	0bA	0
	Jóia 1	0aA	0bA	0
	Okinawa	2,8aB	41,7aA	22,2
	Médias	0,9	13,9	
Brotação (%)	Delicioso Precoce	16,7	5,5	11,1b
	Jóia 1	0	0	0c
	Okinawa	94,5	80,6	87,5a
	Médias	37,1A	28,7B	
Estacas mortas (%)	Delicioso Precoce	100,0	100,0	100,0a
	Jóia 1	100,0	100,0	100,0a
	Okinawa	8,3	2,8	5,5b
	Médias	67,6	69,4	
Formação de calo (%)	Delicioso Precoce	0	0	0b
	Jóia 1	0	0	0b
	Okinawa	41,7	25,0	33,3a
	Médias	13,9	8,3	
Número de raízes	Delicioso Precoce	0bA	0bA	0
	Jóia 1	0bA	0bA	0
	Okinawa	0,3aB	3,4aA	1,9
	Médias	0,1	1,1	
Comprimento de raiz (cm)	Delicioso Precoce	0aA	0bA	0
	Jóia 1	0aA	0bA	0
	Okinawa	0,3aB	1,2aA	0,8
	Médias	0,1	0,4	

⁽¹⁾ Médias observadas seguidas por letras minúsculas na coluna e maiúsculas na linha, diferem entre si pelo teste Duncan ao nível de 5% de significância.

Verifica-se que o enraizamento foi influenciado pela cultivar, pelo 2,6-DHAP e pela interação cultivar \times 2,6-DHAP (Quadro 25). Através do desdobramento da interação, pôde-se observar que o maior enraizamento foi obtido com a cultivar Okinawa utilizando-se 300mg L^{-1} de 2,6-DHAP antes da aplicação de 200mg L^{-1} de IBA (41,7%). Epstein et al. (1993b) obtiveram aumento de 30% de estacas enraizadas de oliveira de baixa

capacidade de formação de raízes, quando aplicaram 1,6-DHAP (300mg L^{-1}) e de IBA 0,8%, contra 15% de aumento no enraizamento nas estacas que foram tratadas somente com IBA.

Na Figura 15 é demonstrada uma estaca semi-lenhosa enraizada e brotada de pessegueiro da cultivar Okinawa submetida ao tratamento com 2,6-DHAP e IBA.



Figura 15: Estaca semi-lenhosa enraizada e brotada de pessegueiro da cultivar Okinawa submetida ao tratamento com 300mg L^{-1} de 2,6-DHAP e 200mg L^{-1} de IBA. Botucatu, SP, 2002.

Epstein et al. (1993b) também estudaram o enraizamento em estacas de cerejeira tratadas com 1,6-DHAP + IBA e mencionaram que a baixa capacidade de formação de raízes obtida na cultivar com dificuldade de enraizamento, estava relacionada à lenta taxa de absorção de IBA, o que prejudicou a concentração endógena do regulador e a formação do IBA conjugado (reservatório de auxina), e com a incapacidade em hidrolizar a auxina conjugada. Os autores observaram que, tanto a cultivar de fácil quanto a de difícil

enraizamento, metabolizaram IBA conjugado até 2 dias após o tratamento e, após o quarto dia, apenas na de fácil enraizamento houve hidrólise, fornecendo IBA e favorecendo a formação de raízes. Estes autores observaram que, após 2 dias do tratamento com IBA, não se detectou presença visível de IBA nas estacas, voltando a reaparecer no quarto dia nas estacas de fácil enraizamento

Conforme Klerk et al. (1995), que estudaram as fases do enraizamento em estacas de macieira, a formação de raízes adventícias em estacas é dividida em três fases: desdiferenciação, a qual ocorre de 0 a 24 horas após o tratamento com auxina; indução, de 24 a 72 ou 96 horas e diferenciação, após 72 ou 96 horas. Sendo assim, a baixa média geral de enraizamento, obtida no presente trabalho, pode estar relacionada com a pouca quantidade de IBA absorvido pelas estacas; prejudicando a desdiferenciação, e com a pouca formação de IBA conjugado e, posterior, incapacidade hidrolítica, prejudicando a indução e diferenciação. Uma explicação para o aumento do enraizamento observado na cultivar Okinawa, obtido quando aplicou-se o 2,6-DHAP, pode ser que o produto inibiu a conjugação da auxina, disponibilizando maior nível endógeno de IBA livre, conseqüentemente, induzindo e favorecendo o enraizamento.

Para a variável brotação observou-se efeito dos fatores cultivar e do 2,6-DHAP, porém não houve efeito da interação (Quadro 25). A cultivar Okinawa (87,5%) foi a que apresentou maior percentual de estacas brotadas e as estacas que não foram tratadas com 2,6-DHAP demonstraram maior brotação (37,1%) (Quadro 26). A aplicação de 2,6-DHAP não favoreceu a formação de brotações.

Nas variáveis porcentagem de estacas mortas e com calo, somente houve efeito da cultivar, onde houve morte de todas as estacas das cultivares Delicioso Precoce e Jóia 1 e maior formação de calos na cultivar Okinawa (33,3%). A menor mortalidade obtida na cultivar Okinawa pode ser explicado pelo maior enraizamento, maior brotação e formação de calos demonstrados por esta cultivar, já que estes fenômenos desencadeiam processos fisiológicos e metabólicos, mantendo as estacas vivas.

Observa-se nos Quadros 25 e 26 que as variáveis número e comprimento de raízes demonstraram comportamento semelhante ao do enraizamento, pois houve efeito significativo da interação e foi também a cultivar Okinawa que apresentou maior

número de raízes (3,4 raízes) e maior comprimento (1,2cm). Esta relação pôde ser demonstrada pela correlação significativa entre as variáveis (Quadro 27).

Quadro 27: Coeficientes de correlação simples entre as variáveis percentual de estacas enraizadas, número de raízes e comprimento de raiz em estacas semi-lenhosas de cultivares de pessegueiro. Botucatu, SP, 2002.

Variáveis	Coefficiente de correlação	Probabilidade > t ⁽¹⁾
Enraizamento × número de raízes	0,93	0,000001
Enraizamento × comprimento de raiz	0,82	0,000001
número de raízes × comprimento de raiz	0,86	0,000001

⁽¹⁾ P<0,05.

Tonietto et al. (2001) também observaram em estudo do enraizamento de estacas de ameixeira, que a cultivar Pluma 7 demonstrou maior percentual de estacas enraizadas, maior número de raízes e maior comprimento de raiz em comparação com a cultivar Reubennel.

6.2.2 ANTES DA APLICAÇÃO DE 2.500mg L⁻¹ de IBA

No Quadro 28 são demonstrados os resultados da análise de variância das variáveis avaliadas no Experimento 3. Observa-se que nas variáveis enraizamento, morte de estacas, formação de calos, número de raízes e comprimento de raiz houve somente influência do fator cultivar. O efeito não significativo nas variáveis do 2,6-DHAP + 2.500mg L⁻¹ de IBA, pode ser explicado pelo fato de que o tratamento com soluções concentradas de IBA, mesmo sem a aplicação de 2,6-DHAP, foi suficiente para induzir o enraizamento, igualando estatisticamente os dois tratamentos.

Quadro 28: Resumo da análise de variância para as variáveis avaliadas no Experimento 3 para avaliar a aplicação prévia de 2,6-di-hidroxiacetofenona ao ácido indol-butírico (2.500mg L^{-1}) em estacas semi-lenhosas de cultivares de pessegueiro. Botucatu, SP, 2002.

Variáveis	Causas da Variação	Graus de Liberdade	Q.M.
Enraizamento	Cultivar	2	2213,08**
	2,6-DHAP	1	87,81 ns
	Cult × 2,6-DHAP	2	23,59 ns
CV (%)		57,29	
Brotação	Cultivar	2	2772,06**
	2,6-DHAP	1	67,04 ns
	Cult × 2,6-DHAP	2	312,32**
CV (%)		19,23	
Estacas mortas	Cultivar	2	11655,27**
	2,6-DHAP	1	357,62 ns
	Cult × 2,6-DHAP	2	13,01 ns
CV (%)		17,11	
Formação de calo	Cultivar	2	5358,85**
	2,6-DHAP	1	211,80 ns
	Cult × 2,6-DHAP	2	7,36 ns
CV (%)		38,84	
Número de raízes	Cultivar	2	1,09**
	2,6-DHAP	1	0,30 ns
	Cult × 2,6-DHAP	2	0,08 ns
CV (%)		19,36	
Comprimento de raiz	Cultivar	2	0,87**
	2,6-DHAP	1	0,17 ns
	Cult × 2,6-DHAP	2	0,07 ns
CV (%)		24,72	

** teste F significativo ($P < 0,01$)

* teste F significativo ($P < 0,05$)

ns teste F não significativo ($P > 0,05$)

No Quadro 29 são apresentados os resultados obtidos através do teste de médias realizado para todas as variáveis avaliadas baseando-se na análise de variância.

Quadro 29: Enraizamento, brotação, mortalidade, formação de calo, número de raízes e comprimento de raiz em estacas semi-lenhosas de pessegueiro tratadas com 2,6-di-hidroxiacetofenona aplicado previamente ao ácido indol-butírico (2.500mg L⁻¹). Botucatu, SP, 2002.⁽¹⁾

Variável	Cultivar	2,6-DHAP (mg L ⁻¹)		Médias
		0	300	
Enraizamento (%)	Delicioso Precoce	0	2,8	0 b
	Jóia 1	0	0	0 b
	Okinawa	27,8	38,9	33,3a
	Médias	9,3	13,9	
Brotação (%)	Delicioso Precoce	19,5bA	25,0bA	22,2
	Jóia 1	19,5bA	2,8cB	11,1
	Okinawa	66,7aA	75,0aA	70,8
	Médias	34,3	35,2	
Estacas mortas (%)	Delicioso Precoce	91,7	97,2	94,5a
	Jóia 1	88,9	97,2	93,1a
	Okinawa	0	2,8	1,4b
	Médias	65,7	60,2	
Formação de calo (%)	Delicioso Precoce	0,9	0	1,4b
	Jóia 1	0,9	0	1,4b
	Okinawa	72,2	58,3	65,3a
	Médias	25,9	19,4	
Número de raízes	Delicioso Precoce	0	1,0	0,5b
	Jóia 1	0	0	0 b
	Okinawa	1,5	3,1	2,3a
	Médias	1,4	0,5	
Comprimento de raiz (cm)	Delicioso Precoce	1,4	0	0,7b
	Jóia 1	0	0	0 b
	Okinawa	2,4	1,8	2,1a
	Médias	0,6	1,3	

⁽¹⁾ Médias observadas seguidas por letras minúsculas na coluna e maiúsculas na linha, diferem entre si pelo teste Duncan ao nível de 5% de significância.

A cultivar Okinawa obteve os melhores resultados de enraizamento (33,3%), de estacas mortas (1,4%), de formação de calo (65,3%), de número de raízes (2,3 raízes) e de comprimento de raiz (2,1cm). Para a variável brotação, o desdobramento da interação demonstrou maior percentual de estacas brotadas na cultivar Okinawa tratadas com 2,6-DHAP (75,0%), embora tenha sido estatisticamente equivalente às estacas não tratadas (66,7%).

Klein et al. (2000) não obtiveram aumento de enraizamento quando trataram estacas de murta com $306,32\text{mg L}^{-1}$ de 2,6-DHAP por 4 horas em aeração e depois com 8% de IBA em talco e mencionaram que o tempo de exposição à solução de 2,6-DHAP pode ter sido inadequado para o substancial aumento de enraizamento.

Com os resultados obtidos neste experimento, observou-se que a aplicação do 2,6-DHAP não foi uma prática adequada quando se utiliza o método de imersão rápida de estacas em soluções concentradas de IBA, pois não foi eficiente na promoção do enraizamento adventícios nas estacas semi-lenhosas.

6.3 Testes moleculares

O DNA das diferentes amostras foi extraído apresentando concentração entre 10 e 30 ng/ μl de DNA, conforme pode ser visto na Figura 16. As reações de PCR das amostras estudadas com os diferentes “primers” testados foram feitas seguindo o protocolo proposto.

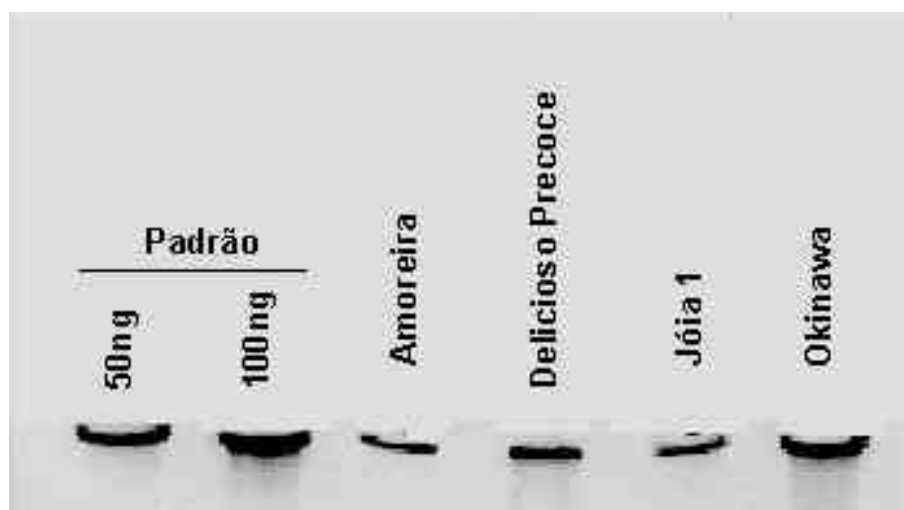


Figura 16: Quantificação das amostras de DNA extraídas de material vegetal (folhas) de pessegueiro das cultivares Delicioso Precoce, Jóia 1 e Okinawa e de amoreira. Botucatu, SP, 2002.

A partir do DNA extraído foram realizados os testes de PCR utilizando-se os “primers” desenhados. Nenhum fragmento foi gerado nas reações testadas.

Fatores como a baixa qualidade do DNA extraído e problemas quanto ao ciclo das reações de PCR podem justificar tais resultados (Ferreira & Grattapaglia, 1996). Diante disso, foram utilizados protocolos de purificação do DNA genômico e foram alteradas as temperaturas de anelamento. Mesmo assim, não foram obtidos os fragmentos com o tamanho especificado, aproximadamente 700bp. O único resultado foi com a temperatura de anelamento a 36°C, onde apareceram bandas inespecíficas (Figura 17).

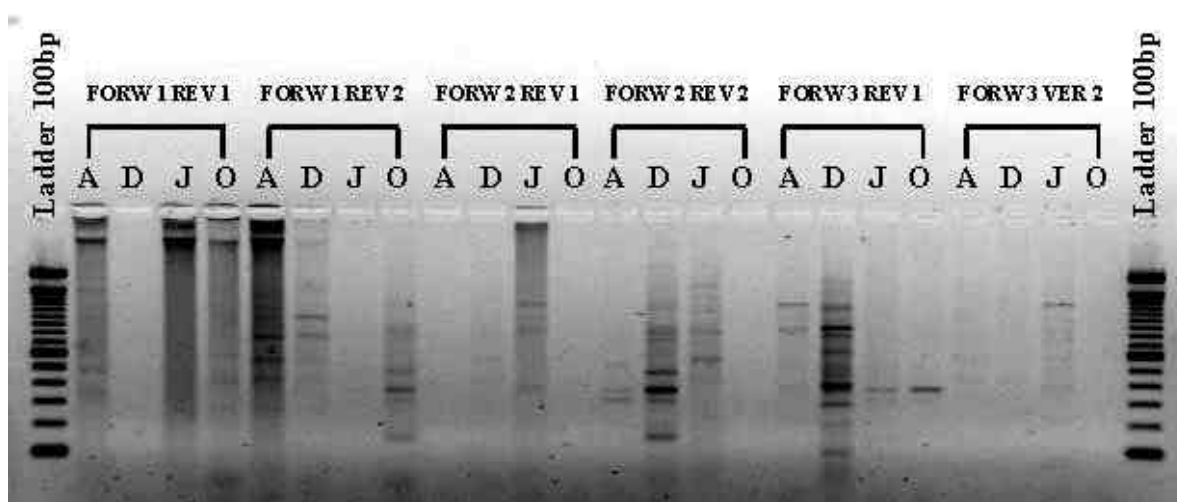


Figura 17: Bandas inespecíficas resultantes da reação de PCR utilizando-se a combinação dos “primers” (FORW e REV) de pessegueiros para as amostras de DNA da amoreira (A) e das cultivares Delicioso Precoce (D), Jóia 1 (J) e Okinawa (O). Botucatu, SP, 2002.

Os resultados obtidos pelo estudo molecular no presente trabalho, sugerem a continuação dos testes utilizando novos ajustes como, por exemplo, outras temperaturas de anelamento, a fim de se otimizar a reação de PCR para obtenção dos fragmentos específicos.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Baseados nos resultados obtidos no presente trabalho, considera-se a possibilidade de incrementar ainda mais os percentuais de enraizamento, bem como também, melhorar as características agronômicas das estacas a serem utilizadas para a propagação do pessegueiro, através da otimização das técnicas de propagação por estaca, o que pode viabilizar este método de propagação. Para isso, considerando o presente trabalho, pode-se utilizar outras épocas de coleta das estacas, quando, por exemplo, o balanço hormonal intrínseco destas pudesse estar adequado para promover maior enraizamento. Outra tentativa para melhorar o enraizamento, pode ser a utilização de soluções de IBA em maiores concentrações, tanto para o tratamento por imersão lenta quanto para o tratamento por imersão rápida. Uma condição ambiental mais adequada ou melhor controlada (umidade, temperatura e luminosidade) durante o período de tratamento das estacas com soluções diluídas de IBA, pode ser importante para aumentar os percentuais de enraizamento. Outros fatores também devem ser lembrados quando se pretende aumentar a capacidade de formar raízes em estacas, como a padronização das estacas em tamanho, tipo, sanidade, condição fisiológica e nutricional, e que podem auxiliar na obtenção de resultados mais significativos.

A aplicação prévia do 2,6-DHAP ao IBA foi uma técnica auxiliar para o aumento da capacidade de enraizamento de estacas de pessegueiros, no entanto, estudar outras técnicas de utilização desse produto, como, por exemplo, testar várias dosagens do

DHAP aplicadas durante variados tempos de tratamento, poderá proporcionar resultados mais satisfatórios.

Quanto ao estudo molecular, se a metodologia utilizada para detectar a presença ou não do gene *ARRO-1* for ajustada para o pessegueiro, novas hipóteses poderão ser lançadas, baseando-as na expressão do gene durante o processo de formação de raízes nas estacas. A partir daí, conclusões mais concisas poderão ser elaboradas para determinar se o referido gene pode ser realmente utilizado como um marcador molecular para detectar pessegueiros com facilidade e dificuldade de enraizamento de estacas e, até mesmo, elucidar se a baixa capacidade de enraizamento das estacas desta frutífera é um problema de expressão gênica ou, causado por problemas anatômico, ambiental, de balanço hormonal, etc.

8 CONCLUSÕES

Nas condições em que os experimentos foram conduzidos e com base nos resultados obtidos e nas análises realizadas no presente trabalho, pode-se concluir que, para as cultivares de pessegueiros utilizadas (Delicioso Precoce, Jóia 1 e Okinawa), não se recomenda a propagação destas utilizando-se estacas lenhosas, nem mesmo com a aplicação do ácido indol-butírico nos dois métodos de aplicação.

Os resultados com estacas herbáceas são mais satisfatórios para a propagação dos pessegueiros por estaquia.

Para as estacas semi-lenhosas, a cultivar Okinawa demonstra melhores resultados quando as estacas são tratadas com soluções concentradas de IBA.

A aplicação de 2,6-di-hidroxiacetofenona em estacas semi-lenhosas dos pessegueiros antes do tratamento destas com 200mg L^{-1} de ácido indol-butírico é uma técnica complementar e auxilia na obtenção de maiores percentuais de enraizamento, principalmente, em estacas da cultivar Okinawa.

Não se recomenda a aplicação de 2,6-di-hidroxiacetofenona em estacas semi-lenhosas dos pessegueiros antes do tratamento com 2.500mg L^{-1} de ácido indol-butírico.

A metodologia utilizada para os testes moleculares precisa ser otimizada para verificar a presença e, posteriormente, a expressão do gene *ARRO-1* nos pessegueiros.

9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABEL, S.; THEOLOGIS, A. Early genes and auxin action. *Plant. Physiol.*; v.111, p.9-17, 1996.

ABRAHÃO, E.; NOGUEIRA, D.J.P. Produção de mudas de pessegueiro e ameixeiras. *Informe Agropecuário*, Belo Horizonte, v.9, n.102, p.36-38, jun 1983.

ALVES, R.E.; SILVA, A.A.Q. da, SILVA, H.; MUSSER, R. dos S. Contribuição ao estudo da cultura da acerola. I. Efeitos do IBA e da sacarose no enraizamento de estacas. *Rev. Bras. Frutic.*, Cruz das Almas, v.13, n.2, p.19-26, out 1991.

ANTUNES, L.E.C.; CHALFUN, N.N.J.; REGINA, M. de A. Propagação de cultivares de amoreira-preta (*Rubus* spp) através de estacas lenhosas. *Rev. Bras. Frutic.*, Jaboticabal, v.22, n.2, p.195-199, ago 2000.

ANTUNES, L.E.C.; HOFFMANN, A.; RAMOS, J.D. et al. Efeito do método de aplicação e de concentrações do ácido indolbutírico no enraizamento de estacas semi-lenhosas de *Pyrus calleryana*. *Rev. Bras. Frutic.*, Cruz das Almas, v. 18, n. 3, p.371-376, dez. 1996.

- ANTUNES, L.E.C.; REGINA, M. de A.; ABRAHÃO, E.; ALVARENGA, Â.A.; RESENDE, S.R. de, NUNES, J.M.S.; SILVA, V.J. da, OLIVEIRA, N.C. de. A cultura do pessegueiro e da ameixeira no estado de Minas Gerais. *Informe Agropecuário*, Belo Horizonte, v.18, n.189, p.14-16, 1997.
- BANDURSKI, R.S.; COHEN, J.D.; SLOVIN, J.P.; REINECKE, D.M. Auxin biosynthesis and metabolism. In: DAVIES, P.J. *Plant Hormones: physiology, biochemistry and molecular biology*, Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1995. p.39-65.
- BARTEL, B. Auxin biosynthesis. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, v.48, p.51-66, 1997.
- BIASI, L.A.; STOLTE, R.E.; SILVA, M. da S. Estaquia de ramos semilenhosos de pessegueiro e nectarina. *Rev. Bras. Frutic.*, Jaboticabal, v.22, n.3, p.421-425, dez 2000.
- BLASKELEY, D.; CHALDECOTT, M.A. The role of endogenous auxin in root initiation. Part II: Sensitivity, and evidence from studies on transgenic plant tissue. *Plant Growth Reg.*, v.13, p.77-84, 1993.
- BLASKELEY, D.; WESTON, G.D.; HALL, J.F. The role of endogenous auxin in root initiation. Part I: Evidence from studies on auxin application, and analysis of endogenous levels. *Plant Growth Reg.*, v.10, p.341-353, 1991.
- BUTTER, E.D.; GALLAGHER, T.F. Characterization of auxin-induced *ARRO-1* expression in the primary root of *Malus domestica*. *J. Exp. Bot.*, v.51, n.351, p.1765-1766, out 2000.
- BUTTER, E.D.; GALLAGHER, T.F. Isolation and characterization of cDNA encoding a novel 2-oxoacid-dependent dioxygenase which is up-regulated during adventitious root formation in apple (*Malus domestica* "Jork 9") stem discs. *J. Exp. Bot.*, v.50, n.333, p.551-552, abr 1999.

- CHALFUN, N.N.J.; HOFFMANN, A. Propagação do pessegueiro e da ameixeira. *Informe Agropecuário*, Belo Horizonte, v.18, n.189, p.23-29, 1997.
- CHALFUN, N.N.J.; PASQUAL, M.; RAMOS, J.D.; LIMA, P.C.; CHALFUN JÚNIOR, A.; SILVA, T. das GRAÇAS. Efeito do anelamento e diferentes dosagens do ácido indol-3-butírico na propagação de estacas caulinares do pessegueiro "Okinawa". *Rev. Bras. Frutic.*, Cruz das Almas, v.16, n.1, p.119-126, 1994.
- CHAUHAN, D.S.; BHATT, B.P.; TODARAIA, N.P. Vegetative propagation response of three leguminous taxa of Garhwal Himalaya. *Indian J. Forest.*, v.19, n.4, p.377-380, 1997.
- CHEN, J.; DENGURU, W.; WITHAM, F.H.; HEUSER, C.W.; ARTECA, R.N. Molecular cloning and characterization of auxin-regulated genes from mungbean hypocotyls during adventitious root formation. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.*, v.121, n.3, p.393-398, 1996.
- COUVILLON, G.A.; EREZ, A. Rooting, survival and development of several peach cultivars propagated from semi-hardwood cuttings. *HortScience*, Alexandria, v.15, n.1, p.43-44, fev 1980.
- DAVIES, P.J. The plant hormones: their nature, occurrence, and functions. In: __. *Plant Hormones: physiology, biochemistry and molecular biology*. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1995. p.1-12.
- DUTRA, L.F.; KERSTEN, E. Efeito do substrato e da época de coleta de ramos no enraizamento de estacas de ameixeira (*Prunus salicina* Lindl). *Ciê. Rural*, Santa Maria, v.26, n.3, p.361-366, jan/abr 1996.

DUTRA, L.F.; SCHWENGBER, J.E.; TONIETTO, A.; KERSTEN, E. Enraizamento de estacas de pessegueiro (*Prunus persica* (L.) Batsch). *Revista Brasileira de Agrociência*, v.5, n.2, p.93-95, mai./ago. 1999.

EMPRESA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA E DE EXTENSÃO RURAL DE SANTA CATARINA. *Normas técnicas para o cultivo de pessegueiro em Santa Catarina*. Florianópolis, 1995. 38p. (Sistema de Produção, 23).

EPSTEIN, E.; SAGEE, O.; ZELCER, A. Uptake and metabolism of indole-3-butyric acid and indole-3-acetic acid by petunia cell suspension culture. *Acta Hortic.*, v.329, 1993a.

EPSTEIN, E.; ZILKAH, S.; FAINGERSG, G.; ROTEBAUM, A. Transport and metabolism of indole-3-butyric acid in easy- and difficult-to-root cuttings of sweet cherry (*Prunus avium*L.). *Acta Hortic.*, v.329, 1993b.

FACHINELLO, J.C.; KERSTEN, E.; MACHADO, A.A. Efeito do ácido indol-butírico no enraizamento de estacas lenhosas de pessegueiro cv. Diamante. *Pesqui. Agropecu. Bras.*, Brasília, v.17, n.2, p.247-252, fev 1982.

FACHINELLO, J.C.; KERSTEN, E.; SILVEIRA JÚNIOR, P. Efeito do ácido indol-butírico na percentagem de estacas lenhosas enraizadas e na obtenção de mudas de pessegueiro (*Prunus persica* (L.) Batsch). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 7, 1984, Florianópolis. *Anais...* Florianópolis: Sociedade Brasileira de Fruticultura, 1984. p.1088-1096.

FACHINELLO, J.C.; NACHTIGAL, J.C.; KERSTEN, E. *Fruticultura: fundamentos de práticas*. Pelotas: UFPEL, 1996. 311p.

FACHINELLO, J.C.; HOFFMANN, A.; NACHTIGAL, J.C.; KERSTEN, E.; FORTES, G.R.L. *Propagação de plantas frutíferas de clima temperado*. Pelotas: UFPEL, 1995. 178p.

- FERREIRA, M. E.; GRATTAPAGLIA, D. *Introdução ao uso de marcadores RAPD e RFLP em análise genética*. 2.ed. Brasília: Lumma, 1996, v.1, 1996. 221p.
- FINARDI, N.L. Morte de plantas de pessegueiro e ameixeira por asfixia do sistema radicular. *HortSul*, Pelotas: EMBRAPA-CNPFT, v.3, n.3, p.18-26, 1995.
- FINARDI, N.L. Métodos de propagação e descrição de porta-enxertos. In: MEDEIROS, C.A.B.; RASEIRA, M. do C.B. Ed. *A cultura do pessegueiro*. Pelotas: EMBRAPA/CNPAT, 1998. cap.4, p.100-129.
- FOOD AGRICULTURE AND ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. Roma, 2000. Disponível em: <http://www.fao.org/>. Acesso em: 23 out 2001.
- FORTES, J.F.; MARTINS, O.M. Sintomatologia e controle das principais doenças. In: MEDEIROS, C.A.B.; RASEIRA, M. do C.B. Ed. *A cultura do pessegueiro*. Pelotas: EMBRAPA/CNPAT, 1998. cap.9, p.243-264.
- GASPAR, T.; HOFINGER, M. Auxin metabolism during adventitious rooting. In: DAVIS, T.D.; HAISSING, B.E.; SANKLHA, N. *Adventitious root formation in cuttings*. Portland: Discorides Press, 1988. p.117-131.
- GOMES, F.P. *Curso de estatística experimental*. 13.ed. ESALQ, Piracicaba, 1990. 467p.
- GOMES, R.P. O pessegueiro. In:__. *Fruticultura brasileira*. 12.ed. São Paulo: Livraria Nobel S.A.; 1973. p.372-380.
- GUILFOYLE, T.; HAGEN, G.; ULMASOV, T.; MURGETT, J. How does auxin turn on gene? *Plant Physiol.*, v.118, n.2, p.341-347, 1998.

- HAISSIG, B.E. Metabolic process in adventitious rooting of cuttings. In: JACKSON, M.B. *New root formation in plants and cutting*. Dordrecht: Martinus Nijhoff Publishers, 1986. p.141-190.
- HAISSIG, B.E.; RIEMENSCHNEIDER, E.D. Genetic effects on adventitious rooting. In: DAVIS, T.D.; HAISSING, B.E.; SANKLHA, N. *Adventitious root formation in cuttings*. Portland: Discorides Press, 1988. p.47-60.
- HANGARTER, R.P.; GOOD, N.E. Evidence that IAA conjugates are slow-release sources of free IAA in plant tissues. *Plant Physiol.*, v.68, p.1424-1427, 1981.
- HANGEN, G. How hormones work: the control of gene expression by auxin. In: DAVIES, P.J. *Plant Hormones: physiology, biochemistry and molecular biology*. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1995. p.228-245.
- HARTMANN, H.T.; KESTER, D.E.; DAVIES, F.T. Techniques of propagation by cuttings. In: __. *Plant propagation: principles and practices*. 5.ed. Englewood Cliffs: Prentice Hall, 1990. p.256-305.
- HELOIR, M.-C.; KERCES, C.; HAUSMAN, J.-F.; GASPAR, T. Changes in the concentrations of auxins and poluamines during rooting of *in-vitro-propagated* walnut shoots. *Tree Physiol.*, v.16, p.515-519, 1996.
- HIGASHI, E.N.; GONÇALVES, A.N. Uso de ácido indol butírico no enraizamento de eucaliptos. *Notícias*, Piracicaba, v.24, n.151, p.6-7, jul./ago. 2000.
- HOFFMANN, A.; CHALFUN, N.N.J.; ANTUNES, L.E.C.; RAMOS, J.D.; PASQUAL, M.; REZENDE e SILVA, C.R. de. *Fruticultura comercial: propagação de plantas frutíferas*. Lavras: UFLA/FAEPE, 1996. 319p.

- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. 2000. Disponível em: <http://www.sidra.ibge.gov.br>. Acesso em: 04 jun. 2002.
- JARVIS, B.C. Endogenous control of adventitious rooting in non-woody cuttings. In: JACKSON, M.B. *New root formation in plants and cutting*. Dordrecht: Martinus Nijhoff Publishers, 1986. p.191-222.
- KAUNDAL, G.S.; KANWAR, J.S.; BRAR, S.S.; DEOL, I.S.; CHANANA, Y.R. Effect of growth regulators on the rhizogenesis of peach cultivars. *Indian J. Hortic.*, v.50, n.4, p.318-326, 1993.
- KERSTEN, E.; NACHTIGAL, J.C.; CALLOVY FILHO, C. Enraizamento de ameixeira (*Prunus salicina*, Lindl.) em diferentes épocas de coleta das estacas. *Ciê. Rural*, Santa Maria, v.25, n.1, p.169-170, 1994.
- KLEIN, J.D.; COHEN, S. HEBBE, Y. Seasonal variation in rooting ability of myrtle (*Myrtus communis* L.) cuttings. *Sci. Hortic.*, v.83, n.1, p.71-76, jan 2000.
- KLERK, G.-J. de; KEPPEL, M.; BRUGGE, J.T.; MEEKES, H. Timing of the phases in adventitious root formation in appli microcuttings. *J. Exp. Bot.*, v.46, n.289, p.965-972, ago. 1995.
- KLUGE, R.A.; SCARPARE FILHO, L.A.; JACOMINO, A.P. A cultura do pessegueiro: recomendações para o cultivo em regiões subtropicais. *Textos eletrônicos...* Piracicaba: Esalq, jul. 2001. Disponível em :<<http://www.ciagri.usp.br/~rakluge/Pêssego.html>>. Acesso em: jan. 2002.
- LEE, T.T.; STARRATT, A.N. Inhibition of conjugation of indole-3-acetic acid with amino acids by 2,6-dihydroxyacetophenone in *Teucrium canadense*. *Phytochemistry*, v.25, n.9, p.2457-2461, 1986.

- LEE, T.T.; STARRATT, A.N.; JEVNIKAR, J.J. Effects of 3,4-dihydroxyacetophenone and some related phenols on the peroxidase-catalysed oxidation of indole-3-acetic acid. *Phytochemistry*, v.20, n.9, p.2097-2100, 1981.
- LUND, S.T.; SMITH, A.G.; HACKETT, W.P. Differential gene expression in response to auxin treatment in the wild type and *rac*, and adventitious rooting-incompetent mutant of tobacco. *Plant Physiol.*, v.114, p.1197-1206, 1997.
- MULLIS, K.; FALOONA, F. Specific synthesis of DNA *in vitro* via a polymerase catalysed chain reaction. *Methods Enzymol.* v.55, p.335-350, 1987.
- NACHTIGAL, J.C.; PEREIRA, F.M. Propagação do pessegueiro (*Prunus pérsica* (L.) Batsch) cv. Okinawa por meio de estacas herbáceas em câmara de nebulização em Jaboticabal – SP. *Rev. Bras. Frutic.*, Jaboticabal, v.22, n.2, p.208-212, ago 2000.
- NAKASU, B.H.; RASEIRA, M. do C.B.; CASTRO, L.A.S. de. Frutas de caroço: pêssigo, nectarina e ameixa no Brasil. *Informe Agropecuário*, Belo Horizonte, v.18, n.189, p.08-13, 1997.
- NAKAZAWA, M.; YABE, N.; ICHIKAWA, T.; YAMAMOTO, Y.Y.; YOSHIZUMI, T.; HASUNUMA, K.; MATSUI, M. *DFL1*, an auxin-responsive *GH3* gene homologue, negatively regulates shoot cell elongation and lateral root formation and positively regulates the light response of hypocotyl length. *Plant J.*, v.25, n.2, p.213-221, 2001.
- NORBERTO, P.M.; CHALFUN, N.N.J.; PASQUAL, M. VEIGA, R.D.; PEREIRA, G.E.; MOTA, J.H. Efeito da época de estaquia e do AIB no enraizamento de estacas de figueira (*Ficus carica* L.). *Ciê. Agrotec.*, Lavras, v.25, n.3, p.533-541, maio/jun. 2001.
- NOGUEIRA, D.J.P. Os porta-enxertos na fruticultura. *Informe Agropecuário*, Belo Horizonte, v.9, n.101, p.23-41, maio 1983.

- NORDSTRÖM, A.-C.; ELIASSON, L. Levels of endogenous indole-3-acetic acid indole-3-acetylaspatic acid during adventitious root formation in pea cuttings. *Physiol. Plant.*, v.82, p.599-605, 1991.
- NORDSTRÖM, A.-C.; JACOBS, F.A.; ELIASSON, L. Effect of exogenous indole-3-acetic acid and indole-3-butyric acid on internal levels of the respective auxins and their conjugates with aspartic acid during adventitious root formation in pea cuttings. *Plant Physiol.*, v.96, p.856-861, 1991.
- NORMANLY, J.; BARTEL, B. Redundancy as a way of life – IAA metabolism. *Curr. Opin. in Plant Biol.*, v.2, p.207-218, 1999.
- NYOMORA, A.M.S.; MNZAVA, N.A. Rooting responses of juvenile and adult cuttings of apple (*Malus sylvestris* L.) and peach (*Prunus persica* L.) to indole-3-butyric acid (IBA) and season in Tanzania. *Beitrag Trop. Landwirtschaft. Veterinarmed.*, Germany D. R.; v.20, n.2, p.135-140, 1982.
- OKIE, W.R. Rapid multiplication of peach seedlings by herbaceous stem cuttings. *HortScience*, v.19, n.2, p.249-251, 1984.
- ONO, E.O.; RODRIGUES, J.D. *Aspectos da fisiologia do enraizamento de estacas caulinares*. Botucatu: FCA-UNESP/FUNEP, 1996. 83p.
- ONO, E.O.; RODRIGUES, J.D.; PINHO, S.Z. do. Interações entre auxinas e ácido bórico, no enraizamento de estacas caulinares de *Coffea arabica* L. cv. Mundo Novo. *Sci. Agricola*, v.49, n.1, p.23-27, 1992.
- ÖSTIN, A.; KOWALYCZK, M.; BHALERAO, R.P.; SANDBERG, G. Metabolism of indole-3-acetic in *Arabidopsis*. *Plant Physiol.*, v.118, n.1, p.285-296, 1998.

- PACHECO, A.C; CASTRO, P.R.C.; APPEZZATO-DA-GLÓRIA, B. Aspectos anatômicos do enraizamento da videira muscadínia (*Vitis rotundifolia* Michx.) através de alporquia. *Sci. Agricola*, Piracicaba, v.55, n.2, p.210-217, maio/ago. 1998.
- PENTEADO, S.R. Cultura do pessegueiro e da nectarineira: cultivares recomendadas. In: __. *Fruticultura de clima temperado em São Paulo*. Campinas, Cargill, 1986. p.11-12.
- RASEIRA, M. do C.B.; NAKASU, B.H. Cultivares: descrição e recomendação. In: MEDEIROS, C.A.B.; RASEIRA, M. do C.B. Ed. *A cultura do pessegueiro*, Pelotas: EMBRAPA/CNPAT, 1998. cap.3, p.29-99.
- RUFATO, L.; KERSTEN, E. Enraizamento de estacas de pessegueiro (*Prunus persica* (L.) Batsch), cvs Esmeralda e BR2, submetidas à estratificação e ao ácido indol-butírico. *Rev. Bras. Frutic.*, Jaboticabal, v.22, n.2, p.191-194, ago 2000.
- RUFATO, L.; BUSO, L.H.; TREVISAN, R.; ROSSI, A. de, GUARDA, V. da C.; KERSTEN, E. Influência de gemas folioríferas no enraizamento de estacas lenhosas de pessegueiro 'BR2' tratadas com diferentes concentrações de AIB. *Rev. Bras. Frutic.*, Jaboticabal, v.22, n.2, p.297-299, ago 2000.
- SACHS, S.; CAMPOS, A.D. O pessegueiro. In: MEDEIROS, C.A.B.; RASEIRA, M. do C.B. Ed. *A cultura do pessegueiro*, Pelotas: EMBRAPA/CNPAT, 1998. cap.1, p.13-19.
- SCHELL, J.; PALME, K.; WALDEN, R. Molecular approaches to the study of the mechanism of action of auxins. In: DAVIES, P.J. *Plant Hormones: physiology, biochemistry and molecular biology*. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1995. p.340-353.
- SHARMA, S.D.; AIER, N.B. Seasonal rooting behaviour of cuttings of plum cultivars as influenced by IBA treatments. *Sci. Hortic.*, Amsterdam, v.40, n.4, p.297-303, nov 1989.

- SIMÃO, S. Pessegueiro. In: __. *Tratado de fruticultura*. Piracicaba: Fealq, 1998. p.651-680.
- STEINBERG, E. Plantio: cultivares. In: __. *Pêssego e nectarina*. São Paulo: Livraria Nobel S.A., 1989. p.10-16.
- SZTEIN. A.E.; COHEN, J.D.; FUENTE, I.G. de la, COOKE, T.J. Auxin metabolism in mosses and liverworts. *Am. J. Bot.*, v.86, n.11, p.1544-1555, 1999.
- TAM, Y.Y.; EPSTEIN, E.; NORMANLY, J. Characterization of auxin conjugates in *Arabidopsis*. Low steady-state levels of indole-3-acetyl-aspartate, indole-3-acetyl-glutamate, and indole-3-acetyl-glucose. *Plant Physiol.*; v.123, p.589-595, 2000.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. Auxin: growth and tropics. In: __. *Plant Physiology*, California, The Benjamin/Cummings Publishing Company, 1991. p.398-425.
- TOFANELLI, M.B.T. *Enraizamento de estacas lenhosas e semi-lenhosas de cultivares de pessegueiro em diferentes concentrações de ácido indol-butírico*. Lavras, 1999. 87f. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras.
- TOFANELLI, M.B.D.; CHALFUN, N.N.J.; HOFFMANN, A.; ANTUNES, L.E.C. Enraizamento de estacas lenhosas e semi-lenhosas de cultivares-copa de pessegueiro em diferentes concentrações de ácido indolbutírico. *Rev. Bras. Frutic.*, Cruz das Almas, v.19, n.2, p.259-265, ago 1997.
- TOFANELLI, M.B.D.; CHALFUN, N.N.J.; HOFFMANN, A.; ANTUNES, L.E.C. Enraizamento de estacas lenhosas e semi-lenhosas de cultivares de ameixeira com várias concentrações de ácido indolbutírico. *Rev. Bras. Frutic.*, Jaboticabal, v.24, n.2, p.509-513, ago 2002a.

- TOFANELLI, M.B.D.; CHALFUN, N.N.J.; HOFFMANN, A.; CHALFUN JÚNIOR, A. Efeito do ácido indolbutírico no enraizamento de estacas de ramos semilenhosos de pessegueiro. *Pesqui. Agropecu. Bras.*, Brasília, v.36, n.7, p.939-944, jul 2002b.
- TOFANELLI, M.B.D.; CHALFUN, N.N.J.; HOFFMANN, A.; CHALFUN JÚNIOR, A. Uso do ácido indolbutírico na propagação de cultivares-copa de ameixeira através de estacas lenhosas. *Cient. Rural*, Bagé, v.6, n.1, p.115-121, 2001.
- TONIETTO, A.; DUTRA, L.F.; KERSTEN, E. Influência do ácido indol-butírico e ethephon no enraizamento de estacas de pessegueiro (*Prunus persica* (L.) Batsch). *Ciê. Rural*, Santa Maria, v.27, n.4, p.567-569, out/nov 1997.
- TONIETTO, A.; TONIETTO, S.M.; KERSTEN, E. Comparação entre porções do ramos de ameixeira, cultivares Pluma 7 e Reubennel, no enraizamento de estacas de gema única tratadas com ácido indolbutírico. *Cient. Rural*, v.6, n.1, p.131-142, 2001.
- VENIS, A.M. Auxin-induced conjugation system in peas. *Plant Physiol.*, v.49, p.24-27, 1972.
- WIESMAN, Z.; RIOV, J.; EPSTEIN, E. Paclobutrazol and urea-phosphate increase rooting and survival of peach "Maravilha" softwood cuttings. *HortScience*, v.24, n6, p.908-909, 1989.
- ZONTA, E.P.; MACHADO, A.A. *Manual do SANEST*: Sistema de análise estatística para microcomputadores. Pelotas: UFPEL, 1991.