

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

**PROPAGAÇÃO DE AMOREIRA-PRETA (*Rubus spp.*) VIA BROTAÇÃO  
DE ESTACAS RADICIAIS E ENRAIZAMENTO COM A UTILIZAÇÃO  
DE REGULADORES VEGETAIS**

**JOÃO PAULO TADEU DIAS**

Dissertação apresentada à Faculdade de  
Ciências Agronômicas da Unesp – Câmpus  
de Botucatu, para obtenção do título de  
Mestre em Agronomia (Horticultura)

BOTUCATU-SP  
Fevereiro - 2011

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

**PROPAGAÇÃO DE AMOREIRA-PRETA (*Rubus spp.*) VIA BROTAÇÃO  
DE ESTACAS RADICIAIS E ENRAIZAMENTO COM A UTILIZAÇÃO  
DE REGULADORES VEGETAIS**

**JOÃO PAULO TADEU DIAS**

Orientadora: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Elizabeth Orika Ono

Dissertação apresentada à Faculdade de  
Ciências Agronômicas da Unesp – Câmpus  
de Botucatu, para obtenção do título de  
Mestre em Agronomia (Horticultura)

BOTUCATU-SP  
Fevereiro - 2011

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO DA INFORMAÇÃO - SERVIÇO TÉCNICO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - UNESP - FCA - LAGEADO - BOTUCATU (SP)

D541p Dias, João Paulo Tadeu, 1985-  
Propagação de amoreira-preta (*Rubus spp.*) via brotação de estacas radiciais e enraizamento com a utilização de reguladores vegetais./ João Paulo Tadeu Dias. - Botucatu : [s.n.], 2011

x, 70 f. : gráfs., tabs., fots. color.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu, 2011  
Orientador: Elizabeth Orika Ono  
Inclui bibliografia

1. Amora-preta 2. Pequenos frutos 3. Citocinina - BAP. 4. Bioestimulante - Giberelina - 5. Auxina - IBA. 6. Fisiologia vegetal. I. Ono, Elizabeth Orika. II. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (Campus de Botucatu). Faculdade de Ciências Agrônômicas. III. Título.

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA FILHO"**  
**FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS**  
**CAMPUS DE BOTUCATU**

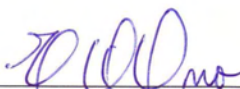
**CERTIFICADO DE APROVAÇÃO**

**TÍTULO: "PROPAGAÇÃO DE AMOREIRA-PRETA (Rubus spp.) VIA BROTAÇÃO  
DE ESTACAS RADICIAIS E ENRAIZAMENTO COM UTILIZAÇÃO DE  
REGULADORES VEGETAIS"**

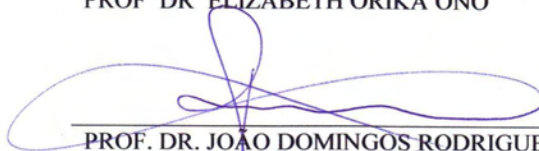
ALUNO: JOÃO PAULO TADEU DIAS

ORIENTADORA: PROFª DRª ELIZABETH ORIKA ONO

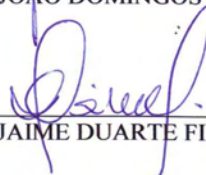
Aprovado pela Comissão Examinadora



\_\_\_\_\_  
PROFª DRª ELIZABETH ORIKA ONO



\_\_\_\_\_  
PROF. DR. JOÃO DOMINGOS RODRIGUES



\_\_\_\_\_  
PROF. DR. JAIME DUARTE FILHO

Data da Realização: 24 de fevereiro de 2011.

Ao meu pai, Pedro Dias Neto e em especial, minha mãe Luiza Maria de Carvalho, que sempre me incentivaram e apoiaram em todas as minhas escolhas. De todo o coração, agradeço pela compreensão, confiança, carinho e amor.

## DEDICO

Aos meus irmãos, Rone e Janete, pela amizade e carinho.  
Aos meus sobrinhos, Édison e Aline, por todas as demonstrações de apoio e afeto.

OFEREÇO.

## AGRADECIMENTOS

À CAPES pelo auxílio concedido para a realização do curso de Mestrado em Agronomia (Horticultura) e oportunidade de elaboração da dissertação.

À Fazenda Santa Terezinha do Rio Bonito pela disponibilidade do material vegetal utilizado no presente trabalho.

À Faculdade de Ciências Agronômicas (FCA), pertencente à Universidade Estadual Paulista (UNESP) pelo primor na qualidade do ensino.

Aos professores que tanto fizeram para nos instruir e capacitar durante todo o curso, além de dividir suas experiências e dar conselhos. Aos professores João Domingos Rodrigues, Sarita Leonel e Magali Ribeiro pelas contribuições durante o curso.

Aos funcionários pela colaboração e atenção dispensadas durante toda a realização do trabalho.

Aos Colegas que proporcionam um ambiente amistoso e propício ao aprendizado, proporcionando discussões em prol da melhoria do meio acadêmico e dos trabalhos gerados. A todos que, direta e indiretamente, compreenderam e colaboraram para um melhor aproveitamento do meio acadêmico.

Aos grandes amigos conquistados durante esta jornada, em especial, Jaime Duarte Filho, Joaquim Gonçalves de Pádua e Ezequiel Lopes do Carmo que tanto me incentivaram e apoiaram.

Não poderia deixar de destacar, à minha família pela compreensão, paciência, apoio e por todo o amor.

A todos que contribuíram de alguma maneira, para o êxito deste trabalho.

O MEU MUITO OBRIGADO!

*“Grandes ideias surgem da  
observação dos pequenos detalhes.”  
Augusto Cury*

### **Agradecimento especial**

À Deus pelo passeio pelos caminhos da vida, além das oportunidades e condições para que todos os meus objetivos fossem alcançados, sempre me iluminando e dando força para seguir no melhor dos caminhos, apesar das dificuldades encontradas.

À orientadora, Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Elizabeth Orika Ono pelo empenho, compreensão e paciência. Muito obrigado pela oportunidade, apoio e ensinamentos.

*“Se você não quer ser esquecido quando morrer,  
escreva coisas que vale a pena ler ou  
faça coisas que vale a pena escrever.”  
Benjamin Franklin (1706-1790)*

***Meus sinceros agradecimentos...***

## SUMÁRIO

|   | Página |
|---|--------|
| LISTA DE TABELAS.....   | viii   |
| LISTA DE FIGURAS.....   | ix     |
| RESUMO.....   | 1      |
| SUMMARY.....  | 3      |
| 1 INTRODUÇÃO.....   | 5      |
| 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....  | 8      |
| 2.1 Características gerais e importância econômica.....   | 8      |
| 2.2 Classificação botânica e fenologia.....   | 9      |
| 2.3 Características da cultivar Brazos.....   | 11     |
| 2.4 Propagação vegetativa.....  | 12     |
| 2.5 Uso de reguladores vegetais.....  | 15     |
| 2.6 Propagação de amoreira-preta.....   | 18     |
| 2.7 Carboidratos.....   | 24     |
| 3 MATERIAL E MÉTODOS.....   | 28     |
| 3.1 Planejamento experimental.....  | 28     |
| 3.2 Preparo das estacas, disposição dos materiais e variáveis avaliadas.....  | 32     |
| 3.3 Análise estatística.....  | 36     |
| 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....   | 37     |
| 4.1 <b>1º Experimento:</b> Citocinina no crescimento vegetativo de brotações oriundas de estacas de raízes de amoreira-preta..... | 37     |
| 4.2 <b>2º Experimento:</b> Bioestimulante na promoção da brotação em estacas de raízes de amoreira-preta.....                     | 40     |



## SUMÁRIO

|  | Página |
|--|--------|
| 4.3 <b>3º Experimento:</b> IBA no enraizamento de brotações oriundas de estacas radiciais de amoreira-preta..... | 44     |
| 5 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....  | 55     |
| 6 CONCLUSÕES.....  | 57     |
| 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....  | 58     |

**LISTA DE TABELAS**

|   | Página |
|---|--------|
| Tabela 1. Dados gerais médios do ensaio para produção de brotos em estacas radiciais de amoreira-preta tratadas com diferentes concentrações de 6-benziloaminopurina (BAP).....   | 39     |
| Tabela 2. Médias do número de estacas brotadas (NEB), número de brotos por estaca (NBE), comprimento da haste principal (CHP, em cm), porcentagem de sobrevivência das brotações (%SOB) em estacas radiciais de amoreira-preta tratadas com diferentes concentrações de bioestimulante <i>Promalin®</i> .....   | 41     |
| Tabela 3. Médias do número de brotos por estaca (NBE), número de folhas (NF); comprimento da maior raiz (CMR em cm) e comprimento da haste principal (CHP, em cm) no enraizamento de brotos oriundos de estacas radiciais de amoreira-preta tratadas com diferentes concentrações de IBA.....                   | 46     |
| Tabela 4. Resultados médios da massa fresca de raiz (MFR, em g), massa seca de raiz (MSR, em g), massa fresca da parte aérea (MFPA, em g) e massa seca da parte aérea (MSPA, em g) no enraizamento de brotos oriundos de estacas radiciais de amoreira-preta tratadas com diferentes concentrações de IBA ..... | 47     |

## LISTA DE FIGURAS

|   | Página |
|---|--------|
| Figura 1. Estaquia de ramos da parte aérea de amoreira-preta.....   | 19     |
| Figura 2. Aspectos das brotações de estacas de ramos da parte aérea.....  | 20     |
| Figura 3. Detalhes da estaca de raiz de amoreira-preta.....   | 20     |
| Figura 4. Formação da muda por estaca de raiz.....  | 21     |
| Figura 5. Fluxograma esquemático dos experimentos com propagação de amoreira-preta.....   | 30     |
| Figura 6. Algumas avaliações realizadas nos experimentos com propagação de amoreira-preta.....  | 31     |
| Figura 7. Sistema de condução das plantas de amoreira-preta em espaldeira, na fazenda Santa Terezinha do Rio Bonito, Itatinga – SP.....   | 32     |
| Figura 8. Evolução da emergência das brotações em estacas radiciais de amoreira-preta tratadas com diferentes concentrações de 6-benziloaminopurina (BAP).....  | 38     |
| Figura 9. Evolução da emergência das brotações em estacas radiciais de amoreira-preta tratadas com diferentes concentrações de <i>Promalin</i> ®.....   | 41     |
| Figura 10. Variação na quantidade de açúcares solúveis totais em estacas de raízes de amoreira-preta antes e após o tratamento com diferentes concentrações de bioestimulante <i>Promalin</i> ®. .... | 43     |
| Figura 11. Porcentagem de sobrevivência das estacas de brotos oriundos de estacas radiciais de amoreira-preta tratadas com diferentes concentrações de IBA.....                                       | 46     |
| Figura 12. Regressão linear da porcentagem de enraizamento das estacas de brotos oriundos de estacas radiciais de amoreira-preta tratadas com diferentes concentrações de IBA .....                   | 49     |
| Figura 13. Variação na quantidade de açúcares solúveis totais na parte aérea das estacas de brotações de amoreira-preta tratadas com diferentes concentrações de IBA.....                             | 51     |

**LISTA DE FIGURAS**

Página

Figura 14. Variação na quantidade de açúcares solúveis totais em raízes de estacas de brotações de amoreira-preta após o tratamento com diferentes concentrações de IBA... 52

PROPAGAÇÃO DE AMOREIRA-PRETA (*Rubus* spp.) VIA BROTAÇÃO DE ESTACAS RADICIAIS E ENRAIZAMENTO COM A UTILIZAÇÃO DE REGULADORES VEGETAIS. Botucatu, 2011. 70 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Horticultura) – Faculdade de Ciências Agrônomicas, Universidade Estadual Paulista.

Autor: JOÃO PAULO TADEU DIAS

Orientadora: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> ELIZABETH ORIKA ONO

## RESUMO

Objetivou-se estudar os efeitos de citocinina e bioestimulante (citocinina/giberelina) para promover brotações em estacas de raízes e de auxina para promover a formação de raízes nessas brotações, com isso, propondo uma alternativa para a produção de mudas da amoreira-preta. O primeiro experimento constou de cinco concentrações de 6-benziloaminopurina (BAP), na forma de solução: T1= 0 mg L<sup>-1</sup>; T2= 100 mg L<sup>-1</sup>, T3= 200 mg L<sup>-1</sup>, T4= 400 mg L<sup>-1</sup> e T5= 800 mg L<sup>-1</sup>, aplicadas em toda a estaca de raiz por imersão durante 18 horas, distribuídas em quatro repetições, sendo a parcela de 15 estacas radiciais. No segundo experimento adotou-se cinco concentrações do bioestimulante *Promalin*® na forma de solução: T1= 0 mg L<sup>-1</sup>; T2 = 10 mg L<sup>-1</sup>, T3= 20 mg L<sup>-1</sup>, T4= 40 mg L<sup>-1</sup>

<sup>1</sup> e T5= 80 mg L<sup>-1</sup>. Posteriormente, as estacas radiciais foram mergulhadas nessas soluções durante 12 horas. Utilizaram-se sete repetições, com a parcela constituída por uma bandeja com 10 estacas radiciais, durante 70 dias. A aplicação dos reguladores vegetais, BAP e *Promalin®*, em concentrações altas inibiram o desenvolvimento de brotações em estacas radiciais de amoreira-preta e as características de desenvolvimento dessas brotações, sendo os melhores resultados alcançados sem a aplicação dos reguladores vegetais. Posteriormente, as estacas de raízes de amoreira-preta (sem aplicação de regulador vegetal) foram coletadas de plantas matrizes e colocadas em câmara de nebulização, sendo dispostas em bandejas de polietileno brancas, com casca de arroz carbonizada, conforme o melhor tratamento. Após 60 dias, procedeu-se a retirada das brotações das estacas radiciais, com o corte rente à estaca. Foi feita a seleção e padronização das estacas de brotações, sendo deixadas com altura de dez centímetros e três a quatro folhas por broto, utilizadas para a instalação do terceiro experimento. Os tratamentos constaram de seis concentrações de ácido indol-3-butírico (IBA), na forma de solução: T1= 0 mg L<sup>-1</sup>; T2= 250 mg L<sup>-1</sup>, T3= 500 mg L<sup>-1</sup>, T4= 1000 mg L<sup>-1</sup>, T5= 2000 mg L<sup>-1</sup> e T6= 4000 mg L<sup>-1</sup> aplicados na base das brotações durante dez segundos, distribuídos em seis repetições compostas por 12 brotações, durante 60 dias. As maiores concentrações de IBA inibiram o enraizamento e as características de desenvolvimento das raízes nessas brotações. Contudo, a técnica de enraizamento das brotações demonstrou ser uma alternativa favorável a produção de mudas da amoreira-preta.

Palavras-chaves: Brazos, estacas de raízes, brotações, multiplicação, citocinina, auxina.

PROPAGATION OF BLACKBERRY (*Rubus spp.*) BY SHOOTS OF ROOT CUTTINGS WITH THE USE OF PLANT GROWTH REGULATORS. Botucatu, 2011. 70 f. Dissertation (Master in Agronomy/Horticulture) – Faculty of Agronomic Sciences, State University São Paulo.

Author: JOÃO PAULO TADEU DIAS

Adviser: Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> ELIZABETH ORIKA ONO

## SUMMARY

The objective was to study the effects of cytokinin and plant growth regulators (cytokinin/gibberellin) to promote shoot growth on root cuttings and auxin to promote root formation in these shoots with that proposing an alternative for the production of seedlings of blackberry. The first experiment consisted of five concentrations of 6-benzylaminopurine (BAP): T1= 0 mg L<sup>-1</sup>, T2= 100 mg L<sup>-1</sup>, T3= 200 mg L<sup>-1</sup>, T4= 400 mg L<sup>-1</sup> and T5= 800 mg L<sup>-1</sup>, applied across the cutting immersed for 18 hours, divided into four replicates of plot share of 15 root cuttings. The second experiment has five *Promalin* concentrations: T1= 0 mg L<sup>-1</sup>, T2= 10 mg L<sup>-1</sup>, T3= 20 mg L<sup>-1</sup>, T4= 40 mg L<sup>-1</sup> and T5= 80 mg L<sup>-1</sup>, then the root cuttings were dipped in these solutions for 12 hours. Seven replicates were

used with the plot had a tray with 10 root cuttings during 70 days. The application of BAP and *Promalin®* in high concentrations inhibited the shoots development in root cuttings of blackberry and the best results was without the application of plant growth regulators. The root cuttings of blackberry (without application of plant growth regulator) were collected from stock plants and placed in a mist chamber, being arranged in white polyethylene trays with carbonized rice hull, as the best treatment. After 60 days, we proceeded to the removal of the shoots, cut flush with the close root cutting. It was made the selection and standardization of shoot cuttings, being left with a height of ten inches and three to four leaves per shoot, used for the installation of the third experiment. The treatments consisted of six concentrations of indole-3-butyric acid (IBA): T1= 0 mg L<sup>-1</sup>, T2= 250 mg L<sup>-1</sup>, T3= 500 mg L<sup>-1</sup>, T4= 1000 mg L<sup>-1</sup>, T5= 2000 mg L<sup>-1</sup> and T6= 4000 mg L<sup>-1</sup> applied on the basis of shoot cuttings for ten seconds, in six replication of 12 shoots, for 60 days. The highest concentrations of IBA inhibited root development. However, the technique of rooting shoots proved to be a favorable alternative to the production of seedlings of blackberry.

---

**KEYWORDS:** Brazos, root cuttings, shoots, multiplication, auxin, cytokinin.



## 1 INTRODUÇÃO

A melhoria da renda da população brasileira, associado às mudanças para hábitos alimentares mais saudáveis tem contribuído para o aumento da demanda de frutas frescas.

Muitas das atuais campanhas de estímulo ao consumo de frutas e hortaliças têm levado em conta o sabor e o aroma, além do apelo à saúde. O fato de possuírem propriedades antioxidantes, vitaminas e minerais atribui-lhes qualidades de prevenir e controlar algumas doenças como as cardíacas e o câncer (GUTIERREZ; ALMEIDA, 2007).

Nesse contexto, as fruteiras de clima temperado têm grande destaque e entre elas, o cultivo de pequenas frutas vem crescendo e diversificando-se nos últimos anos, principalmente nos Estados das regiões Sul e Sudeste, que apresentam áreas com clima propício para o cultivo dessas espécies. A expressão inglesa *Small Fruits* ou pequenas frutas caracteriza culturas nas quais se enquadram a amora-preta, a framboesa, o mirtilo, a groselha e o morango, este último, o mais expressivo e cultivado. Portanto, a amoreira-preta (*Rubus spp.*) surge como opção para esta diversificação, pela rusticidade, menor investimento por

área e possibilidade de geração de renda (ANTUNES, 2002). O fruto da amoreira destaca-se também na preferência dos consumidores pela aparência, sabor e pela versatilidade, podendo ser usado para o consumo *in natura* ou processado na forma de sucos naturais ou concentrados, frutos em caldas, polpa para sorvetes, corantes naturais, produtos geleificados como geléias e doces cremosos. Além disso, é um fruto saudável, cuja composição nutricional proporciona uma série de benefícios à saúde, rico em minerais e vitaminas (Poling, 1996), além de antioxidantes como o ácido elágico, que possui funções antimutagênicas e anticancerígenas (SCHAKER, ANTONIOLLI, 2009).

O Brasil desponta como potencial produtor dessa espécie e o Rio Grande do Sul, Santa Catarina, Paraná e Minas Gerais os estados que mais se destacam na produção da amoreira-preta. O estado de São Paulo apresenta regiões potenciais para o cultivo da amoreira-preta, tendo clima favorável e um grande mercado consumidor, ávido por alimentos saudáveis e diferentes, além atender consumidores de mercados mais exigentes.

A propagação da planta de amoreira-preta pode ser sexuada ou assexuada, sendo esta última mais empregada na produção comercial. As sementes apresentam baixo índice de germinação e curto período de viabilidade, sendo mais utilizadas em programas de melhoramento.

A propagação assexuada da planta de amoreira-preta se dá por meio de rebentos (brotos), estacas herbáceas e lenhosas, além de estacas de raízes (JENNINGS; NCNICOL apud VILLA et al., 2006).

A utilização de estacas da parte aérea tem como vantagens o aproveitamento dos materiais retirados da planta no momento da poda e a não proliferação de patógenos do solo, porém apresenta variabilidade no enraizamento e brotação.

O método de propagação por estacas de raízes é o tradicionalmente utilizado, de simples preparo e de baixo custo. Consiste na multiplicação de segmentos de raízes destacados da planta matriz, que em condições favoráveis, produzem raízes adventícias e emitem brotações que formarão a nova muda. Esse método tem a desvantagem de produzir mudas desuniformes, além da possibilidade de transmissão de patógenos do solo, principalmente, nematóides. Uma alternativa para amenizar tais problemas seria a utilização

de estacas de raízes para a produção de brotações e o destacamento e a promoção do enraizamento dessas brotações em substratos isentos de patógenos. Nesse processo, a utilização de reguladores vegetais torna-se necessária para garantir maior índice de brotação e de enraizamento, além de maior uniformidade.

A utilização de citocinina, regulador vegetal com ação no processo da divisão celular das plantas, é essencial ao desenvolvimento da parte aérea. Sua utilização em excesso pode ser tóxico, causando grande número de brotações, diminuição das folhas, encurtamento dos entrenós, engrossamento exagerado do caule e vitrificação. O 6-benzilaminopurina (BAP) tem sido muito eficiente na multiplicação da parte aérea, indução de gemas adventícias e quebra da dominância apical.

O *Promalin*® é um bioestimulante comercial formado por dois reguladores vegetais, um do grupo químico das citocininas (CK) e outro das giberelinas (GA), que atuam no aumento da divisão celular e alongamento das células.

O ácido indol-3-butírico (IBA), regulador vegetal sintético do grupo das auxinas, é considerado um dos melhores estimuladores do enraizamento, substância mais estável, de ação localizada e pouco tóxico. Quando a auxina é aplicada na base da estaca o aumento da sua concentração produz efeito estimulador de raízes até um ponto máximo, a partir do qual, qualquer acréscimo é inibitório (ALVARENGA; CARVALHO, 1983).

Diante do exposto, o presente trabalho teve como objetivo estudar os efeitos de citocinina e bioestimulante (citocinina/giberelina) para promover as brotações em estacas de raízes e de auxina para promover a formação de raízes nessas brotações, com isso propondo uma alternativa para melhorar o processo de produção de mudas da amoreira-preta (*Rubus spp.*).

## **2 REVISÃO DE LITERATURA**

### **2.1 Características gerais e importância econômica**

Estima-se que no ano de 2007, o Brasil alcançou a produção de aproximadamente 76.141.185 toneladas de frutas e olerícolas (25 espécies pesquisadas), em uma área em torno de 5.467.358 ha, dos quais 41.181.247 toneladas de frutas (21 espécies), em uma área de 3.293.086 ha (AGRIANUAL, 2010).

As fruteiras de clima temperado têm grande destaque pelo aumento da demanda de frutas frescas e entre elas, o de pequenas frutas, que vem crescendo e diversificando-se nos últimos anos, principalmente nos estados das regiões Sul e Sudeste, que apresentam áreas com clima propício para o cultivo dessas espécies.

A amoreira-preta é uma frutífera de clima temperado, nativa da Europa e na América do Norte e introduzida na região Sul do Brasil em 1972, onde vem sendo cultivada com sucesso. Pertence à família Rosaceae e ao gênero *Rubus*, o qual é

bastante diversificado, contemplando cerca de 400 espécies, principalmente, de framboeseira e amoreira difundidas pela América do Norte, América do Sul, Europa, África e Ásia.

Um dos grandes produtores mundiais de amora-preta e framboesa são os Estados Unidos, com sua maior área de produção situada a noroeste do Pacífico, Michigan e Arkansas (ANDERSEN; CROKER, 2008). Dickerson (2003) relatou que a maioria dos cultivos de pequenas frutas nos Estados Unidos é de uva, framboesa, amora-preta e morango, sendo classificados como *berry*, *grape*, *raspberry*, *blackberry* e *strawberry*, respectivamente.

É um fruto saudável, cuja composição nutricional proporciona uma série de benefícios à saúde, possuindo em 100 g de fruta, segundo Lorenzi et al. (2006): 61 calorias; 79 g de água; 1 g de proteína; 0,6 g de gordura; 13 g de carboidratos; 36 mg de cálcio; 48 mg de fósforo; 1,6 mg de ferro; 282 mg de potássio; 0,01 mg de vitamina A; 0,01 mg de vitamina B1; 0,04 mg de vitamina B2; 18 mg de vitamina C e 0,2 mg de niacina (B3). Granada, Vendruscolo e Treptow (2001) fizeram a caracterização química e sensorial de sucos de amoreira-preta cv. Brazos que apresentou gosto ácido pronunciado, sendo considerados de menor qualidade. No teste de preferência com os sucos das cultivares Guarani e Tupi, destacou-se a cultivar Tupi, com 64% de preferência dos consumidores.

A cultura da amoreira-preta (*Rubus spp.*) tem grande destaque na fruticultura temperada nacional, sobretudo nos estados das regiões Sul e Sudeste, sendo rústica, gerando emprego e renda. O fruto da amoreira-preta destaca-se também na preferência dos consumidores pela aparência, sabor e pela versatilidade, podendo ser usado para o consumo *in natura* ou processado na forma de sucos naturais ou concentrados, frutos em caldas, polpa para sorvetes, geléias, dentre outros.

O estado de São Paulo apresentou na safra 2007/08, em torno de 213,47 hectares plantados de amoreira-preta, apresentando o município de Tarumã a maior área plantada, em torno de 24,20 hectares, seguida pelos municípios de Duartina com 21,20 hectares, Itatinga e Pariqueraçu, com aproximadamente 20,00 hectares plantados (CATI, 2010).

## 2.2. Classificação botânica e fenologia

A amoreira-preta (*blackberry*) pertencente à família Rosaceae e ao gênero *Rubus* que, segundo Ying et al. (1990) contém, aproximadamente, 740 espécies, divididas segundo alguns autores, em 12 subgêneros ou segundo outros, em 15 subgêneros (JENNINGS (1988) apud DAUBENY, 1996).

Muitas cultivares de framboesa (*Rubus idaeus* L.) são originárias de duas subespécies diplóides *Rubus idaeus* L. e *Rubus idaeus vulgatus* Arrhen nativas da Europa e *Rubus idaeus strigosus* (Michx.) nativa da América do Norte e da Ásia. Essas espécies são frequentemente confundidas com a amoreira-preta, por serem do mesmo gênero, possuindo várias características em comum. Mas há algumas diferenças que permitem diferenciá-las e a mais evidente refere-se ao fruto, enquanto o da framboesa é oco, o da amora é consistente. A amoreira-preta possui variedades de hábito decumbente, semiereto e ereto e a framboesa é decumbente e a amora-preta produz frutos em hastes secundárias e a framboesa em hastes primárias (RASEIRA et al., 2004).

Tem como centro de origem a Ásia e sua introdução na Europa ocorreu por volta do século XVII. É uma frutífera de clima temperado, introduzida na região Sul do Brasil em 1972, onde vem sendo cultivada com sucesso.

Atila e Ağaoğlu (2006) relatam que existem poucas diferenças entre a estrutura e o desenvolvimento de gemas de amoreira-preta e framboeseira, dentre elas, que o desenvolvimento de gemas de framboeseira ocorre no início do outono, enquanto da amoreira-preta ocorre na primavera.

Lorenzi et al. (2006) relatam que a planta é um arbusto caducifólio, espinescente ou inerme, de ramos escandecentes, cuja parte aérea se renova todo o ano pelo secamento, poda e posterior brotação; exige entre 100 a 1000 horas de frio (média < 7,2° C) por ano a depender da cultivar, para produzir satisfatoriamente. As folhas são compostas de folíolos cartáceos, glabrescentes em cima e com pelos esparsos embaixo, de 4-7 cm de comprimento. As flores andrógenas são solitárias ou agrupadas, axilares, formadas na primavera. O fruto é do tipo agregado, globoso, cheio, carnoso, de sabor, acidulado e a maturação ocorre no verão.

Diversos autores relatam o comportamento fenológico e produtivo da espécie em vários locais do país, a depender do clima da região. Antunes (1999) observando o comportamento das variedades de amoreira-preta Seleção 3/97, Brazos, Tupy, Cherokee, Caingangue, Guarani, Ébano e Comanche, na região de Poços de Caldas (MG), constatou que para os cultivares Brazos, Tupy e Ébano ocorreram variações entre as safras de 97/98 e 98/99 com diferentes intervalos entre as fases 0, equivalente a botão fechado e 9, equivalente a frutos totalmente pretos, o que pode significar maior flexibilidade destes cultivares em relação às variações ambientais. O intervalo entre fase 0 e 9 para os cultivares estudados, foi em média de 48,37 dias para a safra de 97/98 e de 54,62 dias para a safra de 98/99.

Attílio (2009) estudando a cultivar Tupy, em primeiro ano de produção (2007), na região de Ilha Solteira (SP), teve alta porcentagem de gemas brotadas (90%), com 80% dos brotos produzindo frutos, produção nas gemas terminais dos ramos intervalo da poda até a colheita é de 105 dias e da emissão de botão floral até a colheita de 56 dias.

Botelho et al. (2009) avaliaram o comportamento fenológico da amoreira-preta sem espinhos cv. Xavante em Guarapuava (PR) entre os anos de 2005, 2006 e 2007. A planta apresentou brotação regular entre a segunda quinzena de agosto e final de setembro, floração entre início de outubro e final de novembro, floração entre início de outubro e meados de novembro e colheita de final de novembro a final de janeiro. A produtividade situou-se entre 2.790,5 e 5.952,9 kg ha<sup>-1</sup>, com massa dos frutos entre 4,3 e 5,1 g e teor de sólidos solúveis entre 8,3 e 10,1%.

### **2.3 Características da cultivar Brazos**

Do programa de melhoramento dos Estados Unidos da América originaram-se duas cultivares, Lawton e Dorchester, selecionadas e introduzidas em 1850. As cultivares originadas de cruzamento de várias espécies geneticamente e morfológicamente heterogêneas não diferem em relação à frutificação e ao hábito de crescimento da planta (MOORE; SKIRVIN, 1990).

Das cultivares de amoreira-preta norte-americanas uma das que mais se destacam é a cultivar Brazos. Sua origem é no estado americano do Texas, lançada pela Universidade do Texas (Texas A&M University), resultado da seleção da segunda geração entre Lawton e Nessberry (Tetraplóide ( $4n=28$  cromossomos)), sendo introduzida no ano de 1959. Sua área de adaptação vai da Costa do Golfo, norte ao centro de Arkansas, sendo resistente a temperaturas em torno de  $-17^{\circ}\text{C}$  (MOORE; SKIRVIN, 1990; ANTUNES; RASEIRA, 2004).

As hastes são semi-eretas com espinhos e é uma das primeiras cultivares a florescer na região sul do Brasil, sendo a flor branca e grande e a floração, uniforme. A mesma inicia, geralmente, na segunda semana de setembro e a plena floração ocorre normalmente na segunda semana de outubro. O sabor é doce ácido, mas sobressai a acidez e um pouco de adstringência (ANTUNES, 2004; ANTUNES; RASEIRA, 2004).

A planta é muito precoce e produtiva, moderadamente vigorosa e muito ereta. Em Pelotas (RS), a maturação inicia-se em meados de novembro, estendendo-se até meados ou mesmo final de dezembro, as frutas são de tamanho médio, com peso variável entre 4 a 7g (mas, com a maioria entre 3 e 4 g), com sabor agradável (acidez acentuada) e sólidos solúveis entre (7 e  $8^{\circ}\text{Brix}$ ). A necessidade de frio é estimada entre 400 a 500 horas.

Antunes (1999) avaliou os aspectos fenológicos e produtivos de cultivares de amoreira-preta no planalto de Poços de Caldas (MG), sendo as cultivares Brazos e Comanche as mais precoces, com floração no primeiro decênio de setembro e a produção, no terceiro decênio de outubro. A cultivar mais produtiva foi Brazos (com 5,3 kg/planta), seguida da Guarani (4,773 kg/planta), Tupy (3,632 kg/planta) e Comanche (3,470 kg/planta), sendo a primeira a mais vigorosa em produção de material vegetal.

## **2.4 Propagação vegetativa**

O cultivo e a propagação de plantas se iniciaram quando as primitivas tribos humanas abandonaram seu meio de vida nômade e caçador para habitar em comunidades assentadas, por volta de 8000 a.C. no Oriente Médio, dando início à



agricultura. Descobriram que podiam propagar videiras, oliveiras, figueiras e preservar características dessas plantas, cravando talos lenhosos no solo. Em 2000 a.C., a prática do enxerto era comum na Grécia, Oriente Médio, Egito e China. A propagação mediante órgãos de reserva iniciou-se no Mediterrâneo (cebola e alho), África tropical (cana-de-açúcar), América do Sul (batata) e Ásia (bambu). Durante os séculos XVIII e XIX, muitas espécies vegetais foram descobertas graças aos contatos entre Europa e Japão, China e Índias Orientais, Austrália, África e América, dando grande importância aos propagadores. Depois de 1940, a prática da estaquia com o uso de substâncias promotoras do enraizamento (auxinas), tornou-se corriqueira entre os jardineiros e propagadores (TOOGOOD, 2007).

A propagação vegetativa, ou assexual, explora a habilidade natural, através da separação de partes vegetativas de um tecido vegetal como raízes, brotos e folhas, na qual, a partir de um simples exemplar (planta) pode-se produzir outra planta geneticamente idêntica ao progenitor, um clone (HARTMANN et al., 2002; TOOGOOD, 2007).

Em *Rubus spp.*, Jennings (1993) revelou que mutações genéticas em genes recessivos de plantas de amoreira-preta poliplóides pode ter acontecido e gerado plantas sem espinhos, porém mutações deletérias, causadas por circunstâncias excepcionais, podem ocorrer e ser agravadas pelo método de propagação.

A propagação vegetativa é possível por causa de duas propriedades fundamentais das células das plantas, uma é a totipotência, que significa que toda célula viva da planta contem a informação genética necessária para reconstruir todas as suas partes e funções. A segunda é a dediferenciação, a capacidade previamente desenvolvida, das células dediferenciarem para retornar à condição meristemática e desenvolver um novo ponto de crescimento (HARTMANN et al., 2002).

Além disso, a mais óbvia característica ligada à propagação vegetativa é a habilidade de crescer. Crescimento que, segundo os mesmos autores, consiste primariamente em aumentar o número de células, seguido por alongamento destas novas unidades (células) e espaços intercelulares adjacentes. Desenvolvimento, por outro lado, necessariamente acompanharia o crescimento, sendo diferenciados por se referir ao conceito

qualitativo de várias mudanças no tipo de crescimento (MAHLSTEDE; HABER, 1957; HARTMANN et al., 2002).

Geralmente, o crescimento das plantas ocorre em regiões de divisão celular intensa, conhecida como meristemas. Essas regiões de crescimento estão localizadas em certos pontos de crescimento apical, em brotações, gemas e raízes. A diferença entre o meristema das brotações e do meristema da raiz é somente com relação à organização das células apicais. Nas brotações, o meristema se encontra agregado à parte superior do ponto de crescimento; na raiz, se encontra tipicamente agregado embaixo da coifa (MAHLSTEDE; HABER, 1957).

Um grupo de células em crescimento (meristema), normalmente cercadas pelo tecido vascular, passa a produzir uma série de raízes iniciais, células radiciais, que formarão gemas radiciais e, posteriormente, raízes adventícias. Este processo regenerativo é utilizado na multiplicação a partir de estacas que explora a habilidade de algumas plantas e/ou fragmento de tecido vegetal (caule, folha, raiz, gema) em se transformar em uma nova planta totalmente desenvolvida, com suas próprias raízes e gemas (TOOGOOD, 2007).

Ono e Rodrigues (1996) relataram que vários aspectos devem ser observados para o sucesso da propagação por estacas caulinares, dentre eles: a coleta de ramos nas primeiras horas do dia, acondicioná-los em sacolas de polietileno pulverizados com água, em local sombreado e arejado, até o momento da produção das estacas; realizar tratamento auxínico, quando necessário, atentar para o tipo de estaca empregada, considerar a concentração e o tempo de aplicação do regulador vegetal empregado e local recomendado, com umidade elevada e temperatura variando entre 15 e 25°C. Primeiramente, sempre que possível, realizar testes para a espécie ou cultivar do qual se pretende propagar, permitindo, prever o tempo necessário para a formação das raízes, a necessidade ou não do tratamento com auxinas e sua concentração, o tipo de substrato e o tipo de estaca, seja ela, lenhosa, semilenhosa ou herbácea.

Hartmann et al. (2002) revelaram que a formação de raízes adventícias é um processo que envolve uma sequência de eventos histológicos, com cada

estádio tendo diferentes requerimentos de substâncias promotoras de crescimento como: auxinas, citocininas, giberelinas, entre outras.

Fadll e Hartmann (1967) com estacas lenhosas de pereira, tratadas e não tratadas com IBA, discutiram a possibilidade da existência de um fator endógeno favorável ao enraizamento, em espécies que tem facilidade para enraizar, podendo envolver um co-fator fenólico com uma auxina, resultando na formação de um complexo, favorável ao enraizamento. Contudo, em materiais que teriam dificuldade para enraizar, tal fator não existiria, resultando em alta atividade inibitória ao enraizamento.

## **2.5 Uso de reguladores vegetais**

Segundo Frankenberger e Arshad (1995) e Taiz e Zeiger (2009) o desenvolvimento das plantas é controlado por substâncias orgânicas naturais, denominados hormônios vegetais, sintetizados em pequenas concentrações e que agem em diferentes locais nas plantas. Quando essas substâncias são produzidas artificialmente, são chamadas de reguladores vegetais, como por exemplo, auxinas e citocininas sintéticas. Atualmente, auxinas sintéticas são utilizadas comercialmente como o ácido indol-3-butírico (IBA) e o ácido naftalenoacético (NAA) para a promoção do enraizamento, especialmente em certas estacas de plantas que tem dificuldade de enraizar. Já as citocininas são citadas como reguladores da divisão celular e da diferenciação de certos tecidos de plantas, como observadas nas atividades das citocininas, zeatina (Z), isopentinil adenina (iP), cinetina (Kt) e 6-benzilaminopurina (BAP).

A auxina estimula as células do periciclo a se dividirem formando o primórdio radicial, crescendo a raiz lateral através do córtex e da epiderme da raiz. A citocinina pode regular a divisão celular *in vivo*, atuando no aumento do tamanho do meristema apical da raiz, que é sua principal fonte, indicando que pode desempenhar papel importante na regulação da proliferação de células iniciais e da vascularização da raiz (TAIZ; ZEIGER, 1991; TAIZ; ZEIGER, 2009).

No caso das auxinas sintéticas, o IBA é considerado um dos melhores estimuladores do enraizamento, substância mais estável que o ácido-indol-3-acético (IAA), neste caso de ação localizada e pouco tóxico, já o NAA é um composto mais tóxico que o IBA, sendo utilizado em concentrações menores. Quando a auxina é aplicada na base da estaca o aumento da sua concentração produz efeito estimulador de raízes até um ponto máximo, a partir do qual, qualquer acréscimo é inibitório (ALVARENGA; CARVALHO, 1983).

Araújo et al. (2005) utilizando estacas lenhosas de figueira retiradas no momento da poda hiberna e colocadas em câmara de nebulização intermitente por um período de 15 dias, posteriormente tratadas com diferentes dosagens de IBA, verificaram que as concentrações de 400 e 800 mg kg<sup>-1</sup> de IBA, aumentaram o potencial de enraizamento de estacas de figueira, enquanto que na concentração de 1600 mg kg<sup>-1</sup> ocorreu fitotoxidez. No enraizamento de estacas semi-lenhosas de mirtilo, tratadas com diferentes concentrações de IBA sob telado equipado com nebulização intermitente, a cultivar Bluebelle respondeu melhor na concentração de 1.000 mg L<sup>-1</sup>, aos 120 dias, com maior número e comprimento de raízes, maior número e comprimento de brotações e enraizamento de 37,5% (FISHER et al., 2007).

Sartor e Müller (2008) verificando a influência do IBA, do substrato e da posição da estaca de jaboticabeira na propagação *in vivo*, descobriram que no campo, estacas provenientes da região mediana da planta, cultivada em areia e na presença de IBA aumentaram o número de gemas. Já Schuch et al. (2007) testando a aplicação de IBA em microestaquia em mirtilo, descobriram que o emprego de microestacas oriundas da região mediana da planta proporcionou elevados índices de enraizamento, independentemente das concentrações de IBA, porém para microestacas da região apical, a aplicação de IBA (2000 mg L<sup>-1</sup>) foi fundamental para o enraizamento. Augusto et al. (2006) estudando o enraizamento *in vitro* de amoreira-preta cv. Brazos com aplicação de IBA (1mM) obtiveram mais de 95% de enraizamento.

Com relação à citocinina o BAP tem sido muito eficiente na multiplicação da parte aérea, indução de gemas adventícias e quebra da dominância apical. Além disso, há a possibilidade do uso de bioestimulantes que, segundo Castro e Vieira

(2001) seria a mistura de dois ou mais reguladores vegetais ou outras substâncias como aminoácidos, nutrientes e vitaminas possuindo a capacidade de estimular o desenvolvimento radicial, aumentando a absorção de água e nutrientes pelas raízes, podendo favorecer também o equilíbrio hormonal da planta e o desenvolvimento da planta.

O *Promalin*® é um bioestimulante comercial formado por dois grupos de reguladores vegetais, uma citocinina (CK) e outro, do grupo químico das giberelinas (GA), que atuam no aumento da divisão celular e alongamento das células, estimulam o aumento das células em volume, assim como a plasticidade da cutícula (WACHOWICZ; CARVALHO, 2002; VALENT BIOSCIENCES, 2010).

A giberelina é sintetizada, principalmente, no ápice caulinar e nas folhas jovens em desenvolvimento, sendo encontrada também em exsudatos e extratos de raízes; participa da divisão celular e crescimento da parte aérea (TAIZ; ZEIGER, 2009). Além disso, em baixas concentrações pode promover o desenvolvimento de raízes.

Diversos trabalhos na literatura citam o uso de *Promalin*® afetando o desenvolvimento das plantas (EMONGOR et al., 2004; JACYNA; PUCHALA, 2004; RUFATO et al., 2004; KIM et al., 2005; BENNEWITZ et al., 2009), além do florescimento (FUNNELL; MACKAY, 2004).

Jung e Lee (2008) verificaram melhores resultados na indução da brotação de macieiras Fuji/M9 tratadas com *Promalin*® no viveiro. O produto favoreceu o desenvolvimento de brotos laterais em estacas com meia folha. Os autores relataram que a aplicação de *Promalin*® pode ter causado aumento no conteúdo relativo de citocininas em relação a auxinas, concluindo que o desenvolvimento de brotos laterais pode ter sido controlado pela dominância apical, sendo esta, quebrada pelo desbalanço no conteúdo de citocininas e auxinas.

Diante do exposto, uma alternativa para a propagação da planta de amoreira-preta, favorecendo a produção de mudas, com maior índice de enraizamento e brotação, seria promover brotações em estacas de raízes e o posterior enraizamento dessas brotações com o uso de reguladores vegetais.

## **2.6 Propagação da amoreira-preta**

A propagação da planta de amoreira-preta pode ser sexuada ou assexuada (vegetativa), sendo esta última mais empregada na produção comercial. As sementes apresentam baixo índice de germinação e curto período de viabilidade, sendo mais utilizadas em programas de melhoramento.

A propagação assexuada da planta de amoreira-preta se dá por meio de rebentos (brotos), estacas herbáceas e lenhosas, além de estacas de raízes (Browse, 1979; Jennings e McNicol apud Villa et al., 2006; Dias e Ono, 2010). Antunes (1999) e Antunes e Raseira (2004) relataram que o perfilhamento da planta é elevado, produzindo muitas brotações entre as linhas de plantio, as quais precisam ser retiradas para não dificultar o trânsito de implementos e de pessoas durante as práticas de manejo e tratos culturais. Esses perfilhos podem ser utilizados para a produção de mudas, desde que o substrato permita a manutenção das estacas em um ambiente úmido, escuro e bem aerado.

Os rebentos, estacas herbáceas ou lenhosas quando utilizados na produção de mudas, normalmente não apresentam brotação uniforme e, conseqüentemente, podem não atender o número suficiente de mudas, além de apresentarem tamanho irregular, acarretando em desuniformidade das plantas.

A utilização de estacas da parte aérea (Figuras 1 e 2) tem como vantagens o aproveitamento de materiais retirados da planta no momento da poda, porém apresenta variabilidade no enraizamento e brotação. Antunes, Chalfun e Regina (2000) revelaram que a utilização de estacas lenhosas na propagação da espécie tem sido utilizada, durante o período de repouso vegetativo, por ocasião da poda, obtendo-se uma grande quantidade de ramos para a confecção de estacas, podendo maximizar a utilização do material vegetal que seria descartado.

Andrade et al. (2007) utilizando estacas herbáceas, relatam que não há necessidade do uso de reguladores vegetais sobre condições totalmente controladas, como em câmara de nebulização intermitente. Antunes (1999), utilizando estacas lenhosas após repouso hibernar e sem a utilização de reguladores vegetais, obteve grande número de mudas nas variedades Brazos, Caingangue, Tupy, Guarani e Ébano que apresentaram enraizamento

superior a 85%. Entretanto, as variedades Comanche, Cherokee e seleção 3/97 apresentaram enraizamento inferior a 50%.

A cultura de tecidos surge como outra opção na propagação da amoreira-preta (VILLA et al., 2008a, VILLA et al., 2008b). Embora seja um método mais oneroso, com consequente aumento do preço do propágulo para o produtor, apresenta como vantagens à melhor qualidade das mudas, como uniformidade, vigor e sanidade, principalmente a isenção de viroses e nematóides, responsáveis pela degenerescência da planta. Oliveira et al. (2006) quantificando o potencial de multiplicação *in vitro* de cultivares de amoreira-preta, descobriram que o maior potencial médio de multiplicação foi da cv. Ébano (7,8), seguida pela Tupy (6,6), Cherokee (6,1) Comanche (6,1) Xavante (5,9), Brazos (5,5) e Guarani (5,4), após seis subcultivos. Bobrowski et al. (1996) com micropropagação por rebentos com as cultivares de amoreira-preta Ébano, Tupy e Guarani, concluíram que a taxa de multiplicação muda de acordo com o genótipo utilizado.

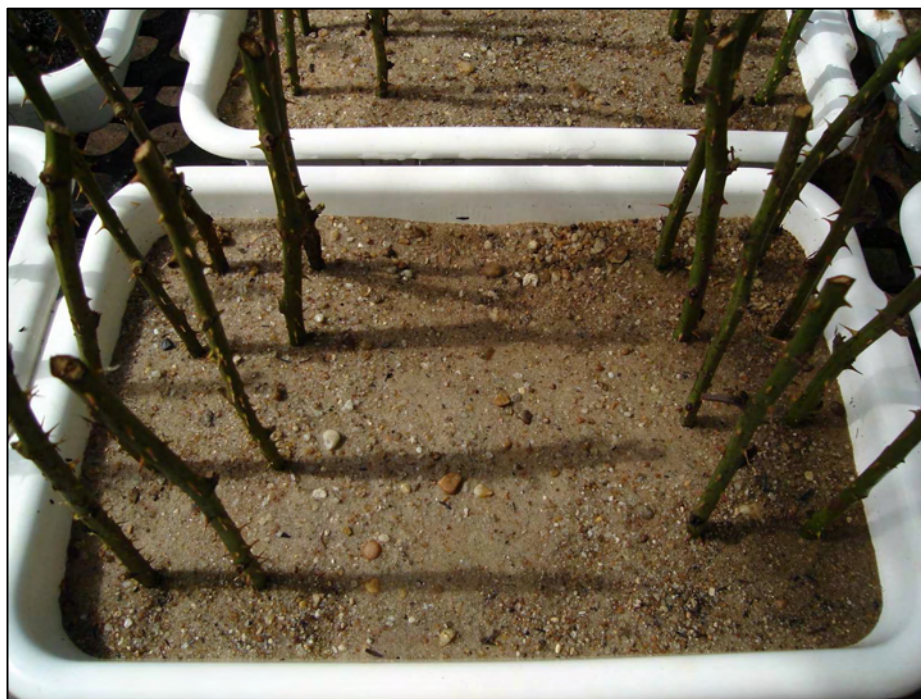


Figura 1. Estaquia de ramos da parte aérea de amoreira-preta.



Figura 2. Aspecto das brotações de estacas de ramos da parte aérea.



Figura 3. Detalhes da estaca de raiz de amoreira-preta.





Figura 4. Formação da muda por estaca de raiz.

O método de propagação por estacas de raízes é o tradicionalmente utilizado para a amoreira-preta (Figuras 3 e 4), sendo de simples preparo e de baixo custo. Hill (1996) relata que, na primavera, plantas de framboeseira e amoreira-preta têm suas raízes desenterradas e cortadas em pedaços, com cerca de 2,5 cm de comprimento, sendo plantados verticalmente de 2 a 4 cm abaixo da superfície e a 5 cm de distância entre si. Já, Moore e Skirvin (1989) consideraram estacas de raízes com aproximadamente 7 a 10 cm de comprimento e diâmetro de 5 a 9 mm, capazes de produzir mudas rapidamente e com alto rendimento.

Já em 1662, John Evelyn descrevia a possibilidade das plantas serem multiplicadas por raízes. Em 1731, Philip Miller escreveu em *The Gardener's Dictionary* a propagação de determinadas árvores a partir de estacas radiciais, referindo que se tratava de prática corrente entre os jardineiros. Entre as plantas que, por vezes, são propagadas por este processo figuram as dos gêneros *Rubus* (amoreira-preta), *Prunus* (ameixeira), *Acacia* (mimosa, algumas espécies), *Catalpa* (castanheira-da-Índia), *Robonia*, *Chaenomeles*,

*Passiflora*, dentre outras (BROWSE, 1979). Estudando a propagação via estacas de raízes de framboeseira cv. Heritage e Batun, Macedo et al. (2008) revelaram que a técnica mostrou-se eficiente.

Busby e Himelrick (1999) reportaram que diferenças no enraizamento de *Rubus spp.* podem ocorrer, sendo afetados pelo cultivar, concentrações de IBA e o método de aplicação. Comparando com estacas não tratadas, houve aumento do desenvolvimento de raízes do cultivar Navaho tratadas com 3000 e 8000 mg L<sup>-1</sup> de IBA em imersão rápida (5 s) em solução. Estacas cv. Chester tratadas com 1000 e 8000 mg L<sup>-1</sup> de IBA na forma de talco e 3000 e 8000 mg L<sup>-1</sup> de IBA em imersão rápida (5 s) em solução produziram melhores sistemas radiciais quando comparado com estacas não tratadas. O tratamento do cv. Cheyenne com 3000 mg L<sup>-1</sup> de IBA em talco e 8000 mg L<sup>-1</sup> de IBA em imersão rápida aumentaram raízes quando comparado com estacas não tratadas. Estacas do cv. Olallie enraizaram melhor que estacas não tratadas com 1000 e 3000 mg L<sup>-1</sup> e IBA em talco e 3000 mg L<sup>-1</sup> de IBA em imersão rápida.

Bray et al. (2003) observaram interações significativas do cultivar e da localização da estaca no ramo (basal, mediana e apical), além do cultivar e do tratamento com auxina. O cv. Apache com tratamento rápido de IBA teve alta porcentagem de enraizamento (46,7%). Já, estacas lenhosas de amoreira-preta cv. Arapaho e Navaho com auxina tiveram baixo enraizamento, 14,2 e 26,9%, respectivamente, porém sem o regulador vegetal obtiveram médias de 47,5 e 38,1%, respectivamente.

Estudando concentrações de IBA e períodos de escuro, no enraizamento *in vitro* da amoreira-preta, Radman et al. (2003) verificaram que períodos de escuro e concentrações de IBA não influenciaram na porcentagem de enraizamento.

Villa et al. (2007) estudando a influência do carvão ativado e BAP na multiplicação *in vitro* de amoreira-preta e videira, verificaram que a maior massa da matéria fresca da parte aérea das duas fruteiras foi obtida na ausência de carvão ativado. No mesmo trabalho, também verificaram que o maior número de folhas e raízes de amoreira-preta foi obtido com 0,5 mg L<sup>-1</sup> de BAP.

Estudando o efeito do BAP e qualidade da luz na multiplicação *in vitro* de amoreira-preta 'Xavante', Figueiredo et al. (2008) obtiveram maior número de

brotações com as concentrações de 0,25 e 0,75 mg L<sup>-1</sup> de BAP. Já Villa et al. (2005) avaliando diferentes concentrações de meio MS e BAP na multiplicação *in vitro* de amoreira-preta, constataram que os melhores resultados foram em meio MS a 150% acrescido de 1 mL L<sup>-1</sup> de BAP para a característica número de folhas e brotos. Estudando o efeito de meios de cultura, cinetina e GA<sub>3</sub> na multiplicação *in vitro* de amoreira-preta, Villa et al. (2006) constataram que a multiplicação de brotos ocorreu apenas nos tratamentos que continham cinetina associada aos meios de cultura B5 e Knudson. Villa et al. (2008b) verificaram que na cultivar Brazos o maior comprimento e número de raízes foram estimulados em meio Roubelakis e MS adicionados de 0,5 mg L<sup>-1</sup> de BAP. Contudo, no trabalho de Sartor e Muller (2008) os quais avaliaram o efeito do BAP no cultivo de microestacas de amoreira-preta *in vitro*, verificaram que em concentrações de 0,6, 0,8 e 1,0 mg L<sup>-1</sup> houve maior desencadeamento de fungos, promovendo maior contaminação das estacas provenientes da região mediana dos ramos da planta e na sua ausência, houve alta incidência do patógeno em estacas da região mediana e apical.

Erig et al. (2002) obtiveram maior número de gemas com 2 µM de BAP e ausência de IBA, enquanto que o maior número de brotações ocorreu com 2 e 4 µM de BAP na multiplicação *in vitro* da amoreira-preta cv. Tupi. Augusto et al. (2006) testaram o enraizamento *ex vitro* de microestacas multiplicadas com diferentes citocininas, BAP, cinetina, zeatina e 2-isopenteniladenina nas concentrações de 5 e 10 µM, as taxas de enraizamento e sobrevivência foram de 100%.

A propagação por estacas de raízes consiste na multiplicação de segmentos de raízes destacados da planta matriz, que em condições favoráveis, produzem raízes adventícias e emitem brotações que formarão a nova muda. Tal método tem a desvantagem de produzir mudas desuniformes, além da possibilidade de transmissão de patógenos do solo, principalmente nematóides. Uma alternativa para amenizar tais problemas seria a utilização de estacas de raízes para a produção de brotos, o destacamento e a promoção do enraizamento desses brotos em substratos isentos de patógenos. Nesse processo a utilização de reguladores vegetais torna-se necessária para garantir maior índice de brotação e de enraizamento, além de maior uniformidade.

## 2.7 Carboidratos

Os reguladores vegetais promovem o desenvolvimento de diferentes espécies, devendo, entretanto, estudar outros fatores que possam influenciar na propagação da espécie como o cultivar, a época de coleta de material, parte da planta utilizada, além do conteúdo endógeno de diversas substâncias, dentre elas, os carboidratos.

Os carboidratos compreendem cerca de 90% da matéria seca das plantas (WHISTHER; BEMILLER, 1997). São polihidroxialdeídos ou polihidroxiacetonas, ou substâncias que liberam esses compostos por hidrólise. São divididos em três classes: monossacarídeos, oligossacarídeos e polissacarídeos. Os primeiros são açúcares simples que consistem de uma única unidade de polihidroxialdeído ou acetona, sendo o mais abundante a D-glicose. Os oligossacarídeos consistem de cadeias curtas de unidades de monossacarídeos unidas entre si por ligações glicosídicas, tendo como representante a sacarose. Os polissacarídeos consistem de longas cadeias contendo centenas ou milhares de unidades de monossacarídeos, sendo os mais abundantes o amido e a celulose (BINKLEY, 1988; LEHNINGER et al., 1995; WHISTHER; BEMILLER, 1997).

O termo “açúcar” é frequentemente usado para se referir há alguns membros do grupo dos mono e oligossacarídeos, sendo compostos de 1 a 9 unidades de açúcares (BINKLEY, 1988).

Os amidos são compostos formados basicamente por dois polímeros: amilose, de cadeia carbônica essencialmente linear e amilopectina, de cadeia carbônica altamente ramificada (BULÉON et al., 1998; SINGH et al., 2003).

O armazenamento do amido sob forma de grânulos é um processo conveniente para a planta, uma vez que é uma fonte insolúvel de energia, a qual pode ser gradualmente disponibilizada pela ação de enzimas, sem abaixar o potencial osmótico. Os depósitos de amido podem ser transitórios ou permanentes. O transitório ocorre nas folhas onde ele é acumulado durante o dia e é parcialmente desdobrado e transportado em forma de açúcares mais simples a outras partes da planta, durante a noite. Os depósitos permanentes ocorrem nos órgãos de reserva como é o caso de grãos de cereais, como o milho e o trigo,

além de tubérculos ou raízes como no caso da batata e batata-doce. Podem também ocorrer no caule e nas células imaturas próximas da zona de crescimento (FRANCO et al., 2002).

Hartmann et al. (2002) mencionaram que a relação entre carboidratos e formação de raízes adventícias é controversa. No entanto, a relação (C/N) no crescimento e desenvolvimento da planta tem sido discutidos, com a habilidade de enraizamento de estacas. As reservas de carboidratos livres (carboidratos solúveis) e carboidratos de armazenamento (amidos ou carboidratos insolúveis) são importantes no enraizamento, constituindo complexos blocos de macromoléculas, elementos estruturais e recursos energéticos.

Diversos trabalhos na literatura científica citam relações positivas entre a formação, quantidade e/ou produção de carboidratos nas estacas com a possibilidade de enraizamento, dentre eles destacam-se: Stuart (1938), Mitchell e Stuart (1939), Overbeek et al. (1946) em estacas de hibisco vermelho, Middleton et al. (1978) em estacas de feijoeiro, Leakey e Coutts (1989) em estacas de *Triplochiton scleroxylon*, Kersten et al. (1993) em estacas de ramos de ameixeira, Ono et al. (1995) em estacas de *Actinidia chinensis* Planch., Wiesman e Lavee (1995) em estacas de oliveira, Casagrande Júnior et al. (1999) em estacas de araçazeiro, Gatti (2002) em estacas de Pau mulato, Jequitiba e Teça, Ori (2006) em estacas de *Phalaenopsis amabilis* L., Ferriani et al. (2008) em estacas de *Piptocarpha angustifolia* Dusén e Ochoa et al. (2004) em estacas de *Nerium oleander* L.

Entretanto, alguns autores citam que não houve relação positiva entre a quantidade de carboidratos e o enraizamento, dentre eles: Reuveni e Raviv (1980) em estacas de abacateiro e Bortolini et al. (2008) em estacas de *Tibouchina sellowiana* (Cham.) Cogn.

Reis et al. (2000) revelaram que, embora os carboidratos sejam de grande importância para o enraizamento, servindo como fonte de energia e carbono para a síntese de diversas substâncias essenciais, verificou-se que eles não foram determinantes em promover ou melhorar a capacidade de enraizamento das estacas de *Pyrus calleryana*.

Outros autores revelaram a importância dos teores de carboidratos na formação, mobilidade e acúmulo de açúcares nas diferentes partes das plantas, dentre eles: Cometti et al. (2004) com a cultura da alface, além de Girardi e Pescador (2010) com *Zingiber officinale* Roscoe.

De acordo com Veierskov (1988) apud Reis et al. (2000) o teor de carboidratos é apenas um parâmetro que reflete a condição de desenvolvimento da planta-matriz e pode, desse modo, mostrar uma correlação coincidente com a capacidade de enraizamento das estacas, sem ter nenhuma função reguladora no enraizamento. Embora, o teor de carboidrato da planta-matriz possa influenciar o enraizamento, o seu alto teor nem sempre tem sido correlacionado com um alto potencial de enraizamento.

Outro fator, que tem que ser considerado, é a influência da época de coleta de material na variação dos teores de açúcares totais. Ferriani et al. (2008) trabalhando com estacas de vassourão-branco (*Piptocarpha angustifolia* Dusén), constataram variação do teor de açúcares totais durante diferentes épocas, alcançando teores em torno de 300 mg g<sup>-1</sup> de tecido (Primavera/2004), 280 mg g<sup>-1</sup> de tecido (Verão/2005), 580 mg g<sup>-1</sup> de tecido (Outono/2005) e 350 mg g<sup>-1</sup> de tecido (Inverno/2005).

Ono et al. (1995) trabalhando com kiwi (*Actinidia chinensis* Planch.) variedade Abbott, verificaram que o inverno e outono foram as melhores épocas de coleta de ramos para a produção das estacas caulinares, sendo que o alto teor de açúcares redutores e totais beneficiou a maior porcentagem de enraizamento (aproximadamente, 23 e 36%, respectivamente). Ohland et al. (2009) verificaram que houve maior enraizamento para as estacas apicais de figueira coletadas no mês de junho, com tratamento basal de 2000 mg L<sup>-1</sup> de IBA, proporcionando 70% de enraizamento.

Avaliando o efeito da sazonalidade nos teores de açúcares de dois clones de eucalipto, Torres (2003) observou aumento de 9,10% no verão em relação ao inverno. O ganho em açúcares propiciou incremento de 138,00% e 143,00% em biomassa, em termos de sobrevivência ocorreram ganhos de 2,60% e 1,69% e, em termos de número de estacas produzidas/cepa os ganhos foram de 212,80% e 145,48% para os dois clones de eucalipto, respectivamente.

Entretanto, Bortolini et al. (2008) mencionaram que para estacas de *Tibouchina sellowiana* (Cham.) Cogn, não houve relação positiva entre as altas concentrações de carboidratos e proteínas nas diferentes estações do ano com relação ao enraizamento. Análises bioquímicas feitas nas estacas revelaram que as maiores concentrações de açúcares totais foram obtidas no inverno (83,21 mg g<sup>-1</sup> de tecido) e no

outono ( $72,79 \text{ mg g}^{-1}$ ), recomendando a aplicação de  $3.000 \text{ mg L}^{-1}$  IBA na forma líquida ou em talco para estacas coletadas na primavera.

### **3 MATERIAL E MÉTODOS**

#### **3.1 Planejamento experimental**

O trabalho foi instalado em câmara de nebulização do Departamento de Produção Vegetal, Setor: Horticultura da Faculdade de Ciências Agronômicas do Câmpus de Botucatu da Universidade Estadual Paulista – UNESP, Botucatu, SP.

Este trabalho foi dividido em três experimentos: no primeiro (de Junho a Setembro de 2009) e segundo experimentos (de Janeiro a Março de 2010) estacas de raízes de amoreira-preta (*Rubus spp.*) cv. Brazos foram retiradas da planta matriz e colocadas em ambiente saturado de umidade para promover as brotações e a partir do melhor tratamento, procedeu-se a multiplicação das brotações para instalação do terceiro experimento (de Junho à Agosto de 2010), onde as melhores brotações foram selecionadas pelo vigor vegetativo e tamanho, sendo suas bases cortadas em bisel e tratadas com regulador vegetal e colocadas em substrato para promover o enraizamento destas (Figura 5). Algumas



avaliações realizadas nos experimentos com propagação de amoreira-preta encontram-se discriminadas na metodologia de cada experimento e na Figura 6.

Estacas radiciais de amoreira-preta foram coletadas no município de Itatinga (SP), bairro rural de Engenheiro Serra, Fazenda Santa Terezinha do Rio Bonito localizada à 23°06'06" latitude Sul e 48°36'57" longitude Oeste e altitude de 845 metros, que produz amora-preta orgânica certificada pela BCS OKO-GARANTIE e GLOBALGAP. A fazenda pertence à empresa Louisa Lee e outros, de propriedade de Alex Gordon Lee, onde cultiva amoreira-preta há pelo menos 10 anos, tendo atualmente 15,38 ha de amoreira-preta da cultivar Brazos e 0,77 ha da cultivar Tupy, sendo boa parte irrigada e conduzida em sistema de espaldeira, Figura 7.

Estacas radiciais de amoreira-preta cv. Brazos foram coletadas da parte superficial do solo (0-20 cm de profundidade) de plantas matrizes de pomar comercial no município de Itatinga (SP). Procedeu-se a seleção e padronização das estacas de acordo com o diâmetro médio de 10 mm e comprimento de 100 mm (no primeiro experimento) e de 150 mm (no segundo experimento), sendo realizado corte transversal em ambos os lados da estaca.

Os dois primeiros experimentos foram realizados em delineamento inteiramente casualizado (DIC) e o terceiro, em delineamento em blocos casualizados (DBC).

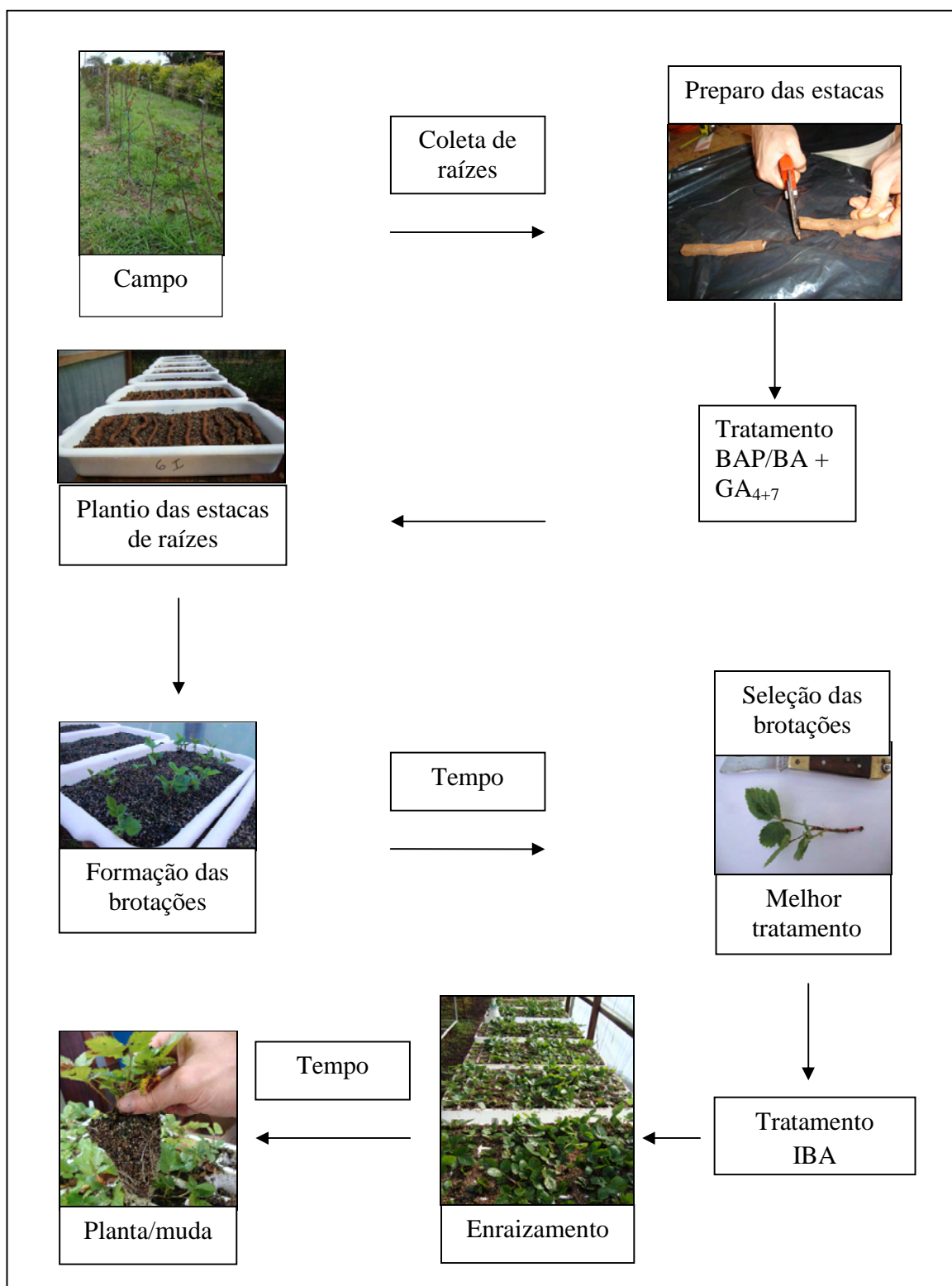


Figura 5. Fluxograma esquemático dos experimentos com propagação de amoreira-preta.

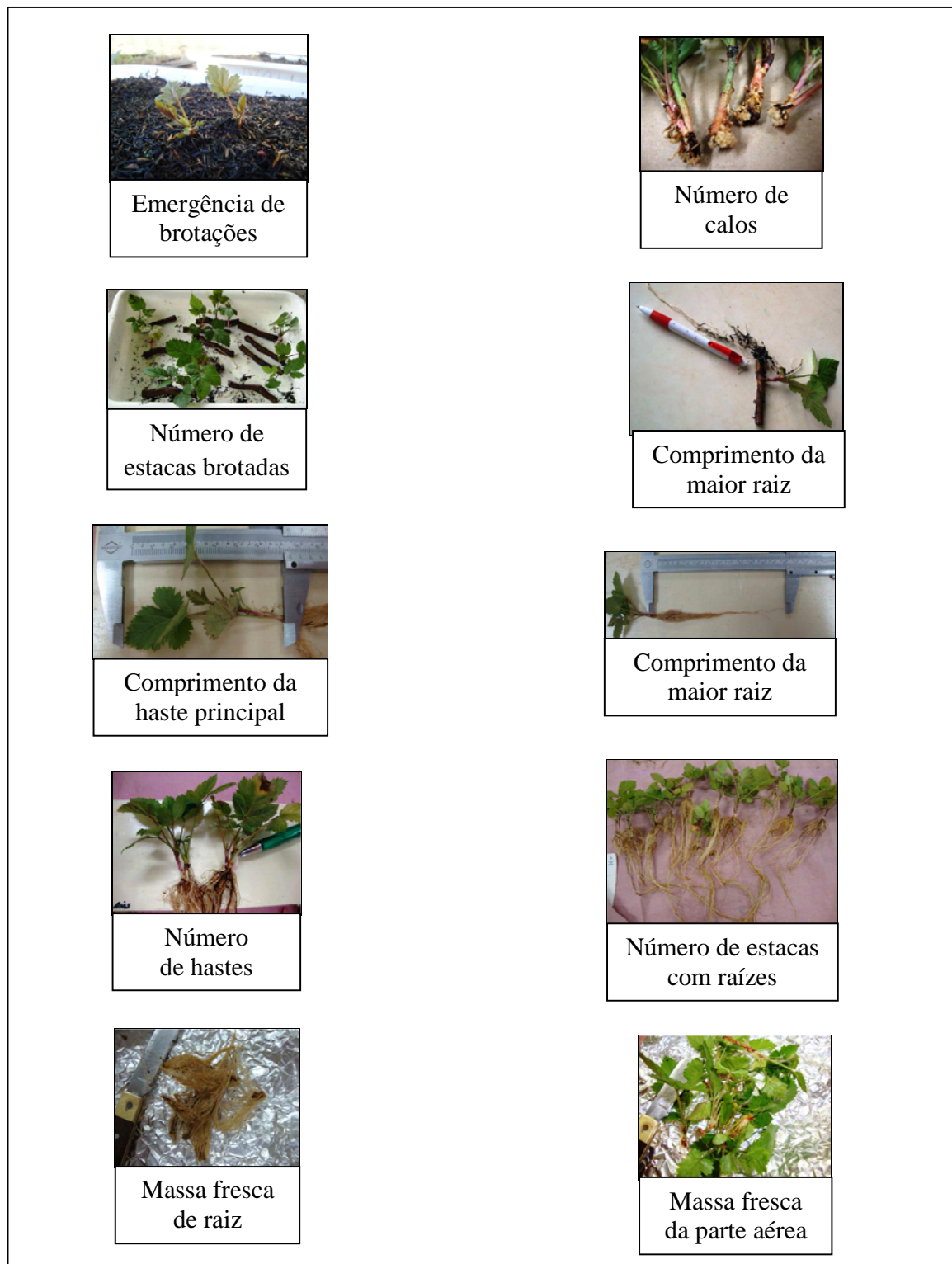


Figura 6. Algumas avaliações realizadas nos experimentos com propagação de amoreira-preta.



Figura 7. Sistema de condução das plantas de amoreira-preta em espaldeira, na fazenda Santa Terezinha do Rio Bonito, Itatinga – SP.

### 3.2 Preparo das estacas, disposição dos materiais e variáveis avaliadas

O primeiro experimento foi constituído de cinco concentrações da citocinina 6-benziloaminopurina (BAP) e quatro repetições, sendo a unidade experimental (parcela) constituída de uma bandeja com 15 estacas radiciais. Os tratamentos constaram de cinco concentrações de BAP, na forma de solução: T1= 0 mg L<sup>-1</sup>; T = 100 mg L<sup>-1</sup>, T3= 200 mg L<sup>-1</sup>, T4= 400 mg L<sup>-1</sup> e T5= 800 mg L<sup>-1</sup>, aplicadas em toda a estaca imersa na solução durante 18 horas.

As estacas foram colocadas espaçadas cerca de três a quatro centímetros uma das outras, em bandejas de polietileno brancas, forradas e cobertas com casca de arroz carbonizada. As bandejas foram devidamente colocadas em câmara de nebulização intermitente com irrigação por microaspersores, distribuídos em intervalos de um metro, com uma vazão de 200 L h<sup>-1</sup>, por um período de 20 segundos, em intervalos regulares de 30 minutos.

Com o auxílio de pulverizador manual foi realizada uma pulverização com o fungicida tiofanato metílico, na dosagem de 120 g 100 L<sup>-1</sup> de água para o controle preventivo de patógenos. Além disso, após a emergência das brotações, procedeu-se a pulverização semanal de fertilizante mineral misto *Plantafol*® 20-20-20, na dosagem de 200 g 100 L<sup>-1</sup> de água, constituído por: Nitrogênio solúvel (20,0% N); Pentóxido de Fósforo solúvel (20,0% P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>); Óxido de Potássio solúvel (20,0% K<sub>2</sub>O); Boro solúvel em água (0,02% B); Cobre solúvel, quelatizado por EDTA (0,05% Cu); Ferro solúvel, quelatizado por EDTA (0,1% Fe), contendo 0,75% de agente quelante EDTA; pH 1% (4,5) e condutividade elétrica 1% (0,69 mS/cm).

Semanalmente avaliou-se a emergência de brotos, sendo feita a contagem manual do número de brotos emergidos acima do nível substrato.

Após um período de aproximadamente 70 dias foram avaliadas as seguintes variáveis: número de estacas brotadas (NEB), sendo feita a contagem do número total de estacas brotadas; número de brotos por estaca (NBE), sendo feita a contagem do número total de brotos por estaca; número de folhas (NF), contagem manual do número total de folhas produzidas durante o período do experimento; comprimento da haste principal (CHP), medição da base do colo até a parte mais alta da estaca utilizando régua graduada ou paquímetro, em cm; massa fresca da parte aérea (MFPA), separação manual de toda parte aérea produzida nas estacas (brotações) e pesagem através de balança de precisão, em mg; massa fresca de raiz (MFR), separação manual de todo o sistema radicial produzido nas estacas e pesagem através de balança de precisão, em mg; porcentagem de enraizamento (%ENR), contagem manual do número total de estacas com raízes e cálculo da porcentagem de enraizamento; comprimento da maior raiz (CMR), medição da base do colo até o ápice radicial utilizando régua graduada ou paquímetro, em cm; e porcentagem de sobrevivência (%SOB), cálculo da porcentagem de sobrevivência utilizando-se estacas que haviam produzido parte aérea e sistema radicial.

Para a determinação de massa seca da parte aérea (MSPA) e massa seca de raiz (MSR) procedeu-se a secagem do material em estufa com ventilação forçada de ar a 60°C até peso constante.

O segundo experimento foi constituído de cinco concentrações da mistura de BA + GA<sub>4+7</sub>, de nome comercial *Promalin*®, fabricado pela Sumitomo, na forma de solução: T1= 0 mg L<sup>-1</sup>; T2= 10 mg L<sup>-1</sup>, T3= 20 mg L<sup>-1</sup>, T4= 40 mg L<sup>-1</sup> e T5= 80 mg L<sup>-1</sup>, posteriormente, as estacas radiciais foram mergulhadas nessas soluções durante 12 horas. Utilizaram-se sete repetições, sendo a unidade experimental constituída de uma bandeja com 10 estacas radiciais.

O bioestimulante *Promalin*® é constituído por de 1,8% de benziladenina (BA), uma citocinina (CK) e 1,8% das giberelinas (GA), GA<sub>4</sub> + GA<sub>7</sub>, com o objetivo de estimular o crescimento lateral (VALENT BIOSCIENCES, 2010).

As estacas foram colocadas espaçadas cerca de três a quatro centímetros uma das outras, em bandejas de polietileno brancas, forradas e cobertas com um substrato composto por: casca de arroz carbonizada, fibra de coco e vermiculita (v:v:v), sendo adicionado 100 g de Yoorin Master para cada 50 L de substrato, constituído por: Fósforo total (17,5% P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>); Fósforo solúvel em ácido cítrico 2% (1:100) (16,0% P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>); Cálcio (18,0% Ca); Magnésio (7,0% Mg); Boro (0,1% B); Cobre (0,05%); Manganês (0,15% Mn); Silício (10,0% Si) e Zinco (0,55% Zn).

As bandejas foram devidamente colocadas em câmara de nebulização intermitente e realizadas a pulverização com fungicida preventivamente da mesma forma descrita anteriormente.

Semanalmente avaliou-se a emergência de brotos, sendo feita a contagem manual do número de brotos emergidos à cima do nível substrato.

Após um período de aproximadamente 70 dias foram avaliadas as seguintes variáveis da mesma forma descrita anteriormente: número de estacas brotadas (NEB), número de brotos por estaca (NBE), número de folhas (NF), comprimento da haste principal (CHP), massa fresca da parte aérea (MFPA), massa seca da parte aérea (MSPA), massa fresca de raiz (MFR), massa seca de raiz (MSR), porcentagem de enraizamento (%ENR), comprimento da maior raiz (CMR) e porcentagem de sobrevivência (%SOB), além da análise de carboidratos solúveis totais.

Para a determinação da quantidade de açúcares solúveis totais, realizada no segundo e terceiro experimentos, procedeu-se à secagem das estacas de raízes

retiradas do campo, antes e após o tratamento com diferentes concentrações de reguladores vegetais, das brotações e das raízes formadas a partir das estacas tratadas. Posteriormente, as amostras foram levadas ao laboratório e divididas em quatro repetições de 100 mg de material seco e moído. Esse material foi colocado em erlenmeyer contendo 50 mL de água destilada, posteriormente foi colocado em banho-maria a 40°C por 30 minutos, com agitação casual. Tal solução foi filtrada em algodão, sendo colocada em balão volumétrico e completado seu volume até 100 mL. Esta solução foi denominada de amostra. A metodologia empregada para a determinação de açúcares solúveis totais foi a descrita por Dubois et al. (1956), utilizando-se 0,5 mL de amostra, 0,5 mL de fenol e 2,5 mL de ácido sulfúrico. As leituras foram realizadas em espectrofotômetro no comprimento de onda de 490 nm.

Posteriormente, as estacas de raízes de amoreira-preta foram coletadas de plantas matrizes de pomar comercial e colocadas em câmara de nebulização intermitente, sem aplicação de reguladores vegetais, sendo dispostas em bandejas de polietileno brancas, forradas e preenchidas com casca de arroz carbonizada. Após um período de 60 dias, procedeu-se a retirada das brotações oriundas das estacas de raízes, com o corte rente à estaca de raiz. Foi feita a seleção e padronização das estacas de brotações, sendo deixadas com altura média de dez centímetros e três a quatro folhas por broto, utilizadas para a instalação do terceiro experimento.

O terceiro experimento constituiu-se de seis concentrações de ácido indol-3-butírico (IBA) e seis repetições, sendo a unidade experimental composta por 12 brotações. Os tratamentos constaram de seis concentrações de IBA, na forma de solução: T1= 0 mg L<sup>-1</sup>; T2= 250 mg L<sup>-1</sup>, T3= 500 mg L<sup>-1</sup>, T4= 1000 mg L<sup>-1</sup>, T5= 2000 mg L<sup>-1</sup> e T6= 4000 mg L<sup>-1</sup> aplicados na base das brotações imersas durante dez segundos.

As estacas de brotações foram colocadas em bandejas de poliestireno expandidas, contendo 72 células. As bandejas foram preenchidas com o mesmo substrato descrito no segundo experimento, sendo mantidas em câmara de nebulização intermitente e realizada pulverização com fungicida tiofanato metílico, e a partir do 15º dia, pulverização semanal com fertilizante mineral misto, descrito anteriormente.

Após 60 dias do estaqueamento das brotações, estas foram avaliadas quanto às seguintes variáveis da mesma forma descrita anteriormente: NBE, NF, MFR,

MSR, MFPA, MSPA, %ENR, CMR, CHP, %SOB, número de calos e porcentagem de enraizamento, além de açúcares solúveis totais.

### **3.3 Análise estatística**

Os dados obtidos em todas as avaliações foram submetidos à análise de variância (teste F) e as médias comparadas pelo teste Tukey a 5% de significância, posteriormente, foram realizados estudos de regressão, conforme Banzatto e Kronka (1995); Banzatto e Kronka (2006), adotando-se o programa computacional Sisvar 5.3 (FERREIRA, 2008; FERREIRA, 2010).



## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 1º Experimento: Citocinina no crescimento vegetativo de brotações oriundas de estacas de raízes de amoreira-preta

Observou-se que a amoreira-preta iniciou a emergência das brotações em bandejas, em aproximadamente 7 dias após o plantio (DAP) e aos 21 DAP, em todos os tratamentos, com exceção do tratamento com 6-benziloaminopurina (BAP) na maior concentração, conforme a Figura 8.

Verificou-se que, de modo geral, para todas as características avaliadas houve decréscimo dos valores com o aumento da concentração de (BAP) aplicada às estacas radiciais de amoreira-preta (Tabela 1), sendo que a testemunha e a menor concentração de BAP,  $100 \text{ mg L}^{-1}$ , apresentaram os melhores resultados. Indicando que, talvez, a aplicação de BAP em concentrações menores que  $100 \text{ mg L}^{-1}$  pudessem ser utilizadas propiciando efeitos favoráveis. Confirmando isso, Villa et al. (2007) que estudaram a influência do carvão ativado e BAP na multiplicação *in vitro* de amoreira-preta e

videira, verificaram que o maior peso da matéria fresca da parte aérea das duas fruteiras foi obtido na ausência de carvão ativado e com adição de 2,0 mg L<sup>-1</sup> de BAP. No mesmo trabalho, também verificaram que o maior número de folhas e raízes de amoreira-preta foi obtido com 0,5 mg L<sup>-1</sup> de BAP.

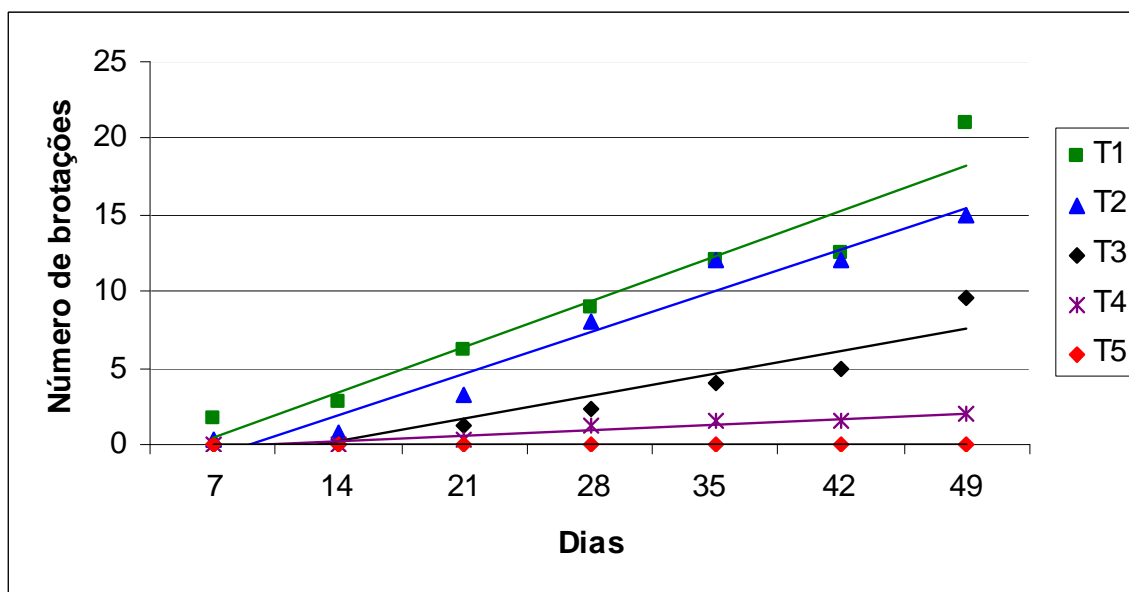


Figura 8. Evolução da emergência das brotações em estacas radiciais de amoreira-preta tratadas com diferentes concentrações de 6-benziloaminopurina (BAP). T1= 0 mg L<sup>-1</sup> ( $y = 2,9643x - 2,5357$ ;  $R^2 = 0,933$ ), T2= 100 mg L<sup>-1</sup> ( $y = 2,6964x - 3,4643$ ;  $R^2 = 0,9559$ ), T3= 200 mg L<sup>-1</sup> ( $y = 1,4732x - 2,75$ ;  $R^2 = 0,8842$ ), T4= 400 mg L<sup>-1</sup> ( $y = 0,3661x - 0,5357$ ;  $R^2 = 0,9176$ ) e T5= 800 mg L<sup>-1</sup>.

Com relação ao número de estacas brotadas (NEB), número de brotos por estaca (NBE), número de folhas (NF), comprimento da haste principal (CHP) e porcentagem de sobrevivência (%SOB) não houve diferença entre a testemunha (0 mg L<sup>-1</sup>) e 100 mg L<sup>-1</sup> de BAP, que corresponderam aos melhores resultados, tabela 1. Embora, para número de brotos por estaca (NBE) as concentrações de 100, 200 e 400 mg L<sup>-1</sup> de BAP tenha proporcionado resultados superiores à testemunha (0 mg L<sup>-1</sup>), demonstrando a eficiência do uso do regulador vegetal (BAP) na promoção da brotação em estacas radiciais de amoreira-preta. A concentração de 100 mg L<sup>-1</sup> de BAP proporcionou resultados satisfatórios, demonstrando a necessidade de estudos adicionais sobre a possível utilização do BAP em

concentrações inferiores a  $100 \text{ mg L}^{-1}$  para promover a parte vegetativa, especialmente, brotações e folhas.

Contudo, para massa fresca da parte aérea (MFPA), porcentagem de enraizamento (%ENR) e comprimento da maior raiz (CMR) a concentração de  $100 \text{ mg L}^{-1}$  tenha proporcionado resultados inferiores e estatisticamente diferentes da concentração de  $0 \text{ mg L}^{-1}$ , tabela 1.

Figueiredo et al. (2008), estudando o efeito do BAP e qualidade da luz na multiplicação *in vitro* de amoreira-preta ‘Xavante’, obtiveram maior número de brotações com as concentrações de  $0,25$  e  $0,75 \text{ mg L}^{-1}$  de BAP. Já Villa et al. (2005) avaliando diferentes concentrações de meio MS e BAP na multiplicação *in vitro* de amoreira-preta, constataram que os melhores resultados foram em meio MS a 150% acrescido de  $1 \text{ mL L}^{-1}$  de BAP para a característica número de folhas e brotos (VILLA et al., 2006). Embora, em baixas concentrações do regulador vegetal, Augusto et al. (2006) testaram o enraizamento *ex vitro* de microestacas multiplicadas com BAP, cinetina, zeatina e 2-isopenteniladenina, nas concentrações de  $5$  e  $10 \text{ }\mu\text{M}$ , alcançando taxas de enraizamento e sobrevivência de 100%, demonstrando a eficiência do BAP em baixas concentrações para a propagação da amoreira-preta cv. Brazos.

Tabela 1. Dados gerais médios do ensaio para produção de brotos em estacas radiciais de amoreira-preta tratadas com diferentes concentrações de 6-benziloaminopurina (BAP)<sup>(1)</sup>.

| Trat. | NEB     | NBE     | NF      | CHP     | MFPA   | % ENR   | CMR     | % SOB    |
|-------|---------|---------|---------|---------|--------|---------|---------|----------|
| T1    | 11,25 a | 2,2 a   | 35,75 a | 12,95 a | 8,41 a | 50,00 a | 11,68 a | 75,00 a  |
| T2    | 7,50 ab | 5 a     | 41,00 a | 9,50 ab | 4,75 b | 6,67 b  | 2,03 b  | 50,00 ab |
| T3    | 5,75 bc | 3,48 ab | 16,00 b | 5,35 bc | 1,75 c | 1,67 b  | 0,78 b  | 38,34 bc |
| T4    | 2,25 cd | 2,55 bc | 5,25 b  | 3,35 cd | 0,63 c | 0 b     | 0 b     | 15,00 cd |
| T5    | 0 d     | 0 c     | 0 b     | 0 d     | 0 c    | 0 b     | 0 b     | 0 d      |
| CV %  | 33,87   | 48,18   | 42,96   | 34,56   | 38,27  | 54,71   | 58,84   | 33,87    |

<sup>(1)</sup> Para cada variável avaliada, valores médios seguidos pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si, pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

T1=  $0 \text{ mg L}^{-1}$ ; T2=  $100 \text{ mg L}^{-1}$ ; T3=  $200 \text{ mg L}^{-1}$ ; T4=  $400 \text{ mg L}^{-1}$  e T5=  $800 \text{ mg L}^{-1}$ .

NEB: número de estacas brotadas; NBE: número de brotos por estaca; NF: número de folhas; CHP: comprimento da haste principal, em cm; MFPA: massa fresca da parte aérea, em g; %ENR: porcentagem de enraizamento; CMR: comprimento da maior raiz, em cm; %SOB: porcentagem de sobrevivência das brotações.

Tais resultados revelam que a citocinina em baixas concentrações promovem o crescimento e desenvolvimento vegetativo da espécie devendo, entretanto, estudar concentrações mais baixas de BAP e outros fatores que possam influenciar na propagação da espécie como o cultivar, a época de coleta de material, parte da planta utilizada, dentre outras.

Para todos os parâmetros avaliados a maior concentração de BAP, 800 mg L<sup>-1</sup>, demonstrou inibição total (0) desses parâmetros. Fato este, possivelmente, explicado devido aos níveis endógenos de hormônios vegetais e/ou associação entre eles, que unido à aplicação de BAP pode ter causado um efeito fitotóxico.

#### **4.2 2º Experimento: Bioestimulante na promoção da brotação em estacas de raízes de amoreira-preta**

Observou-se que a amoreira-preta iniciou a emergência das brotações em, aproximadamente, 7 dias após o plantio (DAP). Com o tempo, houve evolução gradativa da emergência das brotações em estacas de raiz de amoreira-preta, refletida na existência de uma correspondência funcional, apresentada pela equação de regressão (Figura 9). A curva de crescimento demonstrou a evolução da emergência das brotações em estacas radiciais de amoreira-preta ao longo do tempo, na concentração de 0 mg L<sup>-1</sup> *Promalin*® (testemunha), enquanto na concentração de 10 mg L<sup>-1</sup> *Promalin*® a emergência das brotações iniciou em torno de 21 dias. Nos demais tratamentos estudados ocorreram baixa ou nenhuma formação de brotações.

De modo geral, verificou-se que para todas as características avaliadas houve decréscimo dos valores com o aumento da concentração de bioestimulante aplicada às estacas de raízes de amoreira-preta (Tabela 2), tendo a testemunha (0 mg L<sup>-1</sup>) apresentado resultados, estatisticamente, superiores às demais concentrações. Este fato, possivelmente, é explicado devido aos níveis endógenos de metabólitos e hormônios vegetais e/ou associação entre eles, presentes nas estacas radiciais, que unido à aplicação de bioestimulante pode ter causado efeito fitotóxico.

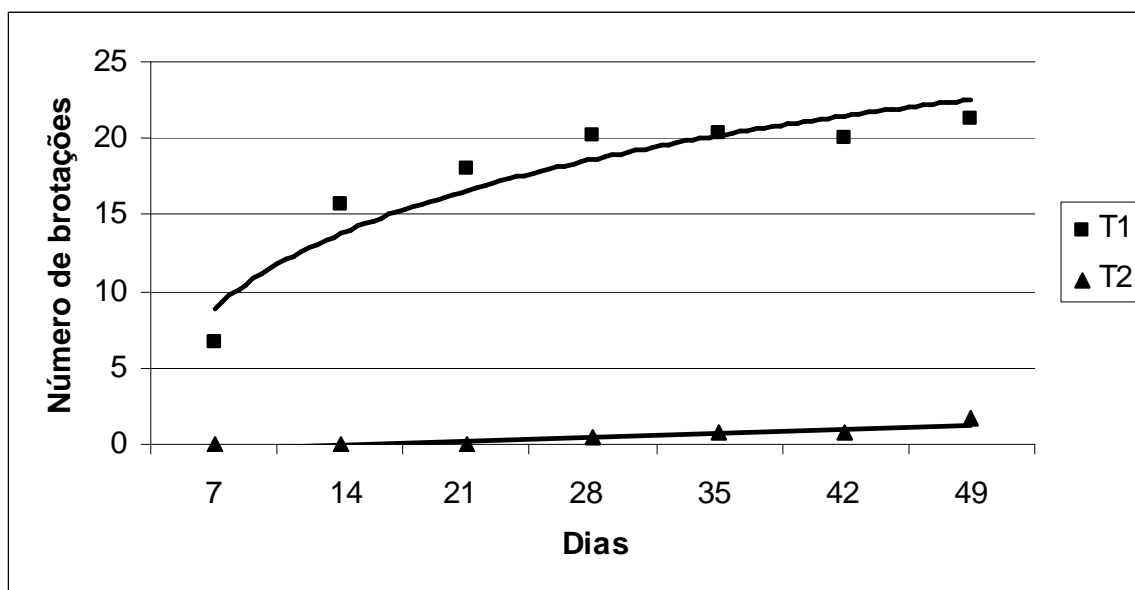


Figura 9. Evolução da emergência das brotações em estacas radiciais de amoreira-preta tratadas com diferentes concentrações de *Promalin*®. T1= 0 mg L<sup>-1</sup> ( $y = 7,0194 \ln(x) + 8,8998$ ;  $R^2 = 0,8932$ ), T2= 10 mg L<sup>-1</sup> ( $y = 0,2593x - 0,5286$ ;  $R^2 = 0,8161$ ).

Tabela 2. Médias do número de estacas brotadas (NEB), número de brotos por estaca (NBE), comprimento da haste principal (CHP, em cm), porcentagem de sobrevivência das brotações (%SOB) em estacas radiciais de amoreira-preta tratadas com diferentes concentrações de bioestimulante *Promalin*®. <sup>(1)</sup>

| Concentrações (mg L <sup>-1</sup> ) | NEB    | NBE    | CHP     | %SOB    |
|-------------------------------------|--------|--------|---------|---------|
| 0                                   | 9,71 a | 2,28 a | 23,71 a | 64,76 a |
| 10                                  | 2,00 b | 1,36 b | 5,71 b  | 13,33 b |
| 20                                  | 0,42 c | 1,00 b | 0,57 c  | 2,85 c  |
| 40                                  | 0,00 c | 0,00 b | 0,00 c  | 0,95 c  |
| 80                                  | 0,14 c | 1,00 b | 0,00 c  | 0,00 c  |
| CV %                                | 26,94  | 53,20  | 40,56   | 26,93   |

<sup>(1)</sup> Médias seguidas de mesma letra nas colunas, não diferem significativamente entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Tais resultados evidenciam que, provavelmente, os níveis endógenos de reguladores vegetais na época de condução do trabalho, sobretudo citocininas, poderiam estar em níveis satisfatórios para o desenvolvimento de brotações e novas raízes em estacas de amoreira-preta. Zuffellato-Ribas e Rodrigues (2001) revelaram a influência da época do

ano no sucesso da propagação por estacas, estando intimamente relacionado com os níveis endógenos de promotores e inibidores de crescimento. Geralmente, níveis altos de auxinas e baixos de citocininas podem favorecer a formação de raízes adventícias e níveis baixos de auxinas e altos de citocininas podem favorecer a formação de brotos adventícios. Estacas de espécies com altos níveis endógenos de citocininas têm mais dificuldade para enraizar do que aquelas com baixos níveis (HARTMANN et al., 2002).

Com relação ao número de estacas brotadas (NEB), número de brotos por estaca (NBE), comprimento da haste principal (CHP) e porcentagem de sobrevivência das brotações (%SOB) houve diferença entre a testemunha (0 mg L<sup>-1</sup>), apresentando resultados superiores, e os demais tratamentos. A partir da concentração de 10 mg L<sup>-1</sup> de bioestimulante, verificou-se redução gradativa desses valores.

A concentração de 0 mg L<sup>-1</sup> apresentou valores de 18,86 g para massa fresca da parte aérea (MFPA), 97,5% de enraizamento (%ENR) e 38,71 cm para comprimento da maior raiz (CMR). Já, a concentração de 10 mg L<sup>-1</sup> apresentou 0,71 g para massa fresca da parte aérea (MFPA), 2,9% de enraizamento (%ENR) e 5,29 cm para comprimento da maior raiz (CMR), não diferindo estatisticamente da testemunha pelo teste Tukey ( $p=0,5$ ). Os demais tratamentos estudados apresentaram valor zero (0) para tais características.

Estudos revelaram que a citocinina e giberelina em baixas concentrações promovem o crescimento e desenvolvimento vegetativo de diferentes espécies, devendo, entretanto, estudar concentrações mais baixas desses reguladores vegetais, além de outros fatores que possam influenciar na propagação da espécie como a cultivar, a época de coleta de material, parte da planta utilizada e conteúdo endógeno de diversas substâncias como os compostos fenólicos, carboidratos, dentre outras.

Ochoa et al. (2004) mencionaram que a temperatura não afetou significativamente a mobilização de carboidratos, porém o nível inicial de amido e a redução final dos carboidratos foram significativamente relacionados com o enraizamento.

Conforme a Figura 10, os teores de açúcares solúveis totais variaram de 12,26 a 84,44 mg g<sup>-1</sup> de massa seca nas estacas de raízes antes e após o tratamento com diferentes concentrações de bioestimulante, respectivamente. Provavelmente, houve acúmulo

de açúcares durante a formação das brotações e de novas raízes nas estacas radiciais, possivelmente, devido à liberação de carboidratos estruturais e formação de açúcares durante o processo de formação da parte vegetativa.

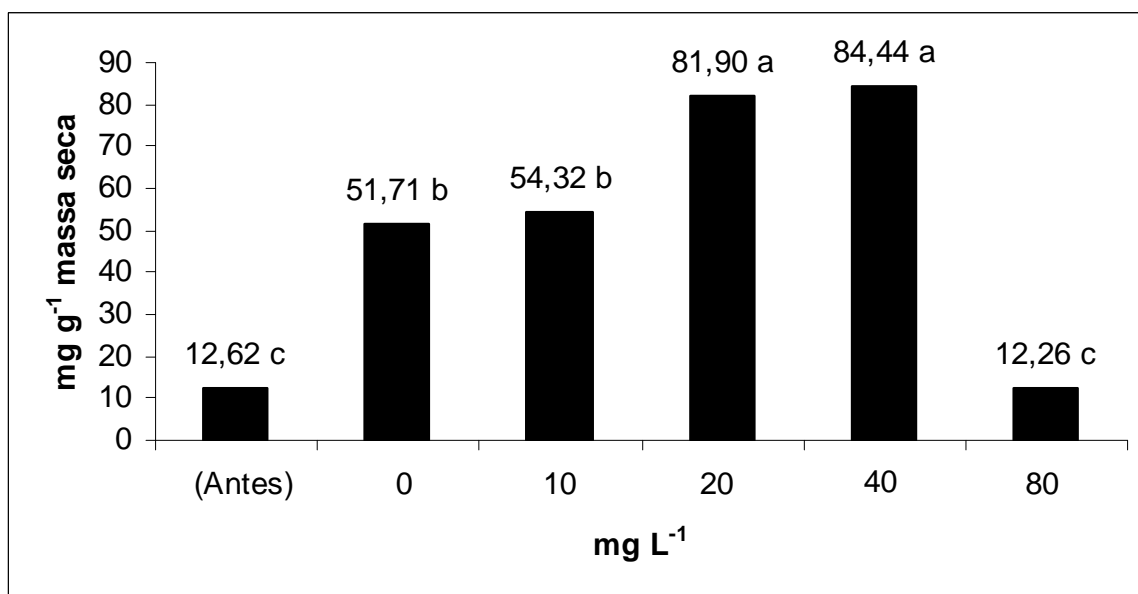


Fig. 10. Variação na quantidade de açúcares solúveis totais em estacas de raízes de amoreira-preta antes e após o tratamento com diferentes concentrações de bioestimulante *Promalin*®. Médias seguidas por letras distintas diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. C.V.= 5,90%.

A variação na quantidade de açúcares solúveis totais em estacas de raízes de amoreira-preta tratadas com diferentes concentrações de *Promalin*® tendeu a aumentar até 40 mg L<sup>-1</sup>, estatisticamente igual à concentração de 20 mg L<sup>-1</sup>, embora com resultado ligeiramente superior, conforme Figura 10. Esse acúmulo observado nos tratamentos com as concentrações de 20 e 40 mg L<sup>-1</sup> de *Promalin*® pode estar relacionado com a não utilização desses açúcares, ou seja, com a baixa brotação observada nos dois tratamentos. Posteriormente, ocorreu decréscimo, o que pode evidenciar que conforme o aumento das concentrações de bioestimulante houve menor formação de raízes e brotações, e na maior concentração, menor acúmulo de açúcares solúveis totais.

A concentração de 0 mg L<sup>-1</sup> de *Promalin*® (testemunha) apresentou formação de poucas raízes e acúmulo médio de 56,14 mg g<sup>-1</sup> de açúcares totais, além da

formação da parte aérea, com acúmulo médio de 48,30 mg glicose g<sup>-1</sup> de massa seca. Entretanto, na concentração de 10 mg L<sup>-1</sup> houve acúmulo médio de 54,12 mg glicose g<sup>-1</sup> de massa seca, com acúmulo médio da parte aérea de 65,47 mg glicose g<sup>-1</sup> de massa seca, sendo somente as concentrações de 0 mg L<sup>-1</sup> e 10 mg L<sup>-1</sup> que apresentaram parte aérea para tal determinação.

São observadas diferenças entre os teores médios de açúcares solúveis totais da parte aérea e raiz em diversas culturas, como relatam Girardi e Pescador (2010), confirmando que os teores médios de açúcares solúveis totais apresentaram decréscimo nas plantas de gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe) *in vitro* com valores médios de 86,56 mg g<sup>-1</sup> massa fresca e 94,26 mg g<sup>-1</sup> massa fresca para folhas e raízes, respectivamente. Obteve-se um aumento nesses valores nas plantas aclimatadas em casa de vegetação, tanto nas folhas (168,22 mg g<sup>-1</sup> massa fresca) quanto nas raízes (189,68 mg g<sup>-1</sup> massa fresca), sendo superadas pelos teores médios de folhas e raízes das plantas cultivadas a campo, cujos valores foram 227,51 e 183,97 mg g<sup>-1</sup> massa fresca, respectivamente.

Casagrande Júnior et al. (1999) verificaram os maiores teores de carboidratos solúveis totais em folhas do que em caules de araçazeiro mantido a pleno sol, alcançando valores de aproximadamente 150 mg kg<sup>-1</sup> de peso fresco e 50 mg kg<sup>-1</sup> de peso fresco, respectivamente.

Cometti et al. (2004) verificaram que os maiores teores médios de açúcares solúveis se encontravam no caule (aproximadamente 14 µmol g<sup>-1</sup> massa fresca), seguido pela raiz (11 µmol g massa fresca) e as menores quantidades na parte aérea (7 µmol g<sup>-1</sup> massa fresca), além de relatar que, as folhas medianas representaram melhor o teor de compostos nitrogenados livres e de açúcares da parte aérea da alface.

### **4.3 3º Experimento: IBA no enraizamento de brotações oriundas de estacas radiciais de amoreira-preta**

A Figura 11 mostra a porcentagem de sobrevivência das estacas de brotos oriundos de estacas radiciais de amoreira-preta tratadas com diferentes concentrações de IBA. Observa-se que houve diminuição gradativa da sobrevivência com o aumento da



concentração da auxina sintética. Esses dados mostram que concentrações de IBA acima de 2000 mg L<sup>-1</sup> foram fitotóxicas para a indução do enraizamento, provocando à morte de grande quantidade de brotações.

Conforme a Tabela 3, o número de folhas (NF), comprimento da haste principal (CHP) e comprimento da maior raiz (CMR) não apresentaram diferenças entre o tratamento com IBA nas concentrações de 250 e 500 mg L<sup>-1</sup> em comparação à testemunha (0 mg L<sup>-1</sup>). Além de apresentar CHP, estatisticamente igual para as concentrações de 0 a 2000 mg L<sup>-1</sup> de IBA.

O número de brotos por estaca (NBE) variou de 1,28 até 1,88 brotos, nas três primeiras concentrações (0, 250 e 500 mg L<sup>-1</sup> de IBA) sendo estatisticamente diferentes entre si e com a testemunha sendo superior às demais. A concentração de 1000 mg L<sup>-1</sup> de IBA foi estatisticamente igual a 500 mg L<sup>-1</sup> e as concentrações de 2000 e 4000 mg L<sup>-1</sup> de IBA. O número de folhas (NF) variou de 66,33 folhas, tratamento com 0 mg L<sup>-1</sup> de IBA, até 32,83 folhas, no tratamento com 4000 mg L<sup>-1</sup>, decrescendo os valores conforme o aumento das concentrações. Já, o comprimento da haste principal (CHP) mostrou diferença estatística somente da concentração de 4000 mg L<sup>-1</sup> de IBA com relação às demais, causando diminuição desta variável, Tabela 3.

Contudo, Ono e Rodrigues (1996) relataram a importância do papel das folhas no enraizamento, estando relacionado com fatores endógenos da estaca, como: a produção de carboidratos, compostos nitrogenados e substâncias sinérgicas da auxina. Dessa forma, pode-se inferir que, as folhas podem ter um papel determinante do enraizamento alcançado pelas estacas de brotações oriundas de estacas radiciais de amoreira-preta. Entretanto, Grana Júnior (2000), com estacas de aproximadamente 15 cm de comprimento, 8 a 12 mm de diâmetro e quatro a cinco folhas, não conseguiu enraizamento das brotações laterais de mamoeiro.

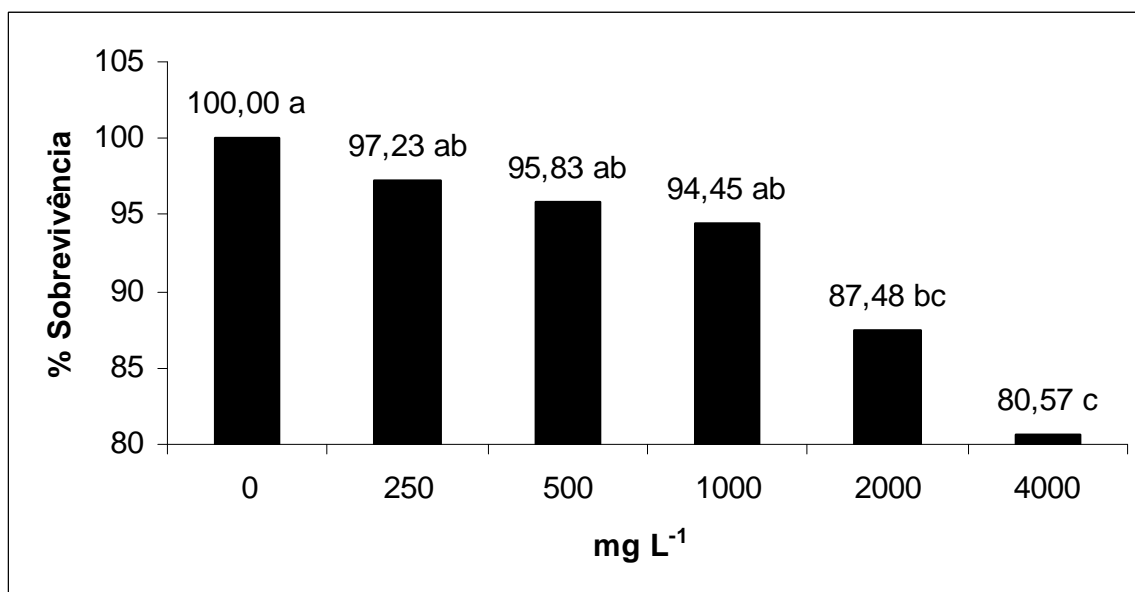


Figura 11. Porcentagem de sobrevivência das estacas de brotos oriundos de estacas radiciais de amoreira-preta tratadas com diferentes concentrações de IBA. Médias seguidas por letras distintas diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. C.V.= 6,82%.

Tabela 3. Médias do número de brotos por estaca (NBE), número de folhas (NF); comprimento da maior raiz (CMR em cm) e comprimento da haste principal (CHP, em cm) no enraizamento de brotos oriundos de estacas radiciais de amoreira-preta tratadas com diferentes concentrações de IBA<sup>(1)</sup>.

| Concentrações (mg L <sup>-1</sup> ) | NBE     | NF       | CHP     | CMR       |
|-------------------------------------|---------|----------|---------|-----------|
| 0                                   | 1,88 a  | 66,33 a  | 10,76 a | 31,51 a   |
| 250                                 | 1,59 b  | 64,17 a  | 11,71 a | 29,73 ab  |
| 500                                 | 1,28 c  | 56,00 ab | 11,04 a | 26,14 abc |
| 1000                                | 1,10 cd | 51,33 bc | 10,18 a | 21,85 bcd |
| 2000                                | 1,04 d  | 43,33 cd | 10,19 a | 18,32 cd  |
| 4000                                | 1,07 d  | 32,83 d  | 6,89 b  | 15,00 d   |
| CV %                                | 10,33   | 13,13    | 16,20   | 20,78     |

<sup>(1)</sup> Para cada variável avaliada, valores médios seguidos pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si, pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Verificou-se que, de modo geral, para todas as variáveis avaliadas houve decréscimo dos valores com o aumento da concentração de IBA. Contudo, para massa

fresca e seca de raiz (MFR e MSR) e massa fresca e seca da parte aérea (MFPA e MSPA), o tratamento com 250 mg L<sup>-1</sup> de IBA proporcionou os melhores resultados, demonstrando o maior desenvolvimento, em volume, da parte aérea e do sistema radicial das estacas de brotações de amoreira-preta, o que pode ser um indicativo de um melhor aproveitamento do ambiente onde, provavelmente, estes propágulos se estabelecerão. Um maior desenvolvimento do sistema radicular pode representar um melhor estabelecimento da planta no campo, além de melhor exploração do solo e absorção de nutrientes. Com relação a uma parte aérea mais desenvolvida, pode se inferir sobre a possibilidade de formação mais rápida da planta em seu sistema de condução e uma melhor captação dos raios solares, favorecendo a fotossíntese.

Para massa fresca e seca de raiz (MFR e MSR) e massa fresca e seca da parte aérea (MFPA e MSPA) as concentrações de 250 e 500 mg L<sup>-1</sup> de IBA não diferiram estatisticamente da testemunha apresentando resultados favoráveis. Para MFPA, estatisticamente não houve diferença entre as concentrações de 0 a 1000 mg L<sup>-1</sup> (Tabela 4).

Tabela 4. Resultados médios da massa fresca de raiz (MFR, em g), massa seca de raiz (MSR, em g), massa fresca da parte aérea (MFPA, em g) e massa seca da parte aérea (MSPA, em g) no enraizamento de brotos oriundos de estacas radiciais de amoreira-preta tratadas com diferentes concentrações de IBA<sup>(1)</sup>.

| Concentrações (mg L <sup>-1</sup> ) | MFR     | MSR     | MFPA     | MSPA     |
|-------------------------------------|---------|---------|----------|----------|
| 0                                   | 8,31 b  | 1,72 ab | 11,07 ab | 4,20 ab  |
| 250                                 | 11,75 a | 2,30 a  | 13,54 a  | 4,33 a   |
| 500                                 | 9,33 ab | 1,82 ab | 10,44 ab | 3,18 abc |
| 1000                                | 7,11 bc | 1,35 bc | 8,88 ab  | 2,83 bc  |
| 2000                                | 4,78 cd | 0,80 cd | 6,49 bc  | 1,89 cd  |
| 4000                                | 2,82 d  | 0,44 d  | 2,89 c   | 0,73 d   |
| CV %                                | 26,25   | 24,38   | 35,50    | 26,90    |

<sup>(1)</sup> Para cada variável avaliada, valores médios seguidos pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si, pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Estudos relataram que a formação de calos, proliferação de tecido parenquimático em vários estádios de lignificação, pode ser extremamente importante para o sucesso de alguns dos métodos de propagação de plantas (MAHLSTEDT; HABER, 1957; HARTMANN et al., 2002). Neste caso, a testemunha apresentou o maior resultado, com 4,2 estacas com calos para o parâmetro. A formação de calos pode indicar a possibilidade do desenvolvimento do sistema radicial, por se tratar de uma massa de células não diferenciadas, que com determinado estímulo, induz o crescimento de raízes. No tratamento com  $250 \text{ mg L}^{-1}$  de IBA, observou-se o melhor resultado, que apresentou 2,7 estacas com calos, seguido pela concentração de  $500 \text{ mg L}^{-1}$  e  $1000 \text{ mg L}^{-1}$  de IBA com 1,5 e 1,0 estacas com calos, respectivamente. As demais não apresentaram calos.

Tais resultados evidenciaram que provavelmente, as concentrações mais elevadas provocaram desequilíbrio nos níveis endógenos de hormônios vegetais, sobretudo auxinas, que poderiam estar em níveis satisfatórios para o crescimento e desenvolvimento das plantas de amoreira-preta. Hartmann et al. (2002) revelaram que a formação de raízes adventícias é um processo que envolve uma sequência de eventos histológicos, com cada estágio tendo diferentes requerimentos de substâncias promotoras de crescimento como: auxinas, citocininas e giberelinas, dentre outras. Alvarenga e Carvalho (1983) mencionaram que, quando a auxina é aplicada na base da estaca, o aumento da sua concentração produz efeito estimulador de raízes até um ponto máximo, a partir do qual, qualquer acréscimo é inibitório.

Para porcentagem de enraizamento de estacas de brotos oriundos de estacas radiciais de amoreira-preta, observou-se que, proporcionalmente ao aumento das concentrações de IBA ocorria diminuição do enraizamento, refletida na dependência do efeito e do tratamento, apresentada pela equação de regressão linear (Figura 12).

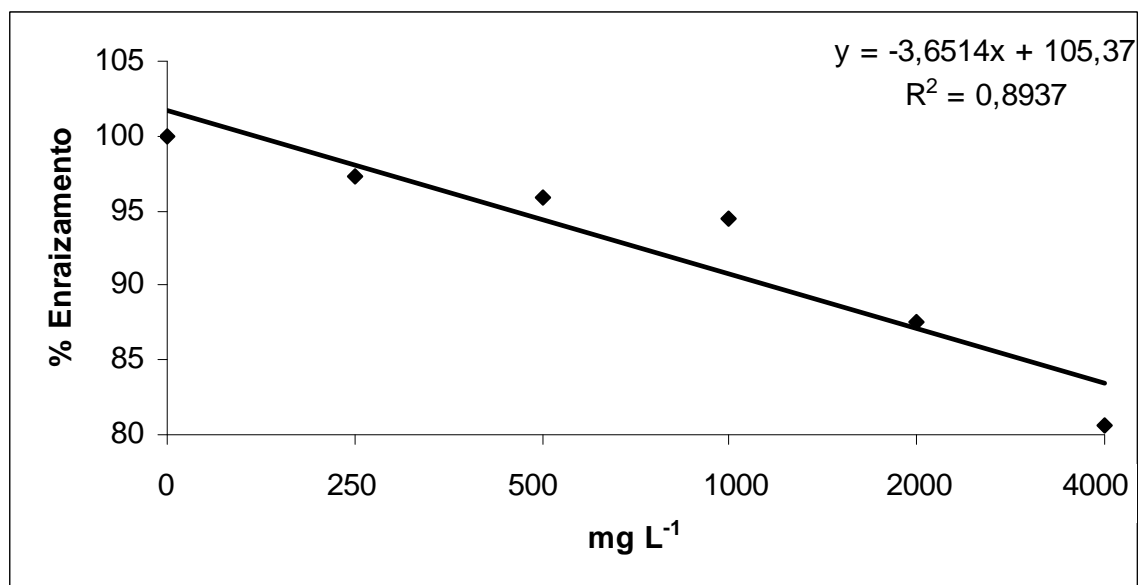


Figura 12. Regressão linear da porcentagem de enraizamento das estacas de brotos oriundos de estacas radiciais de amoreira-preta tratadas com diferentes concentrações de IBA.

Maia e Botelho (2008) trabalharam com estacas lenhosas de amoreira-preta, a 2000 mg L<sup>-1</sup> de IBA tratadas durante dez segundos e obtiveram porcentagem de enraizamento de 60%. No entanto, o tratamento a 1000 mg L<sup>-1</sup> atingiu enraizamento de 56%, com 96% de estacas brotadas e 17,6 raízes por estaca. Moreira et al. (2008) encontraram resposta nula tratando o mesmo material na concentração de 3000 mg L<sup>-1</sup> de IBA por 15 segundos. No enraizamento de estacas semi-lenhosas de mirtilo tratadas com diferentes concentrações de IBA sob telado equipado com nebulização intermitente, a cultivar Bluebelle respondeu melhor na concentração de 1.000 mg L<sup>-1</sup>, aos 120 dias, com maior número e comprimento de raízes, maior número e comprimento de brotações e enraizamento de 37,5% (FISHER et al., 2007). Resultados superiores foram alcançados com estacas de brotos oriundos de estacas radiciais de amoreira-preta tratadas com 1000, 2000 e 4000 mg L<sup>-1</sup> de IBA, alcançando cerca de 97, 88 e 81% de enraizamento (Figura 12), demonstrando a eficiência da técnica.

Entretanto, no enraizamento *in vitro* da amoreira-preta, Radman et al. (2003) verificaram que períodos de escuro e concentrações de IBA não influenciam na porcentagem de enraizamento. Antunes (1999) utilizou estacas lenhosas após repouso

hibernal e sem a utilização de reguladores vegetais e obteve elevado número de mudas nas variedades Brazos, Caingangue, Tupy, Guarani e Ébano que apresentaram enraizamento superior a 85%. Entretanto, as variedades Comanche, Cherokee e Seleção 3/97 apresentaram enraizamento inferior a 50%, fato este, possivelmente, devido à variação genotípica. Segundo Regina et al. (1998) apud Antunes (1999), esse padrão de enraizamento não é uniforme e relata a possível ação de fatores externos, como o acúmulo de horas de frio, que durante o repouso vegetativo que reduziria a ação de inibidores de crescimento, como o ácido abscísico.

Fadll e Hartmann (1967) com estacas lenhosas de pereira, tratadas e não tratadas com IBA, discutiram a possibilidade da existência de um fator endógeno favorável ao enraizamento, em espécies que tem facilidade para enraizar, podendo envolver um co-fator fenólico com uma auxina, resultando na formação de um complexo (auxina + co-fator fenólico) benéfico ao enraizamento.

Fazendo uso da técnica de micropropagação via gemas axilares de *Eucaliptus gunii* Hook, Curir et al. (1990) mostraram respostas diferentes no enraizamento dependendo do estágio fisiológico induzido por citocininas, caracterizando-se por um acúmulo de flavonóides endógenos (identificado como quercetina glicosídeo) que pode ser indicativo de um estágio fisiológico bem definido, que influencia o processo de enraizamento.

Contudo, a Figura 13 mostra a quantidade de açúcares solúveis totais na parte aérea das estacas de brotações de amoreira-preta, com resultados variando de 11,27 até 43,10 mg g<sup>-1</sup> massa seca em função das diferentes concentrações de IBA. Fica evidente, o aumento nos teores de açúcares da parte aérea com relação às raízes, o que pode indicar que a parte aérea atuou como fonte de fotoassimilados e, dentre eles, açúcares solúveis e, talvez, outras substâncias sinérgicas ao enraizamento. Posteriormente, tais fotoassimilados e/ou substâncias sintetizadas durante o processo de enraizamento poderiam ser transportadas e utilizadas para a formação de raízes adventícias.

Os maiores teores de açúcares solúveis totais foram observados nas estacas tratadas com as concentrações de 250 a 1000 mg L<sup>-1</sup>, estatisticamente iguais, a partir da concentração de 1000 mg L<sup>-1</sup> os teores de açúcares tenderam a diminuir, assim como o

enraizamento e a sobrevivência das estacas de amoreira-preta, indicando que, concentrações muito altas do regulador vegetal podem causar efeitos adversos na planta de amoreira-preta.

Stuart (1938) tratou estacas de feijoeiro por imersão da base em  $100 \text{ mg L}^{-1}$  de IBA por quatro horas, sendo posteriormente, colocadas em areia por 120 horas. Durante este período, na comparação com as estacas controle observou que o tratamento promoveu aumento no movimento direcional de substâncias nitrogenadas e carboidratos das folhas e cotilédones para outras partes das estacas, principalmente os hipocótilos tratados. Mitchell e Stuart (1939) mencionaram que estacas de feijoeiro, tratadas e não tratadas com  $20 \text{ mg L}^{-1}$  de IBA, tiveram um ligeiro aumento do acúmulo de açúcares, porém o tratamento com  $100 \text{ mg L}^{-1}$  de IBA reduziu significativamente o teor de açúcares nas estacas. O amido não estava presente em raízes e folhas, somente traços no hipocótilo e no primeiro internódio. Os mesmos autores relataram que a interpretação do metabolismo de carboidratos em relação ao crescimento requer maiores informações sobre o efeito do IBA nas taxas fotossintéticas, respiração e atividade enzimática.

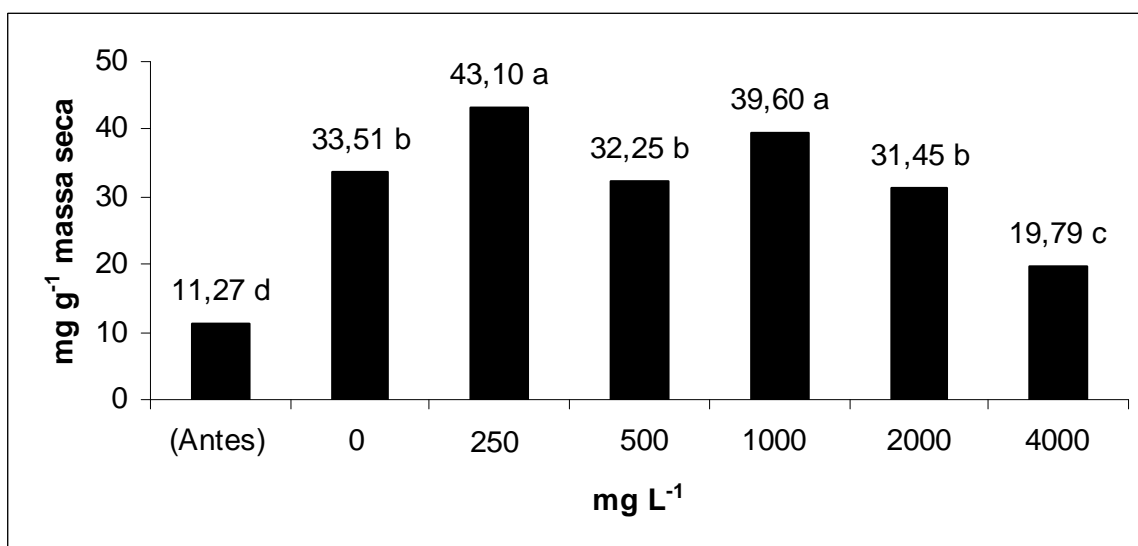


Fig. 13. Variação na quantidade de açúcares solúveis totais na parte aérea das estacas de brotações de amoreira-preta antes e após o tratamento com diferentes concentrações de IBA. Médias seguidas por letras distintas diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. C.V.= 7,21%.

De acordo com a Figura 14, a quantidade de açúcares solúveis totais em raízes formadas a partir de estacas de brotações de amoreira-preta, após o tratamento com diferentes concentrações de IBA, variaram de 8,68 a 24,66 mg g<sup>-1</sup> massa seca. Houve maior acúmulo de açúcares nas concentrações de 250, 500 mg L<sup>-1</sup> de IBA, estatisticamente superior às demais. Evidenciando um acúmulo de açúcares nas raízes, o que posteriormente, pode ser utilizado durante o processo de enraizamento.

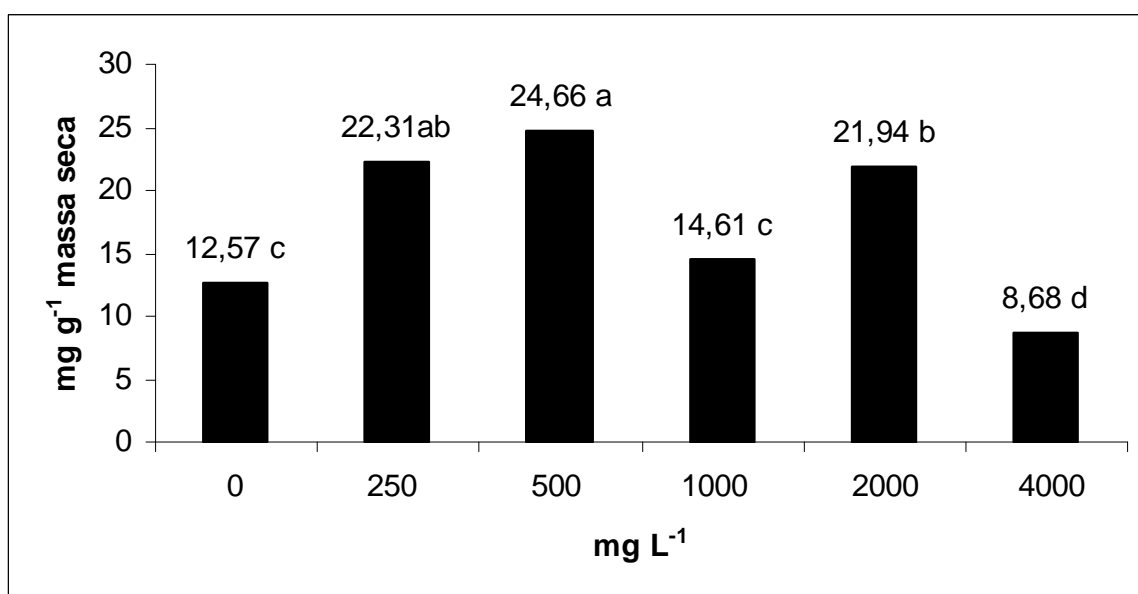


Fig. 14. Variação na quantidade de açúcares solúveis totais em raízes de estacas de brotações de amoreira-preta após o tratamento com diferentes concentrações de IBA. Médias seguidas por letras distintas diferem entre si pelo teste Tukey a 5 % de probabilidade. C.V. = 6,36 %.

O aumento nos teores de açúcares solúveis totais nas raízes (Figura 14) formadas das estacas de brotações de amoreira-preta após o tratamento com diferentes concentrações de IBA, evidencia a possibilidade do uso das reservas (açúcares) produzidas durante o período de estaquia podendo favorecer o enraizamento. Provavelmente, a testemunha (0 mg L<sup>-1</sup> de IBA) utilizou parte dos açúcares produzidos para a formação de raízes, alcançando 100% de enraizamento (Figura 12), o que justificaria um teor de açúcar menor que nos outros tratamentos empregados. Já, nas concentrações de 250 e 500 mg L<sup>-1</sup> de IBA possivelmente, grande parte dos açúcares produzidos foram utilizados no processo de



formação de raízes, especialmente de um maior volume de sistema radicular (Tabela 4), além de alcançar porcentagem de enraizamento superior a 95%.

Wiesman e Lavee (1995) estudando a relação entre carboidratos e o enraizamento de estacas de oliveira tratadas com IBA, sugeriram que os carboidratos têm papel importante no enraizamento, além de aumentar o efeito estimulante do IBA em tal processo. Durante as etapas do processo de formação de raízes adventícias o carboidrato endógeno é a principal fonte de hidratos de carbono, enquanto que em plantas jovens enraizadas a principal fonte vem diretamente da fotossíntese. Gatti (2002) utilizando IBA e NAA no enraizamento de Pau mulato, Jequitiba e Teca verificou que a aplicação dos reguladores vegetais foi positivamente correlacionada com as maiores concentrações de açúcar redutor.

Overbeek et al. (1946) revelaram que a ação combinada da auxina com folhas, tanto no escuro quanto na luz, foram essenciais para a formação de raízes em estacas de hibisco vermelho. O enraizamento de hibisco vermelho pode ser favorecido pela glicose e substâncias nitrogenadas produzidas pelas folhas. Os autores concluíram que a principal função das folhas no processo de iniciação radicular foi o suprimento de açúcares e substâncias nitrogenadas. As estacas depois de tratadas com auxinas em conjunto com as folhas ou suprimento de carboidratos e substâncias nitrogenadas, originaram raízes do floema secundário no tecido parenquimático.

Ori (2006) estudando *Phalaenopsis amabilis* (Lineu) Blume (Orchidaceae) cultivada *in vitro* verificou que aos 30 dias houve aumento dos teores endógenos de carboidratos solúveis nas folhas em função do aumento na concentração das auxinas e aos 120 dias diminuição destes teores, em função do aumento da concentração e sua diminuição em função das datas de coleta, indicando a mobilização destes carboidratos. Nas raízes, o IBA e 0,032 mg L<sup>-1</sup> de 2,4-D diminuíram os teores de carboidratos em função do tempo e das concentrações dos reguladores vegetais.

Reuveni e Raviv (1980) revelaram que o teor de carboidratos solúveis nas folhas e bases cortadas das estacas de abacateiro não estavam associados com a capacidade de enraizamento, porém ocorreu acúmulo de amido na base do corte quando as

estacas foram mantidas sob nebulização, se correlacionando com a capacidade de enraizamento.

Nenhuma relação significativa foi encontrada entre a capacidade de enraizamento e hidratos de carbono (carboidratos), incluindo os carboidratos solúveis em água, que estavam presentes no dia do preparo das estacas de *Triplochiton scleroxylon*. Isto sugere que o enraizamento é dependente de carboidratos que são formados e utilizados depois do preparo das estacas (LEAKEY; COUTTS, 1989). Possivelmente, originários de órgãos tidos como fontes, destacando-se tecidos fotossintetizantes (folhas, completamente desenvolvidas).

## 5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com base nos resultados obtidos algumas considerações devem ser apontadas:

1. Verificou-se que, de maneira geral, para a maioria das variáveis estudadas, os tratamentos com os reguladores vegetais, BAP e *Promalin*<sup>®</sup>, demonstraram pouca eficiência em promover maior índice de brotações.
2. Necessidade de estudos adicionais sobre a possível utilização do BAP em concentrações inferiores a 100 mg L<sup>-1</sup> para promoção da parte vegetativa, especialmente, brotação e folhas. Entretanto, para número de brotos por estaca, a concentração de 100 mg L<sup>-1</sup> de BAP tenha proporcionado resultado satisfatório, demonstrando a eficiência do uso do regulador vegetal (BAP) para esta variável.
3. A promoção do processo de enraizamento nas brotações, utilizando auxina sintética, IBA, não promoveu maior enraizamento nas brotações oriundas de estacas de raízes. Porém, para massa fresca e seca de raiz (MFR e MSR) e massa fresca e seca da parte aérea (MFPA e MSPA), o tratamento com 250 mg L<sup>-1</sup> de IBA proporcionou os

melhores resultados, demonstrando o maior desenvolvimento, em volume, da parte aérea e do sistema radicial das estacas de brotações de amoreira-preta.

4. O aumento nos teores de açúcares da parte aérea com relação às raízes pode indicar que, a parte aérea atuou como fonte de fotoassimilados e, dentre eles, açúcares solúveis, para promover o enraizamento das brotações.
5. Novas técnicas e produtos, como os reguladores vegetais podem e devem ser utilizados para testar sua eficiência no processo de propagação de amoreira-preta.

## 6 CONCLUSÕES

A partir dos resultados obtidos e nas condições deste trabalho pode-se concluir que:

A aplicação dos reguladores vegetais BAP e do bioestimulante *Promalin®* em altas concentrações empregadas inibiram o desenvolvimento de brotações em estacas radiciais de amoreira-preta e as características de desenvolvimento dessas brotações. Contudo, a concentração de 100 mg L<sup>-1</sup> de BAP pode ser utilizada para proporcionar um maior número de brotos por estaca.

As maiores concentrações de IBA inibiram o enraizamento e as características de desenvolvimento das estacas de brotações oriundas de estacas de raízes. Entretanto, o tratamento com 250 mg L<sup>-1</sup> de IBA proporcionou resultados satisfatórios, principalmente, com relação ao desenvolvimento, em volume, da parte aérea e do sistema radicial das estacas de brotações de amoreira-preta.

A técnica de enraizamento das brotações demonstrou ser uma alternativa favorável a produção de mudas da amoreira-preta.

## 7 REFERÊNCIAS

AGRIANUAL 2010. Hortifrutículas. **Agriannual 2010**: Anuário da Agricultura Brasileira, São Paulo, p. 345-360, 2010.

ALVARENGA, L. R.; CARVALHO, V. D. Uso de substâncias promotoras de enraizamento de estacas frutíferas. **Informe agropecuário**, Belo Horizonte, v. 9, n. 101, p. 47-55, 1983.

ANDERSEN, P. C.; CROCKER, T. E. **Blackberry and raspberry**. Gainesville: Department of Horticultural Sciences, Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida University of Florida, 2008. 8 p. Disponível em: <[http://edis.ifas.ufl.edu/document\\_hs104](http://edis.ifas.ufl.edu/document_hs104)>. Acesso em: 02 set. 2010.

ANDRADE, R. A. et al. Propagação de amoreira-preta por estaquia utilizando ácido indolbutírico. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 20, n. 2, p.79-83, 2007.

ANTUNES, L. E. C. **Influência de diferentes períodos de estratificação, concentrações de ácido indolbutírico e substratos no enraizamento de estacas de figueira (*Ficus carica* L.)**. 1995. 53 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia / Fitotecnia)–Universidade Federal de Lavras, Lavras, 1995.

ANTUNES, L. E. C. **Aspectos fenológicos, propagação e conservação pós-colheita de frutas de amoreira-preta (*Rubus spp.*) no sul de Minas Gerais**. 1999. 129 f. Tese (Doutorado em Fitotecnia)-Universidade Federal de Lavras, Lavras, 1999.

ANTUNES, L. E. C. Amora-preta: uma nova opção de cultivo no Brasil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 32, p. 151-158, 2002.

ANTUNES, L. E. C.; RASEIRA, M. C. B. Aspectos técnicos da cultura da amora-preta. **Documentos Embrapa Clima Temperado**, Pelotas, n. 122, 2004. 54 p.

ANTUNES, L. E. C.; REGINA, M. A.; DUARTE FILHO, J. **A cultura da amora-preta**. Belo Horizonte: EPAMIG, 2002. 28 p. (Boletim Técnico, 69).

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

ARAÚJO, J. P. C. et al. Propagação da figueira por estaquia tratadas com AIB. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 21, n. 2, p. 59-63, 2005.

ATILA, S. P.; AGAOGLU, Y. S. On a research of raspberry and blackberry's bud structure and fruitful. **Research Journal of Agriculture and Biological Sciences**, New Delhi, v. 2, n. 5, p. 218-222, 2006.

ATTILIO, L. B. **Avaliação fenológica, produtividade, curva de crescimento, qualidade de frutos e custos de produção de amoreira-preta cv. Tupy**. 2009. 73 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Sistemas de Produção Vegetal)-Faculdade de Engenharia do Campus de Ilha Solteira, Universidade Estadual Paulista, Ilha Solteira, 2009.

AUGUSTO, C. S. S.; BIASI, L. A.; TELLES, C. A. Enraizamento e aclimação de plantas micropropagadas de amoreira-preta cv. Brazos. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 28, n. 3, p. 473-476, 2006.

BANZATTO, D. A.; KRONKA, S. N. **Experimentação agrícola**. 3. ed. Jaboticabal: Funep, 1995. 247 p.

BANZATTO, D. A.; KRONKA, S. do N. **Experimentação agrícola**. 4. ed. Jaboticabal: Funep, 2006. 237 p.

BENNEWITZ, E. V. et al. Effect of the co-application of promalin at different distances on lateral branching of three sweet cherry cultivars (*Prunus avium* L.) in central chile. **Acta Univesitatis Agriculturae et silviculturae mendeliana e Brunensis**, Brno, v. 5, n. 2, p. 45-50, 2010.

BINKLEY, R. W. **Modern carbohydrate chemistry**. New York: Marcel Dekker, 1988. 343 p.

BOBROWSKI, V. L.; MELLO-FARIAS, P. C.; PETERS, J. A. Micropropagation of blackberries (*Rubus* sp.) cultivars. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 2, n. 1, p. 17-20, 1996.

BORTOLINI, M. F. et al. *Tibouchina sellowiana* (Cham.) Cogn.: Enraizamento, anatomia e análises bioquímicas nas quatro estações do ano. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 18, n. 2, p. 159-171, 2008.

BOTELHO, R. V. et al. Fenologia e produção da amoreira-preta sem espinhos cv. Xavante na região de Guarapuava-PR. **Scientia Agraria**, Curitiba, v. 10, n. 3, p. 209-214, 2009.

BRAY, M. M.; ROM, C. R.; CLARK, J. R. Propagation of Thornless Arkansas Blackberries by Hardwood Cuttings. **Horticultural Studies**, AAES Research Series, p. 11-13, 2003. Disponível em: <<http://arkansasagnews.uark.edu/520-1.pdf>>. Acesso em: 02 set. 2010.

BROWSE, P. M. **A propagação das plantas**: sementes, raízes, bolbos, rizomas, mergulhia, estacas de madeira e foliares, enxertia de borbúlia e de cavalo e garfo. Portugal: Europa-América, 1979. 229 p.

BULÉON, A. et al. Starch granules: structure and biosynthesis. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 23, p. 85-112, aug. 1998.

BUSBY, A. L.; HIMELRICK, D. G. Propagation of blackberries (*Rubus* spp.) by stem cuttings using various IBA formulations. **Acta Horticulture**, v. 505, p. 327-332, 1999.



CASAGRANDE JUNIOR, J. G. et al. Influência do sombreamento sobre os teores de carboidratos e fenóis em estacas semilenhosas de araçazeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 34, n. 12, p. 2219-2223, 1999.

CASTRO, P. R. E.; VIEIRA, E. L.; **Aplicações de reguladores vegetais na agricultura tropical**. Guaíba: Agropecuária, 2001. 588 p.

CATI. Distribuição geográfica de área cultivada e número de produtores, 2007/08, São Paulo. **Levantamento censitário das unidades de produção agropecuária do Estado de São Paulo**. Disponível em: <<http://www.cati.sp.gov.br/projetolupa/mapaculturas/AmoraPreta.php>>. Acesso em: 27 mai. 2010.

COMETTI, N. N. et al. Compostos nitrogenados e açúcares solúveis em tecidos de alface orgânica, hidropônica e convencional. **Horticultura Brasileira**, Brasília, DF, v. 22, n. 4, p. 748-753, 2004.

CURIR, P. et al. Flavonoid accumulation is correlated with adventitious roots formation in *Eucalyptus gunii* Hook micropropagated through axillary bud stimulation. **Plant Physiology**, Waterbury, v. 92, p. 1148-1153, 1990.

DAUBENY, H. A. Brambles. In: JANICK, J.; MOORE, J. N. **Fruit breeding: vine and small fruits**. Minnesota: John Wiley, 1996. v. 2, p.109-190.

DIAS, J. P. T.; ONO, E. O. Produção de mudas de amoreira-preta. **Portal Todafruta**. Disponível em: <<http://www.todafruta.com.br/portal/icNoticiaAberta.asp?idNoticia=21116>>. Acesso em: 05 maio 2010.

DICKERSON, G. W. Minor small fruit crops or New Mexico gardens. **Cooperative extension Service College of Agriculture and Home Economics**: New Mexico State University, 2003. 2 p. Disponível em: <[http://aces.nmsu.edu/pubs/\\_h/h-326.html](http://aces.nmsu.edu/pubs/_h/h-326.html)>. Acesso em: 08 jul. 2010.

DOMINGUES, M. C. S.; CUNHA, R. J. P.; RODRIGUES, J. D. Efeito de giberelinas, citocininas e retardantes de crescimento no desenvolvimento de porta-enxertos de *Citrus spp.* **Biotemas**, Florianópolis, v. 12, n. 2, p. 31-46, 1999.

DUBOIS, M. et al. Colorimetric method for determination of sugar and related substances. **Analytical chemistry**, Oklahoma, v. 28, n. 3, p. 350-356, 1956.

EMONGOR, V.; PULE-MEULENBERG, F.; PHOLE, O. Effect of Promalin in growth and development of Kale. **Journal of Agronomy**, New York, v. 3, n. 3, p. 208-214, 2004.

ERIG, A. C.; DE ROSSI, A.; FORTES, G. L. de L. 6-Benziloaminopurina e ácido indolbutírico na multiplicação *in vitro* da amoreira-preta (*Rubus idaeus* L.) cv. Tupy. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 32, n. 5, p. 765-770, 2002.

FADLL, S. M.; HARTMANN, H. Isolation, purification, and characterization of and endogenous root-promoting factor obtained from basal section of pear hardwood cuttings. **Plant Physiology**, Waterbury, v. 42, p. 541-549, 1967.

FERREIRA, D. F. Sisvar: um programa para análises e ensino de estatística. **Revista Científica Symposium**, Lavras, v. 6, n. 2, p. 36-41, jul./dez. 2008.

FERREIRA, D. F. **Sisvar**: versão 5.3, DEX/UFLA, Lavras: UFLA, 2010.

FERRIANI, A. P. et al. Estaquia e anatomia de vassourão-branco. **Scientia Agraria**, Curitiba, v. 9, n. 2, p. 159-166, 2008.

FIGUEIREDO, G. S. et al. Efeito da 6-benzilaminopurina (BAP) e da qualidade da luz na multiplicação *in vitro* de amoreira-preta xavante. In: SIMPÓSIO NACIONAL DO MORANGO 4.; ENCONTRO SOBRE PEQUENAS FRUTAS E FRUTAS NATIVAS DO MERCOSUL, 3. **Palestras e Resumos...** Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2008. p. 125-126.

FISHER, D. L. de O. et al. Enraizamento de estacas semi-lenhosas de mirtilo sob o efeito de diferentes concentrações de ácido indolbutírico. **Revista Brasileira de Fruticultura**, SBF. Jaboticabal, 2007. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0100-29452008000200051escript=sci\\_arttext&lng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0100-29452008000200051escript=sci_arttext&lng=pt)>. Acesso em: 06/10/2008.

FRANCO, C. M. L. et al. Propriedades gerais do amido. In: \_\_\_\_\_. **Culturas de tuberosas amiláceas latino americanas**. São Paulo: Fundação Cargill, 2002. v. 1, cap. 1, p. 13-20.

FRANKENBERGER, W. T.; ARSHAD, M. In: \_\_\_\_\_. **Phytohormones in soils: microbial production and function**. New York: Marcel Dekker, 1995. 503 p.

FUNNELL, K. A.; MACKAY, B. R. Comparative effects of Promalin and GA<sub>3</sub> on flowering and development of *Zantedeschia* 'Galaxy'. **Acta Horticulture**, Leuven, n. 292, p. 173–179, 1992.

GARBELINI, R.C.B. da S. **Reguladores vegetais na emergência e no desenvolvimento de plantas de macadâmia (*Macadamia integrifolia* Maiden e Betche)**. 2009. 86 f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas)-Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2009.

GATTI, K. C. **Propagação vegetativa de Pau mulato (*Calycophyllum spruceanum* (Benth) K. Schum.), Jequitibá (*Cariniana strellensis* (Raddi) Kuntze) e Teca (*Tectona grandis* Linn. f.) por miniestaquia**. 2002. 72 f. Tese (Doutorado em Ciências Florestais)-Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2002.

GIRARDI, C. G.; PESCADOR, R. Aclimação de gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe) e a relação com carboidratos endógenos. **Revista Brasileira Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 12, n. 1, p. 62-72, 2010.

GRANADA, G. L.; VENDRUSCOLO, J. L.; TREPTOW, R. O. Caracterização química e sensorial de sucos clarificados de amora-preta (*Rubus spp.* L.). **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v.7, n. 2, p. 143-147, 2001.

GRANA JÚNIOR, J. F. **Fitorreguladores na quebra da dominância apical e no enraizamento das brotações laterais em mamoeiro (*Carica papaya* L.)**. 2000. 68 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia (Horticultura)-Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2000.

GUTIERREZ, A. S. D.; ALMEIDA, G. V. B. de. Sabor, aroma e aparência conquistam o consumidor. **Agriannual 2007: Anuário da Agricultura Brasileira**, São Paulo, p. 347-348, 2008.

HARTMANN, H. T.; KESTER, D. E.; DAVIES JUNIOR, F. T.; GENEVE, R. L. **Plant propagation: principles and practices**. 7. ed. New Jersey: Prentice-Hall, 2002. 880 p.

HARTMANN, H. T.; KESTER, D. E.; DAVIS, F. T. Anatomical and physiological basis of propagation by cuttings. In: HARTMANN, H. T.; KESTER, D. E.; DAVIS, F. T. (Eds.) **Plant propagation: principles and practices**. New Jersey: Prentice -Hall, 1990. chap. 9, p. 199-255.

HILL, L. Estaquia. In: HILL, L. **Segredos da propagação de plantas**. São Paulo: Nobel, 1996. p. 117-138.

JACYNA, T.; STARBUCK, C. J.; ELLERSIEK, M. R. Increasing branching of landscape pear trees with Promalin and Pikegulac-sodium. **Journal Environmental Horticulture**, Washington, n. 12, v. 2, p. 90-92, 1994.

JACYNA, T.; PUCHALA, A. Application of environment friendly Branco promoting substances to advance sweet cherry tree Canopo development in the orchard. **Journal of Fruit and Ornamental Plant Research**, v. 12, p. 177-182, 2004. (Special edition).

JENNINGS, D. L.; Mutations in *Rubus*: Their value in breeding and problems for propagation. **Acta Horticultural**, Leaven, n. 352, p. 353-360, 1993.

JUNG, H.; LEE, J. Physical treatments influencing lateral shoot development in one-year-old "Fuji/M.9 nursery apple trees. **Horticulture Environmental Biotechnology**, v. 5, n. 49, p. 265-270, 2008.

KERSTEN, E.; LUCCIIESI, A. A.; GUTIERREZ, L. E. Efeitos do boro e zinco no teor de carboidratos solúveis, aminoácidos totais e no enraizamento de estacas de ramos de ameixeira (*Prunus salicina* Lindl.). **Ciencia Agricola**, Piracicaba, v. 50, n. 1, p. 13-18, 1993.

KIM, S. K. et al. Exogenous effect of gibberellins and jasmonate on tuber enlargement of *Dioscorea opposita*. **Agronomy Research**, Saku, v. 3, n. 1, p. 39-44, 2005.

LEAKEY, R. R. B.; COUTTS, M. P. The dynamics of rooting in *Triplochiton scleroxylon* cuttings: their relation to leaf area, node position, dry weight accumulation, leaf water potential and carbohydrate composition. **Tree Physiology**, Oxford, v. 5, p. 135-146, 1989.

LEHNINGER, A. L.; NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de bioquímica**. 2. ed. São Paulo: Sarvier, 1995. 839 p.

LORENZI, H. et al. **Frutas brasileiras e exóticas cultivadas (de consumo *in natura*)**. São Paulo: Instituto Plantarum de estudos da Flora, 2006. 640 p.

MACEDO, T. A. et al. Desenvolvimento de plantas de cultivares de framboesa propagadas via estacas de raízes. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 20; ANNUAL MEETING OF THE INTERAMERICAN SOCIETY FOR TROPICAL HORTICULTURE, 54th. **Resumos...** Vitória: Sociedade Brasileira de Fruticultura, 2008. 4 p.

MAHLSTEDTE, J.P.; HABER, E.S. Plant growth and development. In: MAHLSTEDTE, J.P.; HABER, E.S (Ed.). **Plant propagation**. New York: John Wiley, 1957. cap. 3, p. 27-42.

MAIA, A. J.; BOTELHO, R. V. Reguladores vegetais no enraizamento de estacas lenhosas da amoreira-preta cv. Xavante. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 29, n. 2, p. 323-330, 2008.

MIDDLETON, W.; JARVIS, B. C.; BOOTH, A. The effects of ethanol on rooting and carbohydrate metabolism in stem cuttings of *Phaseolus aureus* Roxb. **New Phytology**, v. 81, p. 279-285, 1978.

MITCHELL, J. H.; STUART, N. W. Growth and Metabolism of Bean Cuttings Subsequent to Rooting with Indoleacetic Acid. **Botanical Gazette**, New York, v. 100, n. 3, p. 627-650, 1939.

MOORE, J. N.; SKIRVIN, R. M. Blackberry management. In: GALLETTA, G. J.; HIMELRICK, D. G.; CHANDLER, L. (Ed.) **Small fruit crop management**. New Jersey: Prentice -Hall, 1989. chap. 5, p. 214-243.

MORALES, C. F. G. et al. Efeito do BAP e TDZ na calogênese e organogênese em internódios de macieira cv. Gala RW1. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 5, n. 3, p. 174-177, 1999.

MOREIRA, R. A. et al. Enraizamento de estacas de amoreira-preta utilizando polímeros hidroabsorvente e ácido indolbutírico. In: Congresso Brasileiro de Fruticultura, 20 e Annual Meeting of the Interamerican Society for Tropical Horticulture, 54th. **Resumos...** Vitória: ES, XX Congresso Brasileiro de Fruticultura e 54th Annual Meeting of the Interamerican Society for Tropical Horticulture, 2008. 6 p.

MUSSELWHITE, S. et al. Effect of pruning, defoliation, and Promalin on new shoot development of Boxwood. **Journal Environmental Horticulture**, Washington, n. 22, v. 3, p. 124-128, 2004.

NAKASU, B. J. Reprodução assexuada de plantas: Rosáceas. **Revista Brasileira de Sementes**, Curitiba, v. 1, n. 1, p. 33-38, 1979.

OCHOA, J. et al. Rooting medium temperature and carbohydrates affected oleander rooting. **Acta Horticulture**, Leaven, n. 659, p. 239-242, 2004.

OHLAND, T. et al. 74 OHLAND, T. et al. Enraizamento de estacas apicais de figueira “Roxo de Valinhos” em função de época de coleta e AIB. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 33, n. 1, p. 74-78, jan./fev., 2009.

OLIVEIRA, R. P.; NINO, A. F. P.; FERREIRA, L. V. Multiplicação *in vitro* de cultivares de amoreira-preta. **Comunicado Técnico Embrapa Clima Temperado**, Pelotas, n. 154, 2006. 7 p.

ONO, E. O.; RODRIGUES, J. D. **Aspectos de fisiologia do enraizamento de estacas caulinares**. Jabotical: Funep, 1996. 83 p.

ONO, E. O.; RODRIGUES, J. D.; PINHO, S. Z. Enraizamento de estacas caulinares de kiwi (*Actinidia chinensis* Planch. Vc Abbott) tratadas com auxinas e boro. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 52, n. 3, p. 462-468, 1995.

ORI, S. S. **Influência das auxinas no desenvolvimento e no teor de carboidratos solúveis, amido e proteína total solúvel em *Phalaenopsis amabilis* (Lineu) Blume (Orchidaceae) cultivada *in vitro***. 2006. 133 f. Dissertação (Mestrado em Biodiversidade vegetal e Meio Ambiente)-Instituto de Botânica da Secretaria de Meio Ambiente, São Paulo, 2006.

OVERBEEK, J. V.; GORDON, S. A.; GREGORY, L. E. An Analysis of the Function of the Leaf in the Process of Root Formation in Cuttings. **American Journal of Botany**, St. Louis, v. 33, n. 2, p. 100-107, 1946.

PHILIPSON, J. J.; COUTTS, M. P. Effects of growth hormone application on the secondary growth of roots and stems in *Picea sitchensis* (Bong.) Carr. **Annals of Botany**, London, v. 46, p. 747-755, 1980.

POLING, E. B. Blackberries. **Journal of Small Fruit and Viticulture**, Binghamton, v. 14, n.1/2, p. 38-69, 1996

RADMANN, E. B.; GONÇALVES, E. D.; FORTES, G. R. L. Concentrações de ácido indolbutírico e períodos de escuro, no enraizamento “*in vitro*” de amoreira-preta (*Rubus*), cv. Ébano. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 25, n. 1, p. 124-126, 2003.

RASEIRA, M. C. B. A pesquisa com amora-preta no Brasil. In: SIMPÓSIO NACIONAL DO MORANGO, 2.; ENCONTRO DE PEQUENAS FRUTAS E FRUTAS NATIVAS, 1., Pelotas. **Palestras...** Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2004. p. 119-123.

RASEIRA, M. C. B. et al. Aspectos técnicos da cultura da framboeseira. **Documentos Embrapa Clima Temperado**, Pelotas, n. 120, 2004. 24 p.

REIS, J. M. R. et al. Efeito do estiolamento e do ácido indolbutírico no enraizamento de estacas do porta-enxerto *Pyrus calleryana* Dcne. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 24, n. 4, p. 931-938, out./dez. 2000.

REUVENI, O.; RAVIV, M. Importance of leaf Retention to rooting of avocado cuttings. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Stanford, n. 106, v. 2, p. 127-130, 1980.

ROOD, S. B. et al. Gibberellins and gravitropism in maize shoots. **Plant Physiology**, Waterbury, v. 83, p. 645-651, 1987.

RUFATO, L.; DE ROSSI, A.; FARIA, J. L. C. Uso de promalina e incisão anelar no incremento do crescimento vegetativo de ramos laterais em pessegueiro (*Prunus pérsica* (L.) Batsch) conduzidos em axis colunar. **Revista Brasileira Agrocência**, Pelotas, v. 10, n. 1, p. 117-122, 2004.

SARTOR, F. R.; MÜLLER, N. T. G. Otimização na propagação de estacas e micro estacas *in vitro* de jaboticabeira (*Myrciaria jaboticaba* (VELL) O. BERG. In: SIMPÓSIO NACIONAL

DO MORANGO 4.; ENCONTRO SOBRE PEQUENAS FRUTAS E FRUTAS NATIVAS DO MERCOSUL, 3., 2008, Pelotas. **Palestras e Resumos...** Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2008. p. 149.

SCHAKER, P. D. C.; ANTONIOLLI, L. R. Aspectos econômicos e tecnológicos em pós-colheita de amoras-pretas (*Rubus spp*). **Revista Brasileira Agrocência**, Pelotas, v. 15, n. 1/4, p. 11-15, 2009.

SCHUCH, M. W. et al. AIB e substrato na produção de mudas de mirtilo cv. "Clímax" através de microestaquia. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 37, n. 5, p. 1446-1449, 2007.

SINGH, H. et al. Morphological, thermal and rheological properties of starches from different botanical sources. **Food Chemistry**, v. 81, p. 219-231, Sept. 2003.

STOLLER DO BRASIL. Divisão Arbore. **Stimulate® em hortaliças**. Cosmópolis, 1998. Informativo técnico.

STUART, N. W. Nitrogen and Carbohydrate Metabolism of Kidney Bean Cuttings as Affected by Treatment with Indoleacetic Acid. **Botanical Gazette**, New York, v. 100, n. 2, p. 298-311, 1938.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2009. 719 p.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. Auxins: growth and tropisms. In: \_\_\_\_\_. **Plant physiology**. California: The Benjamin/Cummings, 1991. p. 398-424.

TOOGOOD, A. **Enciclopédia de la propagación de plantas**. Barcelona: Blume, 2007. 320 p.

TORRES, A. G. M. **Relação entre sazonalidade, desrama e carboidratos no crescimento de eucalipto na propagação vegetativa por miniestaquia**. 2003. 65 f. Dissertação (Mestre em Recursos Florestais)-Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2003.



VALENT BIOSCIENCES. Promalin®. Disponível em: <<http://www.valentbiosciences.com>>. Acesso em: 19 ago. 2010.

VILLA, F. et al. Crescimento *in vitro* de amoreira-preta: efeito de reguladores de crescimento e da cultivar. **Ciência e Agrotécologia**, Lavras, v. 32, n. 6, p. 1754-1759, 2008a.

VILLA, F. et al. Multiplicação *in vitro* de cultivares de amoreira-preta: influência de reguladores de crescimento e meios de cultivo. In: SIMPÓSIO NACIONAL DO MORANGO 4.; ENCONTRO SOBRE PEQUENAS FRUTAS E FRUTAS NATIVAS DO MERCOSUL, 3., 2008, Pelotas. **Palestras e Resumos...** Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2008b. p. 147-148.

VILLA, F. et al. Multiplicação *in vitro* de amoreira-preta “Ébano” em diferentes concentrações de meio MS e BAP. **Ciência e Agrotécologia**, Lavras, v. 29, n. 3, p. 582-589, 2005.

VILLA, F. et al. Multiplicação *in vitro* de amoreira-preta “Cherokee”: efeito de meios de cultura, cinetina e GA<sub>3</sub>. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 1, n. 1, p. 357-362, 2006.

VILLA, F. et al. Influência do carvão ativado e BAP na multiplicação *in vitro* de duas frutíferas de clima temperado. **Revista Ceres: Viçosa**, v. 1, n. 1, p. 119-125, 2007.

WACHOWICZ, C. M.; CARVALHO, R. I. N. **Fisiologia vegetal: produção e pós-colheita**. Curitiba: Chanpagnat, 2002. 424 p.

WHISTLER, R. L.; BEMILLER, J. N. **Carbohydrate chemistry for food scientists**. St. Paul: American Association of Cereal Chemistry, 1997. 241 p.

WIESMAN, Z.; LAVEE, S. Relationship of carbohydrate sources and Indole-3-butyric acid in olive cuttings. **Australian Journal Plant Physiology**, Austrália, v. 22, p. 811-816, 1995.

YING, G.; ZHAO, C.M.; JUN, W. On *Rubus* resources in Hunan and Fujian provinces. XXIII International Horticulture Congress, **Abstracts...** v. 345, p. 117-126, 1990. Disponível em: <[http://www.actahort.org/books/345/345\\_16.htm](http://www.actahort.org/books/345/345_16.htm)>. Acesso em: 19 ago.

YOUN, C. K. et al. Effects of Promalin and Salicylic Acid Application on Tree Growth and Fruit Quality of 'Tsugaru' Apples. **Acta Horticulture**, Leaven, n. 653, p. 151-154, 2004.

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