

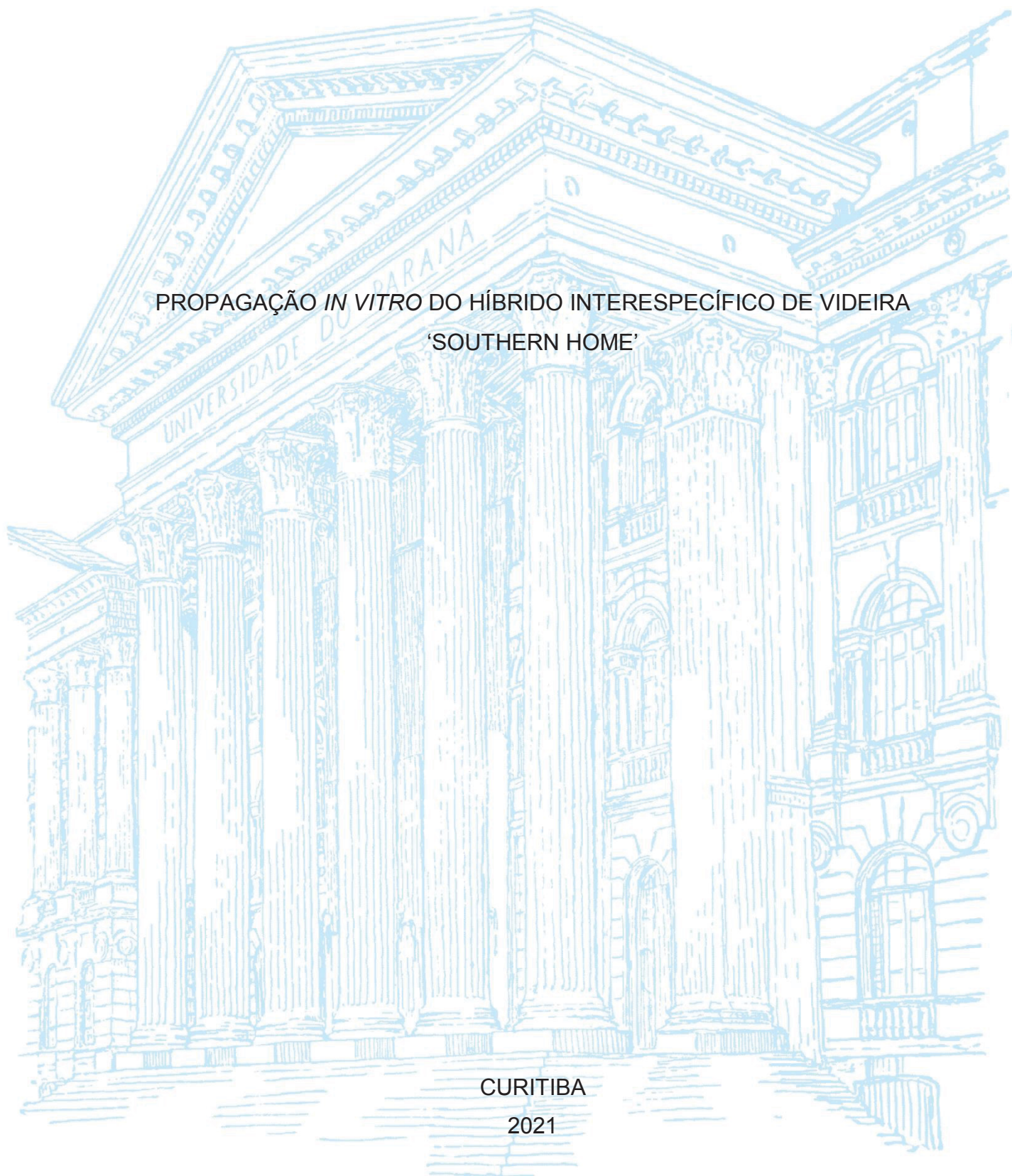
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

TATIANE OTTO DE FRANÇA

PROPAGAÇÃO *IN VITRO* DO HÍBRIDO INTERESPECÍFICO DE VIDEIRA
'SOUTHERN HOME'

CURITIBA

2021



TATIANE OTTO DE FRANÇA

PROPAGAÇÃO *IN VITRO* DO HÍBRIDO INTERESPECÍFICO DE VIDEIRA
'SOUTHERN HOME'

Dissertação apresentada ao curso de Pós-
-Graduação em Agronomia – Produção Vegetal,
Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal
do Paraná, como requisito parcial à obtenção do
título de Mestre em Agronomia

Orientador: Prof. Dr. Luiz Antônio Biasi

CURITIBA

2021

França, Tatiane Otto de

Propagação *in vitro* do híbrido interespecífico de videira 'Southern Home'. - Curitiba, 2021.

91f. : il.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Paraná. Setor de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Agronomia.

Orientação: Luiz Antônio Biasi

1. Tecidos vegetais - Cultura e meios de cultura. 2. Micropropagação. 3. Reguladores vegetais. I. Biasi, Luiz Antônio. II. Título. III. Universidade Federal do Paraná.



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO AGRONOMIA
(PRODUÇÃO VEGETAL) - 40001016031P6

TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em AGRONOMIA (PRODUÇÃO VEGETAL) da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da dissertação de Mestrado de **TATIANE OTTO DE FRANÇA** intitulada: **PROPAGAÇÃO IN VITRO DO HÍBRIDO INTERESPECÍFICO DE VIDEIRA 'SOUTHERN HOME'**, sob orientação do Prof. Dr. LUIZ ANTONIO BIASI, que após terem inquirido a aluna e realizada a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua APROVAÇÃO no rito de defesa.

A outorga do título de mestre está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

CURITIBA, 31 de Maio de 2021.

Assinatura Eletrônica
31/05/2021 17:41:00.0
LUIZ ANTONIO BIASI
Presidente da Banca Examinadora

Assinatura Eletrônica
31/05/2021 17:35:35.0
JOÃO CARLOS BESPALHOK FILHO
Avaliador Interno (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

Assinatura Eletrônica
31/05/2021 17:38:38.0
LUCIANA LOPES FORTES RIBAS
Avaliador Interno (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

Assinatura Eletrônica
31/05/2021 18:00:11.0
GIOVANA BOMFIM DE ALCANTARA
Avaliador Externo (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

Rua dos Funcionários, 1540 - CURITIBA - Paraná - Brasil
CEP 80035-050 - Tel: (41) 3350-5601 - E-mail: pgapv@ufpr.br

Documento assinado eletronicamente de acordo com o disposto na legislação federal Decreto 8539 de 08 de outubro de 2015.
Gerado e autenticado pelo SIGA-UFPR, com a seguinte identificação única: 94751

Para autenticar este documento/assinatura, acesse <https://www.prppg.ufpr.br/siga/visitante/autenticacaoassinaturas.jsp>
e insira o código 94751

Dedico,
A minha família por todo apoio, incentivo e companheirismo.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo dom da vida, pela força, saúde, proteção e pela oportunidade de alcançar mais uma vitória.

À minha família, aos meus pais (Dirceu e Regina), meus irmãos, cunhados(as) e sobrinhos, por todo apoio, amor, alegrias, por nunca deixarem de acreditar em mim, e por serem meu porto seguro e meu alicerce. Em especial, à minha irmã caçula, Ester, por todo apoio, companheirismo, incentivo e pela ajuda na condução dos experimentos, pelo auxílio principalmente na lavagem de vidrarias (por sinal, milhares de tubos e placas), pelo auxílio nas fotografias e por aguentar horas e horas de avaliações ao longo dos experimentos.

À Universidade Federal do Paraná, juntamente com o Programa de Pós-Graduação em Agronomia – PGAPV, pela realização deste curso.

Ao meu orientador, Professor Dr. Luiz Antônio Biasi, pela oportunidade de ser sua orientanda, por todo apoio, pela confiança, paciência, amizade e, sobretudo, por todo o conhecimento transmitido a mim ao longo desses anos.

Aos professores do PGAPV, por todos ensinamentos e experiências compartilhados.

Aos amigos e colegas do PGAPV, por todo companheirismo, pela amizade e pelo ótimo convívio ao longo do curso.

Aos colegas do Laboratório de Micropropagação de Plantas da UFPR, em especial, à Marcela, Mariana, Cíntia, Carolina, Ariane, Laudiane e ao Fernando, e ao técnico Carlos Maduro, pela troca de experiências, pelo apoio, pelas sugestões, pela amizade e pelo excelente convívio diário.

Às funcionárias da limpeza do Departamento de Fitotecnia e Fitossanidade, em especial, à senhora Maria Valdeti por manter tudo impecável e pelas conversas e risadas ao longo dos dias.

Às amigas Mariana, Paola, Harielly, Laís e Juliana, pela amizade, pelo incentivo, apoio e por tornarem os dias mais leves e engraçados.

À CAPES, pela concessão da bolsa de mestrado, a qual foi fundamental para realização deste trabalho.

À secretária do PGAPV, Lucimara Antunes, pela amizade e pelo auxílio prestado quanto à parte burocrática da pós-graduação.

A todos que contribuíram para a concretização deste trabalho.

“...que a glória seja dada a Deus,
o qual, por meio do seu poder que age em nós,
pode fazer muito mais do que pedimos ou até imaginamos.”

(Efésios 3:20)

RESUMO

A cultivar 'Southern Home' é um híbrido interespecífico complexo entre espécies do subgênero Muscadínea e *Vitis vinifera* L., o qual foi recentemente introduzido no Brasil e apresenta frutos com propriedades nutracêuticas, alto vigor, resistência a doenças e, devido ao formato de suas folhas, é muito usado na ornamentação de jardins, casas e etc. Com o aumento da demanda por mudas, a micropropagação torna-se a principal técnica de produção de mudas de qualidade, em um curto espaço de tempo e em um pequeno ambiente. Assim, o objetivo deste trabalho foi desenvolver um protocolo eficiente de micropropagação da videira 'Southern Home' para a rápida produção de mudas de qualidade. Para o estabelecimento *in vitro*, brotações foram coletadas e desinfestadas com fungicida Cercobim® (2,5 g L⁻¹), etanol 70% e hipoclorito de sódio a 2,5%. Posteriormente estas brotações foram excisadas em segmentos nodais de 7 mm com uma gema e sem folhas e foram inoculados em cinco diferentes meios de cultura (MS, QL, WPM, WPM modificado e DSD1). Na fase de indução de brotação, testou-se os mesmos meios de cultura da fase anterior e a ação de 6-benzaminopurina (BAP) e zeatina (ZEA) nas concentrações (0; 1,0; 2,5 e 5,0 µM) em meio de cultura WPM modificado. Em seguida, verificou-se a ação do ácido 3-indolacético (IAA), ácido naftalenoacético (NAA) e ácido indolbutírico (IBA) nas concentrações (0; 0,2; 0,4 e 0,8 µM) no enraizamento *in vitro* e seu efeito na aclimatização *ex vitro* das plantas cultivadas *in vitro*. No estabelecimento *in vitro* da videira 'Southern Home' o meio de cultura WPM modificado permitiu maior sobrevivência dos explantes (75,00%), maior porcentagem de brotação (57,50%) e brotações de boa qualidade (nota 2,40). Na indução de brotação, o meio WPM proporcionou alta porcentagem de brotação em todos os subcultivos (98; 92 e 98%), maior comprimento de brotação (3,43; 5,44 e 7,86 cm) e maior número de gemas por brotação (5,16; 6,30 e 8,68). Em relação as citocininas testadas, a concentração de 1 µM de ZEA proporcionou o maior comprimento e qualidade de brotação, maior número de gemas e menor aparecimento de sintomas de hiperhidricidade nas brotações, sendo que a ausência de citocininas no meio proporcionou baixa porcentagem de brotação em todos os subcultivos analisados (43,75 e 20%). Em se tratando do enraizamento *in vitro*, houve 95% de explantes enraizados no meio de cultura sem auxinas (IBA, IAA e NAA) e de 99,44% na presença das auxinas testadas. Já a sobrevivência das plantas foi de 100%, tanto na etapa de aclimatização *ex vitro* em laboratório como na aclimatização em casa de vegetação. Conclui que foi estabelecido um protocolo eficiente de micropropagação do híbrido de videira 'Southern Home', com a garantia de produção de mudas de qualidade e que a introdução *in vitro* desta videira deve ser realizada em meio WPM modificado, a indução de brotação em meio WPM acrescido de 1 µM de ZEA e não se faz necessário o uso de auxinas para o enraizamento *in vitro* e para o sucesso *ex vitro* da videira 'Southern Home'.

Palavras-chaves: cultura de tecidos, micropropagação, muscadínea, reguladores vegetais, *Vitis*.

ABSTRACT

The cultivar 'Southern Home' is a complex interspecific hybrid between species of the Muscadine subgenus and *Vitis vinifera* L. It was recently introduced in Brazil and presents fruits with nutraceutical properties, high vigor, and disease resistance. Also, due to the format of its leaves, it is widely used in the ornamentation of gardens, houses, etc. With the increasing demand for seedlings, micropropagation has become the main technique to produce quality seedlings, in a short period and a small environment. Thus, the objective of this work was to develop an efficient micropropagation protocol of the 'Southern Home' grapevine for the rapid production of quality seedlings. For *in vitro* establishment, shoots were collected and disinfected with Cercobim® (2.5 g L⁻¹) fungicide, 70% ethanol, and 2.5% sodium hypochlorite. Subsequently, these sprouts were excised into 7 mm nodal segments with one bud and no leaves and were inoculated in five different culture media (MS, QL, WPM, modified WPM and DSD1). In the budding induction phase, testing used the same previous culture media and the action of 6-benzaminopurine (BAP) and zeatin (ZEA) at concentrations (0; 1.0; 2.5 and 5.0 µM) in a modified WPM culture medium. Then, the action of 3-indol acetic acid (IAA), naphthaleneacetic acid (NAA), and indol butyric acid (IBA) at concentrations (0; 0.2; 0.4 and 0.8 µM) was verified on *in vitro* rooting, and on *ex vitro* acclimatization of *in vitro* grown plants. Furthermore, during the establishment of the *in vitro* 'Southern Home' grapevine, the modified WPM culture medium allowed the highest survival of explants (75.00%), the highest percentage of sprouting (57.50%), and sprouts with good quality (score 2.40). In the sprouting induction phase, the WPM medium provided a high sprouting percentage in all subcultures (98; 92 and 98%), greater sprouting length (3.43; 5.44, and 7.86 cm), and the greater number of buds per sprout (5.16; 6.30 and 8.68). Regarding the cytokinins tested, the concentration of 1 µM of ZEA provided the greatest length and sprout quality, greater number of buds, and fewer symptoms of hyperhidricity in the sprouts. Moreover, when in the absence of cytokinins in the medium, a low percentage of sprouting was observed in all the subcultures (43.75 and 20%). For *in vitro* rooting, there were 95% of rooted explants in the culture medium without auxins (IBA, IAA and NAA) and 99.44% in the presence of them. The survival of the plants was 100% for the *ex vitro* acclimatization in the laboratory and greenhouse stages. It concludes that, a micropropagation efficient protocol of the hybrid 'Southern Home' grapevine was established, guaranteeing quality seedlings production. And that, *in vitro* introduction of this grapevine should be done in modified WPM medium; the induction of sprouting in WPM medium plus 1 µM of ZEA; and the use of auxins is not necessary for the *in vitro* rooting and for the *ex vitro* success of the 'Southern Home' grapevine.

Key words: micropropagation, muscadine, plant regulators, tissue culture, *Vitis*.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - ILUSTRAÇÃO DO HÁBITO DE CRESCIMENTO (A), FORMATO DE FOLHAS (B), FORMATO DE BAGAS (C) E FRUTIFICAÇÃO (D) DA VIDEIRA MUSCADÍNEA 'SOUTHERN HOME'.	21
FIGURA 2 – ESTABELECIMENTO <i>IN VITRO</i> DO HÍBRIDO DE VIDEIRA 'SOUTHERN HOME', A - ESTACAS ENROLADAS EM PAPEL ÚMIDO APÓS A DESINFESTAÇÃO; B - ESTACAS IMERSAS EM ÁGUA EM SALA DE CRESCIMENTO; C - GEMA EM DESENVOLVIMENTO; D - GEMA BROTADA E SEGMENTO NODAL INOCULADO <i>IN VITRO</i>	34
FIGURA 3 – ABERTURA GRADUAL DAS CAIXAS DE CULTIVO AO 7º, 14º, 21º E 28º DIA DO HÍBRIDO DE VIDEIRA 'SOUTHERN HOME'. UFPR, CURITIBA/PR, 2021.	37
FIGURA 4 – QUALIDADE DAS BROTAÇÕES <i>IN VITRO</i> DO HÍBRIDO DE VIDEIRA 'SOUTHERN HOME'. UFPR, CURITIBA/PR, 2021.....	39
FIGURA 5 - SINTOMA DE HIPERHIDRICIDADE NAS BROTAÇÕES (1=AUSENTE, 2=SUAVE, 3=MODERADA, 4=FORTE, 5=SEVERA) DO HÍBRIDO DE VIDEIRA 'SOUTHERN HOME'. UFPR, CURITIBA/PR, 2021.....	41
FIGURA 6 – INTENSIDADE DE FORMAÇÃO DE CALO NA VIDEIRA 'SOUTHERN HOME', 1=POUCA; 2=MÉDIA E 3= ALTA. UFPR, CURITIBA/PR, 2021.	42
FIGURA 7 – QUALIDADE DAS MUDAS <i>EX VITRO</i> , 1=BAIXA, 2=MÉDIA E 3=ÓTIMA QUALIDADE DO HÍBRIDO DE VIDEIRA 'SOUTHERN HOME'. UFPR, CURITIBA/PR, 2021.	43
FIGURA 8 – PORCENTAGEM DE BROTAÇÃO DA VIDEIRA 'SOUTHERN HOME' NO TERCEIRO SUBCULTIVO SOB EFEITO DE BAP E ZEA NO MEIO DE CULTURA WPM MODIFICADO. UFPR, CURITIBA/PR, 2021.	50
FIGURA 9 – COMPRIMENTO DAS BROTAÇÕES DA VIDEIRA 'SOUTHERN HOME' NO TERCEIRO SUBCULTIVO SOB EFEITO DE BAP E ZEA NO MEIO DE CULTURA WPM MODIFICADO. UFPR, CURITIBA/PR, 2021.	52
FIGURA 10 – QUALIDADE DAS BROTAÇÕES DA VIDEIRA 'SOUTHERN HOME' NO PRIMEIRO E SEGUNDO SUBCULTIVO SOB EFEITO DE ZEA EM MEIO WPM MODIFICADO. UFPR, CURITIBA/PR, 2021.....	52

FIGURA 11 - QUALIDADE DAS BROTAÇÕES DA VIDEIRA 'SOUTHERN HOME' SOB EFEITO DE BAP NO MEIO WPM MODIFICADO. UFPR, CURITIBA/PR, 2021	53
FIGURA 12 – QUALIDADE DE BROTAÇÃO DA VIDEIRA 'SOUTHERN HOME' NO TERCEIRO SUBCULTIVO SOB EFEITO DE BAP E ZEA NO MEIO DE CULTURA WPM MODIFICADO. UFPR, CURITIBA/PR, 2021.	54
FIGURA 13 – NÚMERO DE GEMAS POR BROTAÇÃO NO 1º SUBCULTIVO DA VIDEIRA 'SOUTHERN HOME' SOB EFEITO DE BAP E ZEA EM MEIO DE CULTURA WPM MODIFICADO. UFPR, CURITIBA/PR, 2021. ...	54
FIGURA 14 – NÚMERO DE GEMAS POR BROTAÇÃO NO 3º SUBCULTIVO DA VIDEIRA 'SOUTHERN HOME' SOB EFEITO DE BAP E ZEA EM MEIO DE CULTURA WPM MODIFICADO. UFPR, CURITIBA/PR, 2021. ...	56
FIGURA 15 – SINTOMAS DE HIPERHIDRICIDADE EM BROTAÇÕES DA VIDEIRA 'SOUTHERN HOME' SOB EFEITO DO REGULADOR VEGETAL BAP. UFPR, CURITIBA/PR, 2021.....	56
FIGURA 16 – SINTOMAS DE HIPERHIDRICIDADE EM BROTAÇÕES DA VIDEIRA 'SOUTHERN HOME' SOB EFEITO DE ZEA NO MEIO DE CULTURA WPM MODIFICADO. UFPR, CURITIBA/PR, 2021.UFPR.	57
FIGURA 17 - SINTOMAS DE HIPERHIDRICIDADE EM BROTAÇÕES DA VIDEIRA 'SOUTHERN HOME' NO TERCEIRO SUBCULTIVO SOB EFEITO DO REGULADOR VEGETAL BAP E ZEA NO MEIO DE CULTURA WPM MODIFICADO. UFPR, CURITIBA/PR, 2021.	58
FIGURA 18 – INTENSIDADE DE FORMAÇÃO DE CALO EM BROTAÇÕES DA VIDEIRA 'SOUTHERN HOME' SOB EFEITO DE ZEA NO MEIO DE CULTURA WPM MODIFICADO. UFPR, CURITIBA/PR, 2021.	59
FIGURA 19 – INTENSIDADE DE FORMAÇÃO DE CALO EM BROTAÇÕES DA VIDEIRA 'SOUTHERN HOME' SOB EFEITO DE BAP EM MEIO DE CULTIVO WPM MODIFICADO. UFPR, CURITIBA/PR, 2021.	60
FIGURA 20 – INTENSIDADE DE FORMAÇÃO DE CALO EM BROTAÇÕES DA VIDEIRA 'SOUTHERN HOME' NO TERCEIRO SUBCULTIVO SOB EFEITO DO REGULADOR VEGETAL BAP E ZEA NO MEIO DE CULTURA WPM MODIFICADO. UFPR, CURITIBA/PR, 2021.	60

FIGURA 21 – EFEITO DE IBA (A, B, C e D), NAA (E, F, G e H) E IAA (I, J, K e L) EM MEIO WPM MODIFICADO NO ENRAIZAMENTO <i>IN VITRO</i> DA VIDEIRA ‘SOUTHERN HOME’. UFPR, CURITIBA/PR, 2021.....	63
FIGURA 22 – PLANTAS DA VIDEIRA ‘SOUTHERN HOME’ ACLIMATADAS EM LABORATÓRIO E EM VERMICULITA SEM O USO ANTERIOEMENTE DE AUXINAS EM MEIO DE CULTIVO WPM MODIFICADO <i>IN VITRO</i> (A) E PLANTAS ACLIMATADAS EM LABORATÓRIO E VERMICULITA CULTIVADAS ANTERIORMENTE NA PRESENÇA DE IBA (B, C e D), NAA (E, F e G) E IAA (H, I e J) EM MEIO DE CULTIVO WPM MODIFICADO. UFPR, CURITIBA/PR, 2021.	69
FIGURA 23 – ACLIMATIZAÇÃO <i>EX VITRO</i> DA VIDEIRA ‘SOUTHERN HOME’ EM CASA DE VEGETAÇÃO. UFPR, CURITIBA/PR, 2021.	70
FIGURA 24 - PROTOCOLO DE MICROPROPAGAÇÃO DA VIDEIRA MUSCADÍNEA CULTIVAR SOUTHERN HOME. UFPR, CURITIBA/PR, 2021.	75

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – COMPOSIÇÃO QUÍMICA DOS MEIOS DE CULTURA TESTADOS NA MICROPROPAGAÇÃO DO HÍBRIDO DE VIDEIRA 'SOUTHERN HOME'.....	32
TABELA 2 – CARACTERÍSTICAS DA QUALIDADE DAS BROTAÇÕES DO HÍBRIDO DE VIDEIRA 'SOUTHERN HOME'. UFPR, CURITIBA/PR, 2021.	39
TABELA 3 – CARACTERÍSTICAS DOS SINTOMAS DE HIPERHIDRICIDADE NAS BROTAÇÕES DO HÍBRIDO DE VIDEIRA 'SOUTHERN HOME'. UFPR, CURITIBA/PR, 2021.	40
TABELA 4 – CARACTERÍSTICAS DA QUALIDADE DAS MUDAS <i>EX VITRO</i> DO HÍBRIDO DE VIDEIRA 'SOUTHERN HOME'. UFPR, CURITIBA/PR, 2021.....	42
TABELA 5 – SOBREVIVÊNCIA E PORCENTAGEM DE BROTAÇÃO EM DIFERENTES MEIOS DE CULTURA NO ESTABELECIMENTO <i>IN VITRO</i> DA VIDEIRA 'SOUTHERN HOME'. UFPR, CURITIBA/PR, 2021.....	44
TABELA 6 – QUALIDADE, COMPRIMENTO E NÚMERO DE GEMAS POR BROTAÇÃO EM DIFERENTES MEIOS DE CULTURA NO ESTABELECIMENTO <i>IN VITRO</i> DA VIDEIRA 'SOUTHERN HOME'. UFPR, CURITIBA/PR, 2021.....	45
TABELA 7 – PORCENTAGEM E NÚMERO DE BROTAÇÃO EM DIFERENTES MEIOS DE CULTURA NA INDUÇÃO DE BROTAÇÃO DA VIDEIRA 'SOUTHERN HOME'. UFPR, CURITIBA/PR, 2021.....	46
TABELA 8 – COMPRIMENTO DE BROTAÇÃO E NÚMERO DE GEMAS EM DIFERENTES MEIOS DE CULTURA NA INDUÇÃO DE BROTAÇÃO DA VIDEIRA 'SOUTHERN HOME'. UFPR, CURITIBA/PR, 2021.	47
TABELA 9 – QUALIDADE DE BROTAÇÃO EM DIFERENTES MEIOS DE CULTURA NA INDUÇÃO DE BROTAÇÃO DA VIDEIRA 'SOUTHERN HOME'. UFPR, CURITIBA/PR, 2021.....	48
TABELA 10 – PORCENTAGEM DE BROTAÇÃO DA VIDEIRA 'SOUTHERN HOME' SOB EFEITO DE ZEA E BAP NO MEIO DE CULTIVO WPM MODIFICADO. UFPR, CURITIBA/PR, 2021.	49

TABELA 11 – COMPRIMENTO DE BROTAÇÃO DA VIDEIRA ‘SOUTHERN HOME’ SOB EFEITO DE ZEA E BAP NO MEIO DE CULTIVO WPM MODIFICADO. UFPR, CURITIBA/PR, 2021.	51
TABELA 13 – NÚMERO DE GEMAS POR BROTAÇÃO NO SEGUNDO SUBCULTIVO DA VIDEIRA ‘SOUTHERN HOME’ SOB EFEITO DE BAP E ZEA EM MEIO DE CULTURA WPM MODIFICADO. UFPR, CURITIBA/PR, 2021.....	55
TABELA 14 – RESUMO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA DAS VARIÁVEIS DE ENRAIZAMENTO <i>IN VITRO</i> DA VIDEIRA ‘SOUTHERN HOME’ EM MEIO WPM MODIFICADO COM TRÊS AUXINAS EM TRÊS DIFERENTES CONCENTRAÇÕES’. UFPR, CURITIBA/PR, 2021. ..	62
TABELA 15 – RESUMO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA DAS VARIÁVEIS PARTE AÉREA DA VIDEIRA ‘SOUTHERN HOME’ EM MEIO WPM MODIFICADO COM TRÊS AUXINAS EM TRÊS DIFERENTES CONCENTRAÇÕES NO ENRAIZAMENTO <i>IN VITRO</i> . UFPR, CURITIBA/PR, 2021.	66
TABELA 16 – RESUMO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA DAS VARIÁVEIS AÉREAS NA ETAPA DE ACLIMATIZAÇÃO <i>EX VITRO</i> DA VIDEIRA ‘SOUTHERN HOME’ CULTIVADAS EM VERMICULITA EM LABORATÓRIO. UFPR, CURITIBA/PR, 2021.	67
TABELA 17 – RESUMO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA DAS VARIÁVEIS SOBREVIVÊNCIA E QUALIDADE DAS PLANTAS NA ETAPA DE ACLIMATIZAÇÃO <i>EX VITRO</i> DA VIDEIRA ‘SOUTHERN HOME’ EM SUBSTRATO COMERCIAL F44 CLASSE “A” MARCA AGROFIOR® EM CASA DE VEGETAÇÃO. UFPR, CURITIBA/PR, 2021.	68

LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

® - Marca registrada

atm - atmosfera de pressão

BAP - 6-benzilaminopurina

cm³ - centímetro(s) cúbico

cv. - cultivar(es)

g - grama(s)

g L⁻¹ - grama(s) por litro

IAA - ácido 3-indolacético

IBA - ácido indolbutírico

L - litro(s)

mg - miligrama(s)

mg L⁻¹ - miligrama(s) por litro

min - minuto(s)

mL - mililitro(s)

mm - milímetro(s)

mmol/m s - milimol(es) por metro quadrado por segundo

mol/m s - mol(es) por metro quadrado por segundo

MS - Meio de cultura Murashige e Skoog (1962)

NAA - ácido naftalenoacético

°C - grau(s) Celsius

QL - Meio de cultura de Quoirin e Lepoivre (1977)

DSD1 - Meio de cultura de Silva e Doazan (1995)

s - segundo(s)

SH - Híbrido videira muscadínea 'Southern Home'

t - tonelada(s)

WPM - Meio de cultura Woody plant medium de Lloyd e Mccown (1980)

WPM MODIFICADO - meio de cultura Woody plant medium modificado de Wang et al. 2014

ZEA - zeatina (N6-(4-hidroxi-3-metilbut-2-enil) aminopurina

μM - micromolar

μmol/m s - micromol(es) por metro quadrado por segundo

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	16
2 REVISÃO DE LITERATURA	18
2.1 ORIGEM E TAXONOMIA DA VIDEIRA.....	18
2.2 UVAS MUSCADÍNEAS	18
2.3 CULTIVAR ‘SOUTHERN HOME’	20
2.4 MICROPROPAGAÇÃO	22
2.5 ETAPAS DA MICROPROPAGAÇÃO	23
2.5.1 Escolha do tipo de explante	23
2.5.2 Estabelecimento <i>in vitro</i>	24
2.5.3 Indução de brotação.....	25
2.5.4 Enraizamento	26
2.5.5 Aclimatização	28
2.6 MEIOS DE CULTURA.....	28
2.7 MICROPROPAGAÇÃO EM MUSCADINEAS.....	29
3 MATERIAL E MÉTODOS	31
3.1 LOCAL DE REALIZAÇÃO DOS EXPERIMENTOS	31
3.2 MATERIAL VEGETAL.....	31
3.3 MEIO DE CULTURA	32
3.4 CONDIÇÕES DE CULTIVO <i>IN VITRO</i>	33
3.5 ETAPAS DA MICROPROPAGAÇÃO	33
3.5.1 Estabelecimento <i>in vitro</i>	33
3.5.2 Indução de Brotações	35
3.5.2.1 Efeitos dos meios de cultura.....	35
3.5.2.2 Efeito dos reguladores vegetais BAP e ZEA.....	35
3.5.3 Enraizamento <i>in vitro</i> , aclimatização <i>ex vitro</i> em laboratório e em casa de vegetação	36
3.6 DESCRIÇÃO DAS VARIÁVEIS ANÁLISADAS.....	38
3.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	43
4 RESULTADOS	44
4.1 ESTABELECIMENTO <i>IN VITRO</i>	44
4.2 INDUÇÃO DE BROTAÇÃO.....	45
4.2.1 Efeito dos meios de cultura	45

4.2.2 Efeito dos reguladores vegetais BAP e ZEA	48
4.3 ENRAIZAMENTO, TRANSPLANTIO E ACLIMATIZAÇÃO	61
5 DISCUSSÃO.....	71
6 CONCLUSÕES.....	75
REFERÊNCIAS	76
ANEXO 1 – LAUDO DE SANIDADE VEGETAL.....	87
ANEXO 2 – RESUMO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA DA PORCENTAGEM E COMPRIMENTO DE BROTAÇÃO DA VIDEIRA ‘SOUTHERN HOME’ SOB EFEITO DE ZEA E BAP NO MEIO DE CULTURA WPM MODIFICADO. UFPR, CURITIBA/PR, 2021.....	88
ANEXO 3 – RESUMO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA DA QUALIDADE DE BROTAÇÃO DA VIDEIRA ‘SOUTHERN HOME’ SOB EFEITO DE ZEA E BAP EM MEIO DE CULTURA WPM MODIFICADO. UFPR, CURITIBA/PR, 2021.	88
ANEXO 4 – RESUMO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA DO NÚMERO DE GEMAS POR BROTAÇÃO DA VIDEIRA ‘SOUTHERN HOME’ SOB EFEITO DE ZEA E BAP NO MEIO DE CULTURA WPM MODIFICADO. UFPR, CURITIBA/PR, 2021.	88
ANEXO 5 – RESUMO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA DOS SINTOMAS DE HIPERHIDRICIDADE NO HÍBRIDO DE VIDEIRA ‘SOUTHERN HOME’ DECORRENTE DO EFEITO DE ZEA E BAP NO MEIO DE CULTURA WPM MODIFICADO. UFPR, CURITIBA/PR, 2021.....	88
ANEXO 6 – RESUMO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA DA INTENSIDADE DE FORMAÇÃO DE CALO NA VIDEIRA ‘SOUTHERN HOME’ DECORRENTE DO EFEITO DE ZEA E BAP NO MEIO DE CULTURA WPM MODIFICADO. UFPR, CURITIBA/PR, 2021.	89

1 INTRODUÇÃO

A videira é uma das frutíferas mais antigas conhecidas e cultivadas, sendo considerada uma das primeiras frutíferas a serem domesticadas pelos homens. A viticultura está em pleno crescimento no Brasil e no mundo, sendo uma cultura de grande interesse comercial e econômico.

De acordo com a *Food and Agriculture Organization of the United Nations* (FAO), no ano de 2019, a produção mundial de uvas foi de 77,1 milhões de toneladas, numa área total de 6,9 milhões de hectares. Já no Brasil, a produção de uvas em 2019 foi de 1,5 milhão de toneladas e a área cultivada foi de 74.625 hectares (FAO, 2021).

A viticultura no Brasil é desenvolvida exclusivamente com as uvas pertencentes ao Subgênero *Euveitis*, as quais são uvas de grande interesse econômico e que compreendem principalmente as *Vitis vinifera* (uvas europeias) e *Vitis labrusca* (uvas americanas), deixando de lado as uvas do Subgênero *Muscadinea*, que apresentam várias características importantes.

As uvas muscadíneas são nativas do sudoeste dos Estados Unidos, com registros do seu cultivo por mais de 400 anos, sendo uma das poucas frutíferas que se adaptaram bem a essa região (OLIEN, 2001). As muscadíneas, apresentam resistência a diversas doenças e pragas que assolam as videiras em todo o mundo, alta rusticidade, frutos com qualidade, sabor e aroma bem característicos, sendo bastante utilizadas para a produção de vinhos, sucos e geleias (OLIEN, 2001; STRIEGLER et al., 2005). Os frutos das muscadíneas apresentam alto teor de compostos nutracêuticos, que conferem vários benefícios para a saúde humana. Dentre esses compostos destacam-se: os ácidos fenólicos, flavonóis, antocianinas, resveratrol e ácido elágico (POLING et al., 2003; YI et al., 2005; SANDHU; GU, 2010; BARCHENGER; CLARK, 2015).

A partir da descoberta da resistência a pragas, doenças e dos compostos nutracêuticos intrínsecos nas muscadíneas, houve um aumento significativo no estudo e no melhoramento genético dessa espécie, repercutindo no lançamento de muitas cultivares de muscadíneas. Dentre as cultivares lançadas o híbrido ‘Southern Home’ destaca-se por apresentar resistência a doenças, frutos com propriedades nutracêuticas e pela possibilidade de ser usado como planta ornamental. Tal uso é devido às suas características de conformação de planta, principalmente por possuir alto vigor, flores perfeitas, amadurecimento uniforme das bagas e por apresentar

formato de folha único, com bordos bem recortados e profundos, muito parecido com as folhas de um carvalho (MORTENSEN et al., 1994; CONNER, 2010).

Com o lançamento de novas cultivares e o aumento da demanda por mudas, há uma necessidade de encontrar técnicas eficientes de propagação vegetativa além da estaquia, que aumentem a produção de mudas em todo o mundo. Com isto, a micropropagação de plantas vem sendo uma das importantes técnicas de produção de mudas em larga escala, num curto espaço de tempo e com a garantia de que os materiais serão de altíssima qualidade e sadios, ou seja, livres de pragas, viroses e doenças.

A micropropagação de plantas tem demonstrado grande sucesso na multiplicação de videiras. Porém, devido à alta variabilidade existente de genótipos, há uma necessidade de desenvolvimento de protocolos específicos de micropropagação. Isso se deve ao fato de que cada genótipo apresenta particularidades e pode responder diferentemente às novas condições de cultivo (AMIRI et al., 2019).

Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi desenvolver um protocolo eficiente de micropropagação do híbrido interespecífico 'Southern Home' (*Vitis rotundifolia* Michx., *V. munsoniana* Simpson ex Munson, *V. popenoei* Fennell, *V. vinifera* L.), com a finalidade de produzir mudas de qualidade.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 ORIGEM E TAXONOMIA DA VIDEIRA

A viticultura é uma das atividades mais antigas da humanidade, sendo que a videira é considerada uma das primeiras frutíferas a serem domesticada no mundo. O seu centro de origem é a região do mediterrâneo e parte da Ásia central (TARINEJAD; AMIRI, 2019). Porém, há diversos registros fósseis do período terciário na Alemanha, França, Inglaterra, Islândia, América do Norte e no Japão (POMMER, 2003). No entanto, existem relatos da ocorrência do centro de origem das videiras ser na região dos trópicos, como: México, Guatemala, Caribe e norte da América do Sul (SAJID et al., 2006).

Em termos taxonômicos, a videira está inclusa na divisão Magnoliophyta, classe Magnoliopsida, subclasse Rosidae, ordem Rhamnales e na família Vitaceae (QUEIROZ-VOLTAN; PIRES, 2003). Existem aproximadamente 12 gêneros na família Vitaceae, porém, apenas o gênero *Vitis* é o que apresenta importância econômica, social e principalmente histórica (OLMO, 1995).

As videiras, sejam elas silvestres ou cultivadas, pertencem ao gênero *Vitis*. Esse gênero é subdividido em dois subgêneros: Muscadínea e Euvitis (BARBIERI; STUMPF, 2008; CONNER, 2009). Esses subgêneros diferem quanto ao número de cromossomos, pois todas as espécies da seção Euvitis são diploides e apresentam $2n=38$ cromossomos, enquanto as três espécies da seção Muscadínea (*Vitis rotundifolia*, *Vitis munsoniana* e *Vitis popenoi*) são diploides e possuem $2n=40$ cromossomos (CAMARGO, 2000).

As videiras pertencentes ao subgênero Euvitis estão dispostas em 11 séries, totalizando aproximadamente 63 espécies, as quais possuem características diferentes das espécies do subgênero Muscadínea. Estas videiras apresentam gavinhas compostas ou bifurcadas e seus nós apresentam diafragma (QUEIROZ-VOLTAN; PIRES, 2003). As espécies mais comuns e de grande interesse econômico neste subgênero são: *Vitis vinifera* (uvas europeias) e *Vitis labrusca* (uvas americanas).

2.2 UVAS MUSCADÍNEAS

As uvas muscadíneas são nativas do sudoeste dos Estados Unidos, com registros do seu cultivo por mais de 400 anos, sendo uma das poucas frutíferas que se adaptaram bem a essa região (OLIEN, 2001).

As videiras muscadíneas são encontradas naturalmente na Flórida, no Alabama, na Geórgia, em Arkansas, Louisiana, Mississippi, Carolina do Norte, Carolina do Sul, Tennessee, Texas, Virgínia e Maryland (CONNER, 2009; HICKEY et al., 2019). De forma geral, as videiras muscadíneas estão presentes em regiões de clima subtropical úmido e quente dos Estados Unidos.

As espécies do subgênero Muscadínea apresentam gavinhas simples e caule com muitas lenticelas. A frutificação é considerada baixa, os cachos são pequenos e com poucas bagas, todavia, as bagas possuem casca grossa e lisa com diversas colorações: desde bronzeada, rosada, avermelhada e até preto-azulado. As sementes são grandes, as bagas apresentam um aroma frutado “único”, com baixo teor de açúcar, no entanto, o amadurecimento das bagas é desuniforme e há um desprendimento do pedicelo assim que os frutos atingem a maturidade fisiológica (GRAY; BENTO, 1991; CONNER, 2009; CONNER, 2010; HICKEY et al., 2019; CAO et al., 2020).

De modo geral, as muscadíneas preferem solos arenosos, com fertilidade elevada e solos aluviais (OLIEN, 2001). Além de possuir alta adaptação a temperaturas variáveis de calor e de inverno, o que garante um bom desenvolvimento principalmente em regiões subtropicais úmidas (HICKEY et al., 2019). Essas uvas apresentam tolerância e resistência a muitas doenças e pragas, como: oídio, míldio, filoxera e a alguns nematoides de galhas (XIE et al., 2015).

O interesse comercial das muscadíneas está baseado no consumo *in natura* dos frutos e na forma de processados, tais como: vinhos, sucos, geleias, entre outros (OLIEN, 2001; STRIEGLER et al., 2005; HICKEY et al., 2019).

O consumo das muscadíneas vem crescendo mundialmente, decorrente dos benefícios que elas proporcionam à saúde humana. Os frutos das muscadíneas possuem um dos mais altos níveis de compostos nutracêuticos que conferem vários benefícios a saúde humana e dentre esses compostos destacam-se: os ácidos fenólicos, flavonóis, antocianinas, resveratrol e ácido elágico e seus derivados (POLING et al., 2003; YI et al., 2005; SANDHU; GU, 2010; BARCHENGER; CLARK, 2015). Segundo Hickey et al. (2019) os compostos nutracêuticos presentes nas muscadíneas possuem propriedades antiplaquetárias e antioxidantes. Além do mais,

possuem propriedades anticancerígenas que impedem o crescimento de células anormais (YI et al., 2005).

2.3 CULTIVAR 'SOUTHERN HOME'

A cultivar Southern Home foi lançado em 1994 por J. Mortenson, J. Harris, D. Hopkins e P. Anderson da Universidade da Flórida. A videira 'Southern Home' (*Vitis rotundifolia* Michx., *V. munsoniana* Simpson ex Munson, *V. popenoei* Fennell, *V. vinifera* L.) foi selecionada do cruzamento entre 'Summit' x P9-15 pela primeira vez em 1979, devido ao seu padrão de folhas, frutos únicos, resistência a doenças e pelo seu excelente vigor (MORTENSEN et al., 1994).

A 'Southern Home' é um híbrido interespecífico entre as espécies do subgênero Muscadínea e Euvitis, sendo considerada umas das cultivares especiais de muscadíneas, pois o pai P9-15 é um híbrido complexo entre *V. rotundifolia*, *V. popenoei*, *V. munsoniana* e *V. vinifera* (UNIVERSITY OF GEORGIA, 2019).

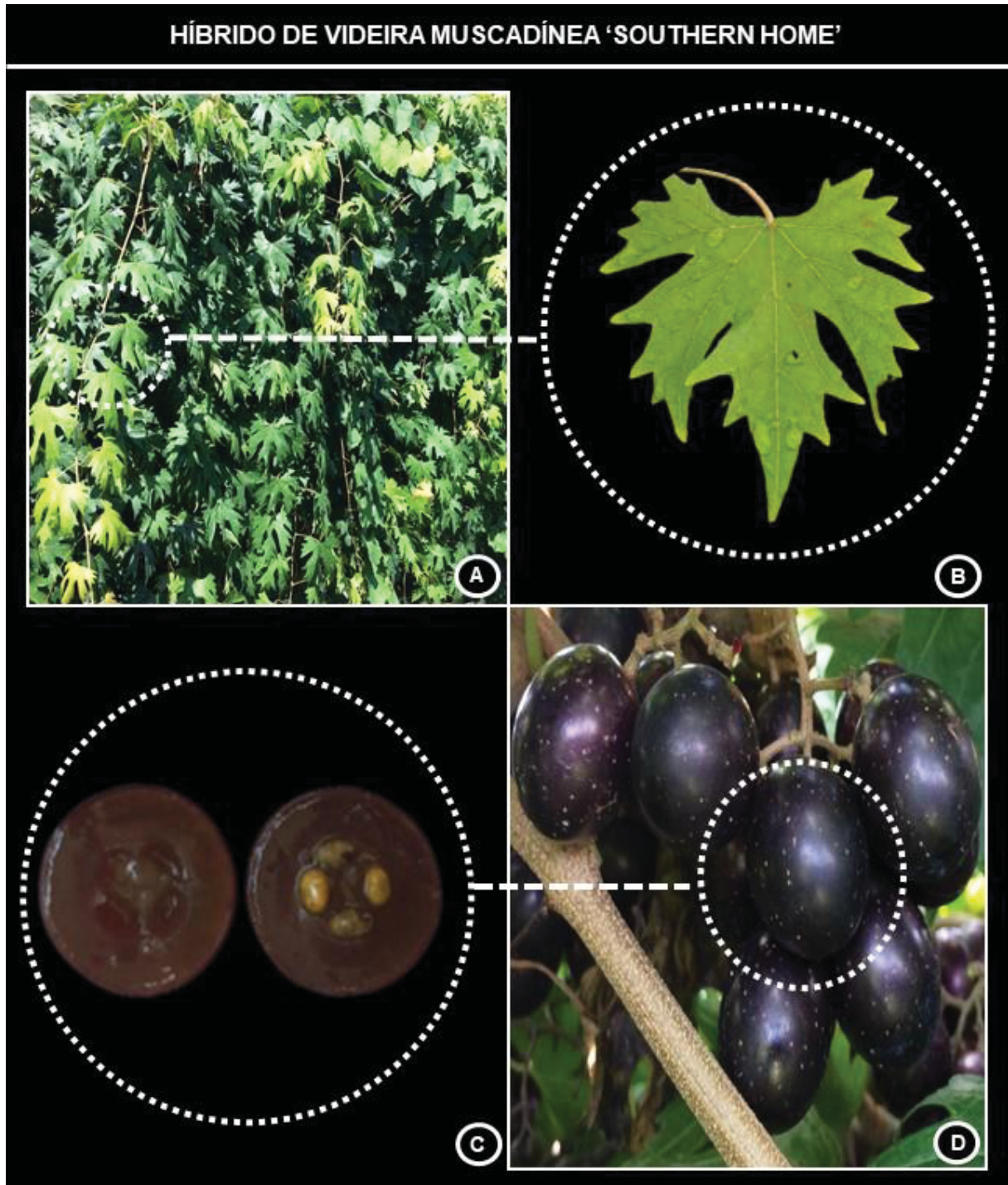
De acordo com a descrição de Mortensen et al. (1994) 'Southern Home' é uma videira de ótimo vigor, com crescimento semiereto (FIGURA 1A), possui entrenós de aproximadamente 4 a 12 cm, folhas únicas, com cerca de 10 cm de comprimento e 11 cm de largura, e com bordos bem recortados em forma convexa (FIGURA 1B). A superfície abaxial das folhas é verde clara e a superfície adaxial possui coloração verde escura, já suas flores são perfeitas e se encontram no quarto e quinto nós, os cachos são soltos (FIGURA 1D), com aproximadamente 12,2 bagas por cacho.

As bagas são ovaladas e com baixo peso, possuem coloração escura (preto-azulado) (FIGURA 1C) e apresentam uma das maiores concentrações de sólidos solúveis e de antocianinas em comparação com as demais videiras de coloração negra (MORTENSEN et al., 1994; STRIEGLER et al., 2005). Os pigmentos das bagas possuem maior estabilidade, o que é ideal para a indústria de processados (CONNER, 2010). E, diferentemente da maioria das muscadíneas, os cachos da videira 'Southern Home' possuem um amadurecimento uniforme de bagas (STRIEGLER et al., 2005).

A cultivar 'Southern Home' foi primeiramente lançada para cultivo a campo, devido à alta resistência/tolerância a pragas e doenças (COMPTON; GRAY, 1994; MORTENSEN et al., 1994; STRIEGLER et al., 2005; CONNER, 2010). Sendo ligeiramente imune à antracnose (*Elsinoe ampelina*), ao míldio (*Plasmopara viticola*),

e fortemente resistente às podridões (madura, amarga, negra) e à doença de Pierce (*Xylella fastidiosa*) (COMPTON; GRAY, 1994; CONNER, 2010).

FIGURA 1 - ILUSTRAÇÃO DO HÁBITO DE CRESCIMENTO (A), FORMATO DE FOLHAS (B), FORMATO DE BAGAS (C) E FRUTIFICAÇÃO (D) DA VIDEIRA MUSCADÍNEA 'SOUTHERN HOME'.



A cultivar Southern Home também é recomendada para fins ornamentais, uma vez que possui alto vigor e suas folhas possuem bordos bem recortados (profundos), muito semelhante às folhas de carvalho (MORTENSEN et al., 1994; CONNER, 2010).

Trazendo desta forma beleza ornamental aos ambientes, podendo ser cultivada em jardins, mandris, ao entorno de pátios, casas e até mesmo como cercas vivas.

Dentre as vantagens do cultivo dessa videira podem-se destacar: alto potencial de ornamentação, alta resistência a doenças, flores perfeitas, não necessita de plantas polinizadoras, amadurecimento uniforme das bagas nos cachos e bagas com alta concentração de sólidos solúveis e antocianinas (MORTENSEN et al., 1994; STRIEGLER et al., 2005).

2.4 MICROPROPAGAÇÃO

O cultivo *in vitro* permite que células, tecidos e diferentes órgãos de plantas desenvolvam-se em um meio de cultura totalmente nutritivo em condições assépticas, com fotoperíodo e temperatura controlada (CARVALHO et al., 2006).

A micropropagação de plantas é uma técnica de propagação vegetativa *in vitro*. Essa técnica consiste na remoção e no isolamento de um tecido vegetativo de uma planta matriz e seu cultivo em um meio de cultura nutritivo e em condições controladas para seu desenvolvimento (FARIA et al., 2020). Esta técnica tem como principal objetivo manter explantes sempre saudáveis, livres de contaminação, além de permitir a preservação efetiva de germoplasmas de interesse (CABRAL et al., 2003). Além do mais, a micropropagação proporciona rápida propagação de genótipos em um curto espaço de tempo e ambiente (LEITZKE et al., 2009; ILCZUK; JACYGRAD, 2016).

Esta técnica tem como base o conceito de totipotência, ou seja, a capacidade das células de qualquer tecido vegetal de se transformarem em uma planta totalmente nova e perfeita (DOGAN, 2019). Essa técnica permite a produção constante de mudas ao longo de todo ano, podendo ser usada em espécies consideradas fáceis e difíceis de propagação (ILCZUK; JACYGRAD, 2016). Em contrapartida, a propagação vegetativa convencional (estaquia e enxertia) permite a produção de mudas restrita apenas a alguns meses do ano e somente para espécies consideradas de fácil propagação. Nas técnicas convencionais as plantas podem estar mais suscetíveis a pragas e doenças (ALI et al., 2017).

O sucesso da cultura *in vitro* depende do genótipo, das condições fisiológicas das plantas doadoras de propágulos, do tipo e tamanho do explante, composição do meio de cultura, agentes gelificantes, concentrações de sais minerais, concentração

e tipo de reguladores vegetais, métodos de desinfestação dos explantes, recipiente de cultivo, intensidade e qualidade da luz, ambiente de cultivo, temperatura e umidade (IBAÑES et al., 2005; YERBOLOVA et al., 2013; SAN PEDRO et al., 2017; SCHUCHOVSKI; BIASI, 2019).

Vários são os entraves que impedem a expansão das técnicas de micropropagação em todo o mundo e dentre estes, podemos citar: elevado custo de produção decorrente da tecnologia utilizada, falta de profissionais qualificados e a possibilidade de ocorrência de variação somaclonal, que é fortemente indesejável quando se busca multiplicar genótipos superiores (BANILAS; KORKAS, 2007).

No cultivo *in vitro* de videiras a micropropagação tem demonstrado alta efetividade e vários são os protocolos que já foram criados para as diferentes espécies, cultivares e híbridos. A existência de um elevado número de protocolos de micropropagação de videiras é decorrente da alta variabilidade de genótipos existentes de *Vitis*. Haja visto, cada genótipo possui características específicas que permitem emitir uma resposta diferente aos mesmos estímulos que lhes foram proporcionados (AMIRI et al., 2019).

De modo geral, a micropropagação da videira é muito usada para obter rápida multiplicação de plantas, propagar novos híbridos, obter plantas matrizes sadias e para conservação/manutenção de germoplasmas (VILLA et al., 2011; ALI et al., 2017; YANCHEVA et al., 2018; AMIRI et al., 2019).

2.5 ETAPAS DA MICROPROPAGAÇÃO

A micropropagação de acordo com Heloir et al. (1997), consiste em cinco principais etapas: 1) escolha do tipo de explante; 2) estabelecimento *in vitro*; 3) indução de brotações; 4) enraizamento; e 5) aclimatização de plantas.

2.5.1 Escolha do tipo de explante

É fundamental a escolha do tipo de explante a ser utilizado na micropropagação; pois os explantes estão diretamente ligados aos processos de organogênese, ou seja, à capacidade de produzir novas células a partir de um tecido (FARIA et al., 2020).

Na escolha do explante deve sempre se considerar o grau de diferenciação do tecido a ser utilizado e o propósito da micropropagação (BASSAN et al., 2006). No entanto, é recomendado escolher explantes que possuam tecidos fisiologicamente ativos, isto é, em estágio primário de crescimento (OLIVEIRA et al., 2013).

O uso de segmentos nodais consiste basicamente na regeneração das plantas por meio do crescimento e da proliferação de gemas vegetativas axilares já existentes. Esses segmentos são inoculados em um meio de cultura nutritivo, em condições totalmente assépticas, os quais são induzidos a brotar. Uma vez efetiva a brotação das gemas, elas são isoladas e manipuladas como microestacas (explantes) (BASSAN et al., 2006).

Galzy (1961) foi a primeira a ter grande sucesso na propagação *in vitro* das videiras. Em seus experimentos, a autora trabalhou com segmentos nodais em meios de cultura sem reguladores vegetais.

2.5.2 Estabelecimento *in vitro*

O estabelecimento *in vitro* é uma das etapas mais críticas dentro da micropropagação. Nessa etapa os explantes terão que adaptar às novas condições de cultivo, sendo estas totalmente diferentes das suas condições iniciais. O estabelecimento *in vitro* inicia com a escolha do explante e termina quando este explante está totalmente adaptado às condições *in vitro* (GRATTAPAGLIA; MACHADO, 1990).

A alta ocorrência de contaminação por microrganismos exógenos e endógenos é o que torna o estabelecimento *in vitro* tão complicado, principalmente quando a planta fornecedora de explantes está instalada no campo. O estado fisiológico da planta doadora de propágulos para o cultivo *in vitro* tem grande influência no sucesso e na resposta das técnicas de cultivo (IBAÑES et al., 2005).

O sucesso do estabelecimento das plantas *in vitro* depende das condições fisiológicas das plantas matrizes, do processo de desinfestação do material vegetal, da escolha do explante, da composição do meio de cultura e das condições de crescimento, como: temperatura, fotoperíodo e umidade (GOLLE et al., 2012; OLIVEIRA et al., 2013).

2.5.3 Indução de brotação

O principal objetivo da indução de brotação é produzir o maior número de brotações e gemas por plantas no menor tempo possível de cultivo e com baixa ocorrência de variação genética (OLIVEIRA et al., 2013).

A frequência dos subcultivos, tipo e tamanho dos explantes, uso de reguladores vegetais e o meio nutritivo afetam diretamente o bom desenvolvimento das culturas *in vitro* na indução de brotação (OLIVEIRA et al., 2013; LEMES et al., 2016; FARIA et al., 2020).

A etapa de indução de brotação pode ser aumentada por meio do uso dos reguladores vegetais do grupo das citocininas (PAIVA; ALOUFA, 2009; AAZAMI et al., 2010; KHAN et al., 2015). As citocininas promovem o crescimento e desenvolvimento das plantas, estimulam a divisão celular e regulam a síntese de proteínas, principalmente as que estão ligadas as fibras do fuso mitótico (GOELZER et al., 2019). As citocininas também estimulam o crescimento das células e retardam a senescência (ECCO et al., 2019). Além do mais, as citocininas participam na mobilização de nutrientes, superam a dominância apical e quebram a dormência de gemas (SILVA et al., 2020).

As citocininas mais usadas na micropropagação são: BAP (6-benzilaminopurina), CIN (cinetina), 2iP (N⁶-D²- isopentenil adenina), TDZ (thiadiazurom (N-fenil-N-1,2,3-tidiazol-5-tiuréia)), ZEA (zeatina) entre outras (CASTRO et al., 2007). A concentração e o tipo de citocinina a ser usada na cultura *in vitro* vai depender dos objetivos da micropropagação e varia de acordo com os genótipos (DZAZIO et al., 2002; VILLA et al., 2011).

Na micropropagação das videiras, BAP é a citocinina mais utilizada. Dzazio et al. (2002) observaram que a utilização de BAP promoveu a maior indução de brotações no porta-enxerto de videira '420-A', contudo, não houve diferença significativa entre as concentrações de 1 a 10 µM de BAP. Corroborando com esses resultados, Poudel et al. (2005) trabalhando com duas espécies de videira (*Vitis ficifolia* var. Ganebu e *Vitis vinifera* L.) obtiveram maior indução de brotações (3,8 e 3,1 brotações/explantes respectivamente) na concentração de 10 µM de BAP.

Para Machado et al. (2006), o BAP foi mais eficiente na multiplicação *in vitro* do porta enxerto de videira 'VR043-43' do que a CIN, e as concentrações de 5 e 10 µM de BAP proporcionaram a maior indução de brotações, sendo que a emissão

máxima de brotos (7,0 brotações por explantes) foi alcançada no terceiro subcultivo, com a concentração de 10 µM de BAP. Por outro lado, Colleto et al. (2008) observaram que a utilização de 0,5; 1 e 2,5 µM de BAP garantiram a maior indução de brotações do porta-enxerto de videira Paulsen 1103.

Kwon et al. (2019) trabalhando com a *Vitis amurensis* 'Cheongsan' também verificaram que BAP promoveu a maior indução de brotações, haja vista que o maior número de brotos e de nós por explante foi observado nos meios de cultura acrescidos de 5,0 µM BAP (1,96 brotos e 6,42 nós por explante, respectivamente).

Dessa forma, percebe-se que a concentração e o tipo de citocininas no meio de cultivo deve ser adequada para cada genótipo de videira em estudo (DZAZIO et al., 2002; IBAÑEZ et al., 2005; POUDEL et al., 2005; AAZAMI, 2010; MOZAFARI et al., 2016).

2.5.4 Enraizamento

O enraizamento é uma das etapas essenciais no protocolo de micropropagação de plantas. No entanto, é uma das mais complicadas, uma vez que o sucesso dela irá determinar a sobrevivência das mudas na aclimatização (ROCHA et al., 2008).

Na micropropagação, o enraizamento das plantas pode ser realizado em um ambiente *in vitro* ou *ex vitro*. A escolha de um sistema de enraizamento vai depender do genótipo em estudo, da qualidade das mudas, da composição do meio de cultura/substrato e da infraestrutura disponibilizada para tal processo (OLIVEIRA et al., 2013).

No enraizamento *in vitro*, a indução de raízes ocorre em um ambiente totalmente asséptico, utilizando um meio de cultura nutritivo, com fotoperíodo, temperatura, umidade e reguladores vegetais. Nesse enraizamento é possível ter um maior controle de todos os fatores que podem interferir no desenvolvimento de raízes (LEITZKE et al., 2009). Neste sistema há formação de raízes mais curtas o que as tornam mais adequadas para as próximas etapas (GRATTAPLAGIA; MACHADO, 1990).

No enraizamento *ex vitro*, as mudas obtidas do cultivo *in vitro* são diretamente enraizadas em um substrato apropriado. Este substrato pode ser de origem comercial, como os formulados para hortaliças e flores, ou pode ser um substrato a base de

casca de *Pinus* sp., fibras de coco, vermiculita, areia etc. (OLIVEIRA et al., 2013). O enraizamento *ex vitro* permite um sistema radicial de qualidade, funcional e adequado do ponto de vista morfogênico. O enraizamento *ex vitro* é uma das alternativas de redução de custos e de tempo na micropropagação das plantas.

A capacidade de indução de raízes nos tecidos vegetais cultivados *in vitro* e *ex vitro* vai depender de múltiplos fatores endógenos e exógenos relacionados com os explantes, dentre estes fatores destacamos: o genótipo, a presença de barreiras anatômicas e o uso de reguladores vegetais (ROCHA et al., 2008). As auxinas são os principais reguladores vegetais que aumentam o enraizamento nessa etapa (AGIELLO-KUBIEC et al., 2021).

As auxinas em nível celular das plantas atuam nos processos de divisão, alongamento e diferenciação celular (GARAY-ARROYO et al., 2014). As auxinas promovem a divisão celular em culturas de calo, promovem a produção de raízes adventícias nos tecidos como folhas e caules recém cortados (PÁDUA et al., 2017; CORTES et al., 2019).

Dentre os principais reguladores vegetais somente as auxinas estimulam o aumento da formação de primórdios radiciais, principalmente em tecidos que apresentam uma leve predisposição para o enraizamento (HAISSIG, 1972; HARTMANN, 2002; TAIZ; ZEIGER, 2017).

Os locais de maior síntese de auxinas são os que possuem crescimento ativo, como: meristema apical do caule, gemas laterais e axilares, folhas jovens e em meristemas das raízes (TAIZ; ZEIGER, 2017). O excesso de auxinas no meio de cultura favorece a formação de calo na base dos explante, o que compromete a rizogênese e pode dificultar o crescimento da parte aérea das plantas (RADMANN et al., 2002).

O uso de auxinas na cultura de tecidos proporciona maior velocidade, qualidade e uniformidade de enraizamento (HARTMANN, 2002). Sendo que, as principais auxinas utilizadas na cultura de tecidos são: (IAA) ácido 3-indol-acético, (IBA) ácido indol-butírico e (NAA) ácido α - ácido naftaleno acético (CORTES et al., 2019).

As auxinas mais utilizadas na micropropagação das videiras são: IBA (HELOIR et al. 1997; BARRETO e NOOKARAJU, 2007; JASKANI et al. 2008; TARINEJAD e AMIRI, 2019), seguido de NAA (SAJID et al. 2006; ABIDO et al. 2013;

KHAN et al. 2015) e IAA (MHATRE et al. 2000; MELYAN et al. 2015), em concentrações que variam de 0,2 a 5,0 μM .

2.5.5 Aclimatização

A aclimatização de plantas tem como principal função realizar a adaptação de mudas cultivadas *in vitro* em um ambiente *ex vitro*. Essa etapa é crítica, podendo ser letal às plantas. No entanto, é indispensável no processo de micropropagação de mudas.

Nessa etapa a muda que foi produzida em um ambiente totalmente homogêneo, heterotrófico e com condições físicas, químicas e biológicas totalmente favoráveis é transferida para um ambiente externo autotrófico, podendo sofrer inúmeras interferências e estar sujeita a diversos intempéries ambientais. Tal mudança brusca de ambiente deve ocorrer da forma mais gradativa possível e com todos os cuidados devidos (OLIVEIRA et al., 2013). Nesta etapa o índice de mortalidade pode ser altíssimo e inviabilizar todas as etapas anteriores quando não for realizada adequadamente (HAZARIKA, 2006).

Vários são os fatores que influenciam no bom desenvolvimento das mudas na aclimatização (MARCUIZZO et al., 2005; FERREIRA et al., 2008). Dentre esses fatores podem ser destacados: temperatura, luminosidade, tipo e composição do substrato, umidade, drenagem, irradiância e disponibilidade de nutrientes (OLIVEIRA et al., 2013).

Na aclimatização, as plantas deverão desenvolver mecanismos capazes de regular a transpiração e a condutância estomática (DÍAZ-PEREZ et al., 1995) e, quando possível, emitir novas raízes (SILVA et al., 2007).

2.6 MEIOS DE CULTURA

Os meios de cultura têm grande influência no estabelecimento e na multiplicação *in vitro* dos explantes (FARIA et al., 2020). Eles variam de espécie para espécie, entre cultivares e dentre os estádios de desenvolvimento das plantas (RODRIGUES et al., 2003).

A composição do meio de cultura interfere em muito no potencial morfogênico dos explantes (DOGAN, 2019). A escolha do melhor meio de cultura permite o

crescimento adequado e a morfogênese completa dos explantes. Os meios de cultura são compostos basicamente por: água, macro e micronutrientes, vitaminas, reguladores vegetais e substâncias gelificantes (SIMIONI et al., 2021).

O meio de cultura mais utilizado na micropropagação das videiras é o MS de Murashige e Skoog (1962), o qual é caracterizado por possuir altas concentrações de minerais em sua composição e foi primeiramente desenvolvido para o cultivo *in vitro* do tabaco (*Nicotiana* L). No entanto, para algumas espécies vegetais, principalmente as lenhosas, o MS não tem se mostrado um bom meio de cultura.

O meio Wood Plant Medium (WPM) de Lloyd e Mccown (1980) foi elaborado para propagação *in vitro* de espécies lenhosas e tem como característica principal possuir concentrações menores de minerais, principalmente quando comparado com o meio MS, possuindo somente 45 % da concentração iônica total comparado ao MS (CAMILLO et al., 2009)

O Wood Plant Medium modified (WPM modificado) de Wang et al. (2014) foi desenvolvido para propagação de mirtilo (*Vaccinium* sp.) e corresponde ao meio WPM contendo algumas alterações nas concentrações dos minerais, como: ferro, potássio, enxofre e etc. O meio de cultura DSD1 de Silva e Doazan (1995) foi elaborado especificamente para porta-enxertos de videira é caracterizado por ser um meio com menores concentrações de micronutrientes.

Por fim, o QL de Quoirin e Lepolvre (1977) foi desenvolvido para o gênero *Prunus* e tem por característica apresentar baixa concentração de nitrogênio na forma do íon amônio (4,2%), principalmente em comparação com o meio MS, que apresenta 34,4% de nitrogênio na forma de íon amônio (SANTA-CATARINA et al., 2001).

2.7 MICROPROPAGAÇÃO EM MUSCADINEAS

A micropropagação de plantas é uma técnica importante para as videiras e foi a partir da década de 80 que a micropropagação se tornou uma alternativa viável para a propagação das muscadíneas, superando desta forma as dificuldades inerentes a estas videiras (BERND et al., 2007). Um dos primeiros trabalhos com a micropropagação das muscadíneas é de Gray e Fisher (1985), o qual os autores estudaram a indução de brotação *in vitro* de várias cultivares de muscadíneas e obtiveram como resultados cinco brotações por explante inicial (ápice) para a principal muscadínea estudada, a cultivar Carlos.

Os meios de cultura frequentemente recomendados para a muscadíneas são: MS (GRAY; BENTON, 1991), MS com 50% da concentração de sais (TORREGROSA; BOUQUET, 1995), MS modificado (SUDASORNO; GOLDY, 1991; COMPTON; GRAY, 1994); WPM (BONA et al., 2007); WPM 75% da concentração de sais (THIES; GRAVES, 1992;); QL (MACHADO et al., 2007); DSD1 (BORGHEZAN et al., 2003; VILLA et al., 2011) e GALZY (BERND et al., 2006).

Em relação aos reguladores vegetais do grupo das citocininas, BAP é o mais utilizado na micropropagação *in vitro* das muscadíneas. Onde, para as cultivares Fry, Carlos e Dixie o uso de 5 a 20 μM de BAP permitiu maior número e qualidade de brotação (GRAY; BENTON, 1991).

Já Thies e Graves (1992) obtiveram sucesso na micropropagação *in vitro* das videiras muscadíneas 'Carlos', 'Doren', 'Jumbo', 'Magnolia' e 'Sterling' quando utilizaram meio de cultura WPM 75% acrescido de 0,45 μM de BA. Torregrossa e Bouquet (1995) trabalhando com diferentes híbridos de muscadíneas, encontraram a maior taxa de brotação por explante em meio MS com 50% dos nutrientes acrescidos de 4,4 μM de BAP.

Machado et al. (2006) trabalhando com o porta enxerto de videira "VR043-43" (*Vitis vinifera* x *Vitis rotundifolia*) observaram nos 4 subcultivos analisados que a concentração de BAP (5,0 e 10,0 μM) conferiram maior número de brotação, todavia estas concentrações apresentaram menor comprimento de brotação (2,0 e 1,6 cm), em comparação com a concentração de 0 e 2,5 μM de BAP os quais permitiram brotos com o comprimento médio de 3,6 cm.

Em se tratando do enraizamento das muscadíneas, primeiramente Gray e Fisher (1985) em seus estudos iniciais não conseguiram obter sucesso no enraizamento de várias cultivares de muscadíneas. Porém logo na sequência, Gray e Benton (1991) trabalhando com diferentes cultivares de muscadíneas (*Vitis rotundifolia*) alcançaram 55% de enraizamento em meio de cultura MS sem auxinas e 77% em meio de cultura com auxinas. Já Bona et al. (2007) trabalhando com as cultivares 'Higgins', 'Black Beauty', 'Scuppernong' e 'Magnolia' observaram maior taxa de enraizamento em meio de cultura sem a adição de auxina e obtiveram grande sucesso na aclimatização destas muscadíneas. Bernd et al. (2007) necessitou usar 8 μM de ácido 3 naftalenoacético (NAA) em meio de cultura Galzy para obter 100% de enraizamento.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 LOCAL DE REALIZAÇÃO DOS EXPERIMENTOS

Os experimentos *in vitro* foram conduzidos no Laboratório de Micropropagação de Plantas, a aclimatização das mudas *ex vitro* foi realizada no mesmo laboratório citado acima e também em casa de vegetação, ambos no Setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná – UFPR, Curitiba/PR.

3.2 MATERIAL VEGETAL

Para o estabelecimento *in vitro* da videira ‘Southern Home’, cinco plantas matrizes foram mantidas em vasos de 50 L contendo substrato comercial em casa de vegetação para fornecimento anual de ramos. Estas plantas matrizes foram obtidas através de estaquia semilenhosa de ramos coletados de uma planta adulta cultivada na Estação Experimental do Canguiri da UFPR, plantada em dezembro de 2016.

Ao iniciar o estabelecimento *in vitro* da videira ‘Southern Home’ foi identificado uma bactéria endógena presente nos tecidos vegetais, desta forma, amostras foram encaminhadas ao Laboratório de Diagnóstico Fitossanitário e Consultoria – Agrônômica – em Porto Alegre-RS, onde, por meio de análises biológicas, bioquímicas e moleculares, pelo sequenciamento da região do DNAr 16S pelos primers Bac-8F/Bac-1492R, identificaram a bactéria como sendo *Luteibacter* sp. ou *Luteibacter rhizovicinus* (ANEXO 1).

O controle da contaminação endofítica em meio de cultura foi através do antibiótico de amplo espectro (gram-positivos e gram-negativos) Cetazima® (cefotaxima sódica). Esse antibiótico foi esterilizado utilizando-se filtro de acetato de celulose da marca Sartorius®, com poros de diâmetro de 0,22 µm em Sterifil Aseptic System, marca Millipore®. A concentração utilizada em meio de cultivo foi de 200 mg L⁻¹, de acordo com Donato et al. (2005).

Após o estabelecimento *in vitro* as plantas foram subcultivada por 55 dias em meio WPM modificado acrescido de 200 mg L⁻¹ do antibiótico Cetazima®, na sequencia foram transferidos para o meio WPM modificado, livre de reguladores

vegetais e antibióticos, servindo desta forma de fonte de novos explantes para os experimentos de indução de brotação e de enraizamento *in vitro*.

3.3 MEIO DE CULTURA

A composição química dos meios de cultura (MS, DSD1, WPM, WPM modificado e QL) estão descritos na TABELA 1. Antes da inclusão do ágar (6 g L⁻¹), o pH dos meios de cultura foi ajustado para 5,8 com hidróxido de sódio (NaOH) ou ácido clorídrico (HCl) a 0,1 N. Os meios de cultura foram esterilizados em autoclave por 20 minutos, com temperatura de 120°C e pressão de 1,0 atm.

TABELA 1 – COMPOSIÇÃO QUÍMICA DOS MEIOS DE CULTURA TESTADOS NA MICROPROPAGAÇÃO DO HÍBRIDO DE VIDEIRA 'SOUTHERN HOME'.

COMPONENTES	DSD1 ¹	MS ²	WPM ³	WPM modificado ⁴	QL ⁵
MACRONUTRIENTES			mg L⁻¹		
CaCl ₂ ·2H ₂ O	-	440	96	-	-
Ca(NO ₃) ₂ ·4H ₂ O	500	-	556	278	1200
NH ₄ NO ₃	100	1650	400	-	400
(NH ₄) ₂ SO ₄	-	-	-	119	-
KNO ₃	1.000	1.900	-	893	1.800
CaCl ₂	-	-	-	-	-
KH ₂ PO ₄	100	170	170	170	270
MgSO ₄ ·7H ₂ O	180	370	370	370	360
K ₂ SO ₄	-	-	990	-	-
MICRONUTRIENTES					
MnSO ₄ ·H ₂ O	1,2	-	-	-	0,758
MnSO ₄ ·4H ₂ O	-	22,3	22,3	22,3	-
KI	-	0,83	-	0,415	0,083
NiCl ₂ ·6H ₂ O	-	-	-	-	-
Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	-	0,25	0,25	0,25	0,25
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	1	8,6	8,6	8,6	8,6
H ₃ BO ₃	1	6,2	6,2	6,2	6,2
CuSO ₄ ·5H ₂ O	0,025	0,025	0,25	0,025	0,025
CoCl ₂ ·6H ₂ O	0,025	0,025	-	-	0,025
FeEDTA					
FeSO ₄ ·7H ₂ O	27,8	27,8	27,8	55,6	27,8
Na ₂ EDTA·2H ₂ O	37,3	37,3	37,3	74,6	37,3
VITAMINAS					
Ácido nicotínico	1	0,5	0,5	0,5	0,5
Piridoxina-HCl	1	0,5	0,5	0,5	0,5
Tiamina-HCl	1	0,1	0,1	0,1	0,1
Glicina		2	2	2	2
Mioinositol	100	100	100	100	100
SACAROSE	30.000	30.000	30.000	30.000	30.000
pH	5,8	5,8	5,8	5,8	5,8

1. Silva e Doazan (1995); 2. Murashige e Skoog (1962); 3. Lloyd e McCown (1980); 4. Wang et al. (2014); 5. Quoirin e Lepoivre (1977).

Os meios de cultura foram vertidos em tubos de ensaio com dimensões 24,5 x 150 mm em todos os experimentos. E quando utilizada ZEA, IAA e/ou antibióticos no meio de cultivo, estes foram incorporados ao meio de cultivo após um processo de esterilização utilizando-se filtro de acetato de celulose da marca Sartorius®, com poros de diâmetro de 0,22 µm em Sterifil Aseptic System, marca Millipore®.

3.4 CONDIÇÕES DE CULTIVO *IN VITRO*

A sala de cultivo para manutenção das culturas era climatizada com sistema automático de controle de temperatura e fotoperíodo. A temperatura foi mantida a 25°C ± 2°C, com fotoperíodo de 16 horas de claro e 8 horas de escuro e fornecimento de iluminação tipo luz do dia, utilizando lâmpadas CorePro LEDtube 1200mm HO 18W840 C W G Marca Philips®, com intensidade de luz de 25,38 µmol m⁻² s⁻¹.

3.5 ETAPAS DA MICROPROPAGAÇÃO

3.5.1 Estabelecimento *in vitro*

Com a finalidade de testar diferentes meios de cultivo no estabelecimento *in vitro* da videira 'Southern Home', foi montado um experimento utilizando brotações de ramos de plantas matrizes cultivadas em casa de vegetação (Item 3.2).

Os ramos foram padronizados em estacas de 20 cm de comprimento e imersos em fungicida Cercobim® a 2,5 g L⁻¹, em seguida procedeu-se a tríplice lavagem em água deionizada autoclavada. Posteriormente as estacas foram enroladas em papel úmido (FIGURA 2A) e acondicionadas em refrigeração (4 a 6° C) para o acúmulo de horas frio.

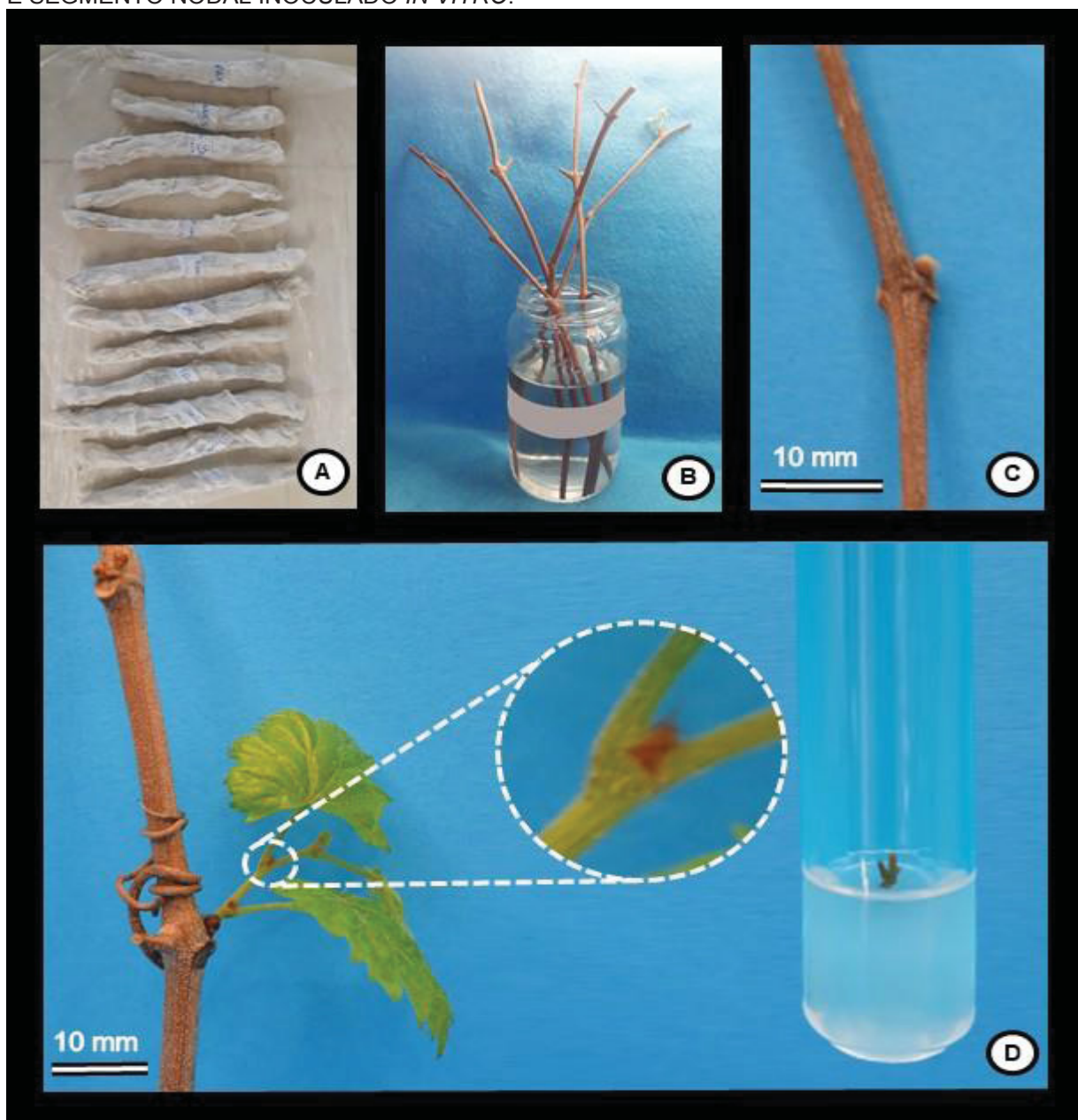
Após 1.000 horas de frio, a porção basal das estacas foram colocadas em frascos de vidro contendo 60 ml de água e acondicionadas em sala de cultivo para o desenvolvimento das brotações (FIGURA 2B).

Após a emissão e o crescimento das brotações, estas foram coletadas e desinfestadas. O processo de desinfestação consistiu em deixar as brotações imersas em fungicida Cercobim® (1,5 g L⁻¹) durante 10 minutos, em etanol (70%) por 1 minuto

e em hipoclorito de sódio (2,5%) acrescido de Tween-20 (0,2%) por 10 minutos e finalizado com a tríplice lavagem com água deionizada estéril.

Após a desinfestação as brotações foram seccionadas em segmentos nodais de 7 mm de comprimento com uma gema axilar e sem folhas (FIGURA 2D). Os explantes foram inoculados individualmente em tubos de ensaio contendo 10 mL de meio de cultura (MS, QL, WPM, WPM modificado e DSD1) (TABELA 1), acrescido de $1 \mu\text{M}$ de BAP e $0,02 \mu\text{M}$ de NAA.

FIGURA 2 – ESTABELECIMENTO *IN VITRO* DO HÍBRIDO DE VIDEIRA 'SOUTHERN HOME', A - ESTACAS ENROLADAS EM PAPEL ÚMIDO APÓS A DESINFESTAÇÃO; B - ESTACAS IMERSAS EM ÁGUA EM SALA DE CRESCIMENTO; C - GEMA EM DESENVOLVIMENTO; D - GEMA BROTADA E SEGMENTO NODAL INOCULADO *IN VITRO*.



Os tubos foram vedados com tampa de polipropileno envoltos com plástico filme e acondicionados em sala de cultivo na ausência de luz durante três dias, a fim de reduzir a foto-oxidação dos tecidos vegetais. Em seguida, foi fornecida iluminação tipo luz do dia de 16 horas de claro, utilizando lâmpadas CorePro LEDtube, com intensidade de luz de $25,38 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

Esse experimento foi realizado em 2019 e repetido em 2020 e o delineamento experimental foi inteiramente ao acaso, com cinco tratamentos, quatro repetições e 10 explantes em cada parcela, sendo um explante em cada tubo.

A avaliação ocorreu após 30 dias da inoculação *in vitro* e as variáveis analisadas foram: porcentagem de sobrevivência dos explantes iniciais, porcentagem de brotação, qualidade de brotação, comprimento de brotação e número de gemas por brotação (Item 3.6).

3.5.2 Indução de Brotações

3.5.2.1 Efeitos dos meios de cultura

Com o objetivo de determinar o melhor meio de cultura para indução das brotação, segmentos nodais de 7 mm com uma gema e uma folha foram inoculados individualmente em tubos de ensaio com 10 mL dos meios de cultura (MS, QL, WPM, WPM modificado e DSD1), acrescidos de $1 \mu\text{M}$ de BAP. Os segmentos nodais foram obtidos de plantas cultivadas anteriormente sem reguladores vegetais e antibióticos (Item 3.2). Os tubos foram vedados com tampa de polipropileno, plástico filme e em seguida acondicionados em sala de cultivo.

O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso, com cinco tratamentos, quatro repetições e 10 explantes em cada parcela, sendo um explante em cada tubo.

Foram realizadas três subcultivos a cada 45 dias, e as variáveis analisadas foram: porcentagem de brotação, número de brotação, comprimento de brotação, número de gemas e qualidade das brotação (Item 3.6).

3.5.2.2 Efeito dos reguladores vegetais BAP e ZEA.

Neste experimento, com a finalidade de testar diferentes tipos e concentrações de citocininas na indução de brotações, segmentos nodais com uma gema, sem folhas e com 7 mm de comprimento oriundos do cultivo em meio de cultura WPM modificado

sem reguladores e antibióticos (Item 3.2) foram inoculados em tubos de ensaio contendo 10 mL de WPM modificado com os seguintes tratamentos (T): T₁ (0 µM BAP); T₂ (1 µM BAP); T₃ (2,5 µM BAP); T₄ (5,0 µM BAP); T₅ (0 µM ZEA); T₆ (1,0 µM ZEA); T₇ (2,5 µM ZEA); T₈ (5,0 µM ZEA). Os tubos foram vedados com tampa de polipropileno e envoltos com plástico filme e acondicionados em sala de cultivo.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em arranjo fatorial 2 x 4, sendo duas citocininas (BAP e ZEA) e quatro concentrações (0; 1; 2,5; 5,0 µM), totalizando oito tratamentos com quatro repetições, sendo que a unidade experimental foi constituída por 10 explantes.

Foram realizadas três subcultivos a cada 55 dias, e as variáveis analisadas foram: porcentagem de brotação, comprimento de brotação, qualidade das brotação, sintomas de hiperhidricidade e intensidade de formação de calo (Item 3.6).

3.5.3 Enraizamento *in vitro*, aclimatização *ex vitro* em laboratório e em casa de vegetação

A fim de testar diferentes tipos e concentrações de auxinas no enraizamento *in vitro* e seus efeitos posteriores na etapa de aclimatização da videira 'Southern Home', segmentos nodais de 7 mm com uma gema e uma folha foram cultivados em tubos de ensaio contendo 10 mL de WPM modificado com os seguintes tratamentos (T): T₁ (testemunha); T₂ (0,2 µM IBA); T₃ (0,4 µM IBA); T₄ (0,8 µM IBA); T₅ (0,2 µM NAA); T₆ (0,4 µM NAA); T₇ (0,8 µM NAA); T₈ (0,2 µM IAA); T₉ (0,4 µM IAA); T₁₀ (0,8 µM IAA).

Os segmentos nodais utilizados foram obtidos de plantas cultivadas em meio de cultivo WPM modificado sem reguladores vegetais e antibióticos (Item 3.2). Os tubos foram fechados com tampa de polipropileno, plástico filme e acondicionados em sala de cultivo por 45 dias.

Após 45 dias as plantas foram lavadas em água deionizada autoclavada para retirar todo resíduo de meio de cultura, e procedeu-se a primeira avaliação. As variáveis analisadas foram: porcentagem de explantes enraizados *in vitro*, número e comprimento de raízes, porcentagem de explantes brotados, comprimento de brotação, qualidade de brotação, número de gemas e folhas por brotação (Item 3.6).

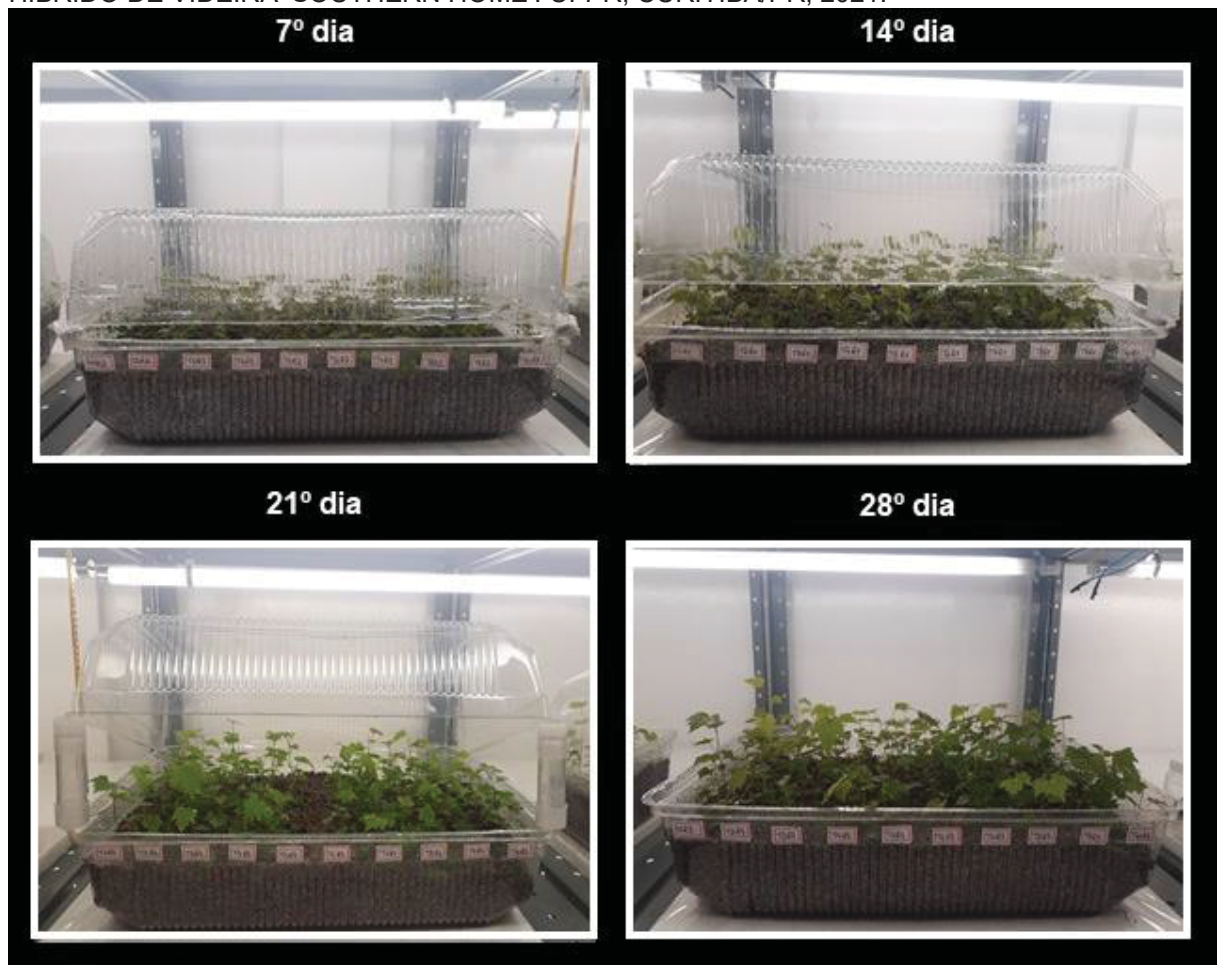
Após a avaliação das plantas enraizadas *in vitro*, estas foram transplantadas em caixas de polietileno tereftalato (PET) marca Galvanotek® com dimensões interna: 420 x 320 x 115 mm e externa: 460 x 370 x 125 mm, contendo vermiculita de

granulometria fina, estéril e previamente umedecida com água deionizada autoclavada.

Após os transplântios das mudas nas caixas PET, essas caixas foram acondicionadas em laboratório na sala de cultivo por 30 dias. Durante esse período de aclimatização em laboratório, a irrigação foi em dias alternados de forma manual e com água deionizada estéril. Para a irrigação, utilizou-se um pulverizador manual de compressão prévia de capacidade de dois litros. As aberturas das caixas foram realizadas de forma gradual ao 7º, 14º, 21º e 28º dia (FIGURA 3).

Ao final dos 30 dias, as plantas foram lavadas em água corrente e procedeu a segunda avaliação. As variáveis analisadas nesta etapa de aclimatização em laboratório foram: número e comprimento de raízes; comprimento das plantas; ganho em comprimento; qualidade das mudas; número de gemas por planta e ganho médio de gemas por mudas (Item 3.6).

FIGURA 3 – ABERTURA GRADUAL DAS CAIXAS DE CULTIVO AO 7º, 14º, 21º E 28º DIA DO HÍBRIDO DE VIDEIRA 'SOUTHERN HOME'. UFPR, CURITIBA/PR, 2021.



Após a avaliação da aclimatização das plantas no laboratório, as plantas foram transplantadas em sacos de mudas de polietileno com furos para a drenagem de água, com largura de 11 cm, altura de 18 cm e espessura do plástico de 80 micras. O substrato comercial utilizado foi o F44 classe "A" marca Agrofior® composto por: casca de pinus compostada, fibra de coco, turfa de *Sphagnum*, turfa nacional, casca de arroz e vermiculita.

Em seguida essas mudas foram acondicionadas em casa de vegetação com tela aluminet na parte interna, com um sistema de nebulização intermitente por 20 dias com rega regular com frequência de 15 segundos a cada 30 minutos durante o dia, das 08:00 às 17:00 horas e 15 segundos de rega a cada hora da noite das 17:00 às 08:00 horas. Após 20 dias foi avaliada a sobrevivência e qualidade dessas mudas na aclimatização (Item 3.6).

O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso, em esquema fatorial (3x3+1), sendo três auxinas (IAA, IBA, NAA), três concentrações (0,2; 0,4 e 0,8 μM) acrescido de um tratamento adicional (TESTEMUNHA SEM AUXINA) com quatro repetições, sendo 10 explantes/mudas por parcela.

3.6 DESCRIÇÃO DAS VARIÁVEIS ANÁLISADAS

As variáveis analisadas ao longo dos experimentos *in vitro* foram: porcentagem de sobrevivência dos explantes inoculados *in vitro*; porcentagem de brotação; número de brotação; comprimento de brotação (medição da base até o ápice do broto em centímetros); e qualidade de brotação, para qual foram atribuídas notas de 1 a 3 (FIGURA 4 e TABELA 2).

FIGURA 4 – QUALIDADE DAS BROTAÇÕES *IN VITRO* DO HÍBRIDO DE VIDEIRA ‘SOUTHERN HOME’. UFPR, CURITIBA/PR, 2021.

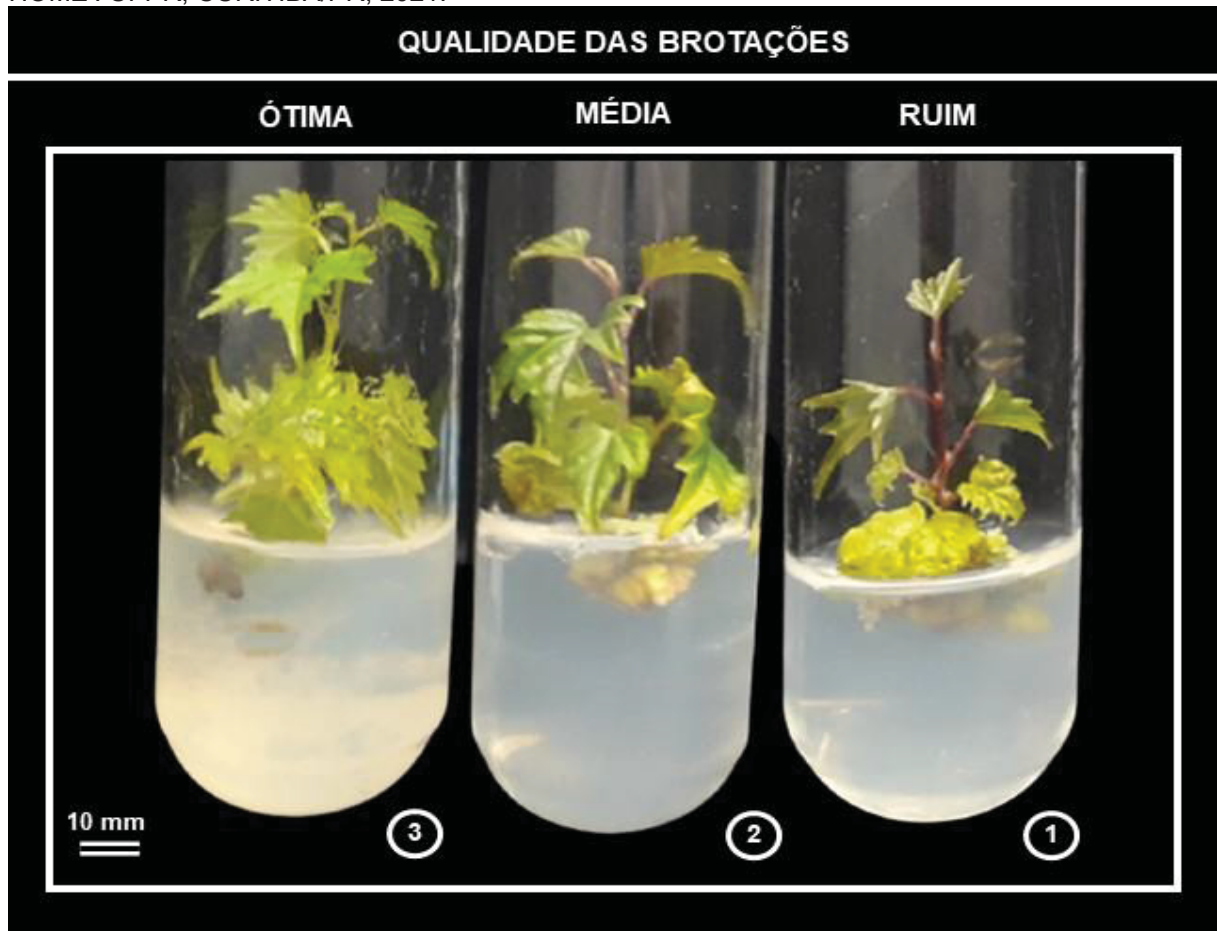


TABELA 2 – CARACTERÍSTICAS DA QUALIDADE DAS BROTAÇÕES DO HÍBRIDO DE VIDEIRA ‘SOUTHERN HOME’. UFPR, CURITIBA/PR, 2021.

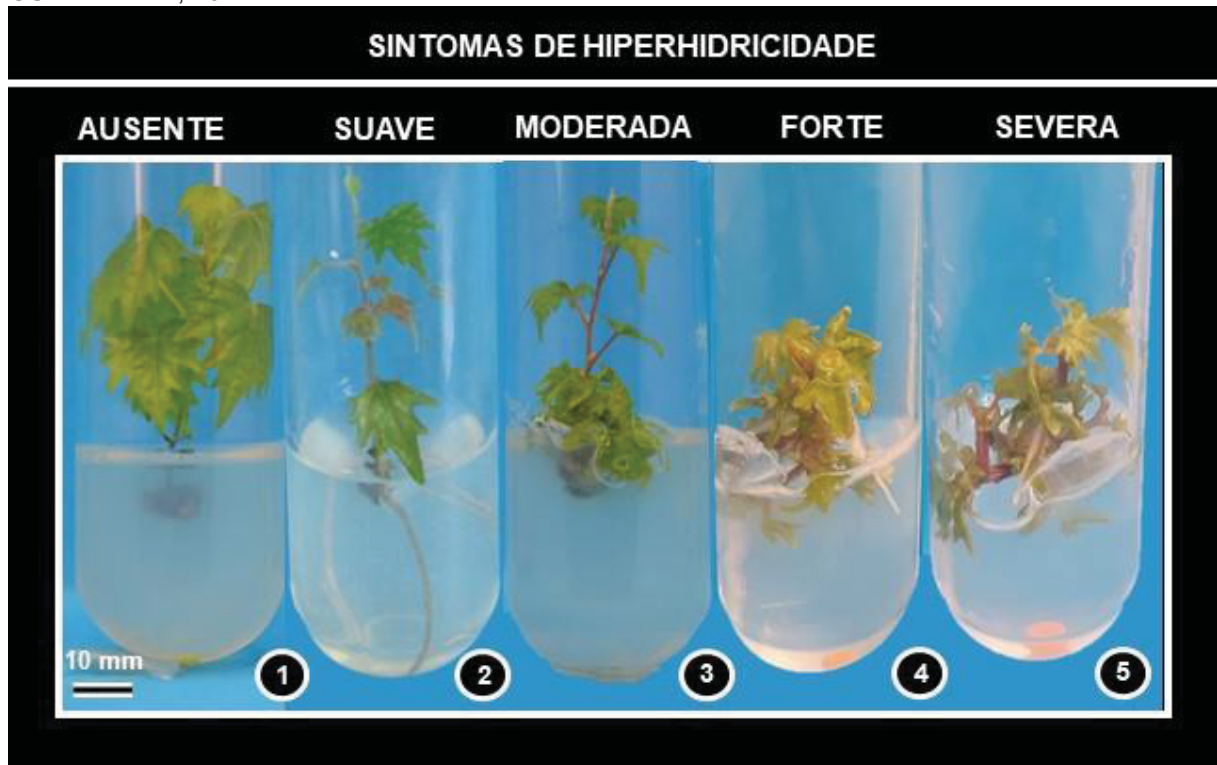
NOTA	QUALIDADE	CARACTERÍSTICAS
3	ÓTIMA	Caracterizam-se por serem brotos vigorosos, com caule de coloração esverdeado, gemas e folhas com boa formação e equidistantes ao longo da brotação, folhas sem clorose e/ou tecido morto, inexistência de tecidos vegetais quebradiços, entrenós com boa distribuição e sem presença de oxidação.
2	MÉDIA	Caracterizam-se por apresentar algum dos seguintes sintomas: folhas alongadas com bordas levemente curvadas para a face adaxial, folhas com a presença leve de algum sintoma de clorose, morte de tecidos foliares, caule levemente avermelhado.
1	RUIM	Caracterizam-se por apresentar algum dos seguintes sintomas: folhas cloróticas, principalmente na base das brotações, folhas esmaecidas/frágeis e de tamanho reduzido, maioria das folhas com bordas curvadas para a face adaxial, brotações raquíticas, brotações quebradiças e caule avermelhado.

As demais variáveis analisadas foram: número de gemas por brotação, que representa quantos novos explantes podem ser obtidos a partir do explante inicial, partindo do pressuposto que usamos um único explante com uma única gema, e aparecimento de sintoma de hiperhidricidade nas brotações, a qual foram atribuídas notas de um a cinco, onde 1=ausente, 2=suave, 3=moderada, 4=forte e 5 severa (TABELA 3 e FIGURA 5).

TABELA 3 – CARACTERÍSTICAS DOS SINTOMAS DE HIPERHIDRICIDADE NAS BROTAÇÕES DO HÍBRIDO DE VIDEIRA ‘SOUTHERN HOME’. UFPR, CURITIBA/PR, 2021.

NOTA	SINTOMAS	CARACTERÍSTICAS
1	Ausente	Brotações bem formadas, crescimento normal, caule esverdeado e fino, gemas e folhas não quebradiças, folhas bem formadas, grandes, sem sintoma vítreo, tecidos sem sintoma de acúmulo de água, folhas sem clorose e entrenós bem distribuídos ao longo do comprimento.
2	Suave	Brotações com folhas intermediárias e velhas com aspecto vítreo, translúcidas e de tamanho reduzido.
3	Moderada	Brotações com maioria das folhas com aspecto vítreo, leve encurtamento dos entrenós, intumescimento das folhas na base das brotações, folhas quebradiças, folhas velhas levemente deformadas, enrugadas na base das brotações, caule levemente avermelhado.
4	Forte	Brotações raquíticas de tamanho reduzido, encurtamento de entrenós, todas as folhas com aspecto vítreo e quebradiças, folhas alongadas, amareladas e enrugadas, caule levemente avermelhado
5	Severa	Brotações raquíticas de tamanho bem reduzido, múltiplas brotações, engrossamento exagerado do caule, folhas bem enrugadas e intumescidas, folhas pequenas e rígidas com aspecto vítreo e muito quebradiças, folhas amareladas e cloróticas, caule avermelhado e entrenós bem curtos.

FIGURA 5 - SINTOMA DE HIPERHIDRICIDADE NAS BROTAÇÕES (1=AUSENTE, 2=SUAVE, 3=MODERADA, 4=FORTE, 5=SEVERA) DO HÍBRIDO DE VIDEIRA 'SOUTHERN HOME'. UFPR, CURITIBA/PR, 2021.



Foi também avaliado a variável intensidade de formação de calo, onde se atribuiu notas de 1 a 3, onde: 1=pouca ; 2=média e 3=alta intensidade de formação de calo (FIGURA 6).

As variáveis analisadas ao longo dos experimentos *ex vitro* foram: porcentagem de sobrevivência das plantas, comprimento das plantas (medição da base até o ápice da planta em centímetros), ganho médio em crescimento (representa quantos centímetros a planta cresceu ao final dos 30 dias em condição *ex vitro*), número de gemas por planta (representa quantas gemas foram formadas a mais na planta no final dos 30 dias em condição *ex vitro*), ganho médio de gemas por planta (o qual representa quantas gemas foram formadas em condição *ex vitro*), número de folhas por planta e qualidade das plantas, a qual foram atribuídas notas de um a três, sendo: 1=baixa qualidade, 2=média qualidade e 3=ótima qualidade (TABELA 4 e FIGURA 7).

FIGURA 6 – INTENSIDADE DE FORMAÇÃO DE CALO NA VIDEIRA ‘SOUTHERN HOME’, 1=POUCA; 2=MÉDIA E 3= ALTA. UFPR, CURITIBA/PR, 2021.

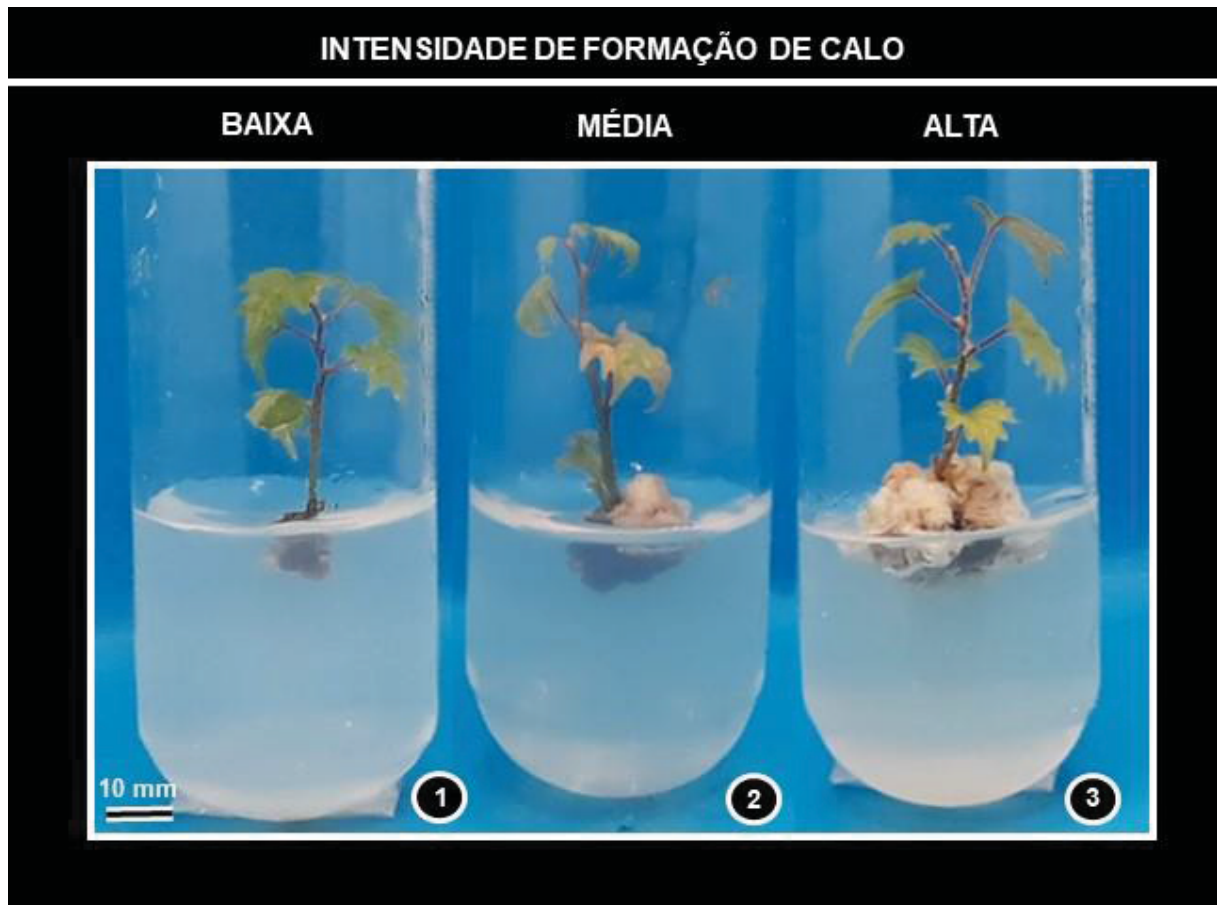
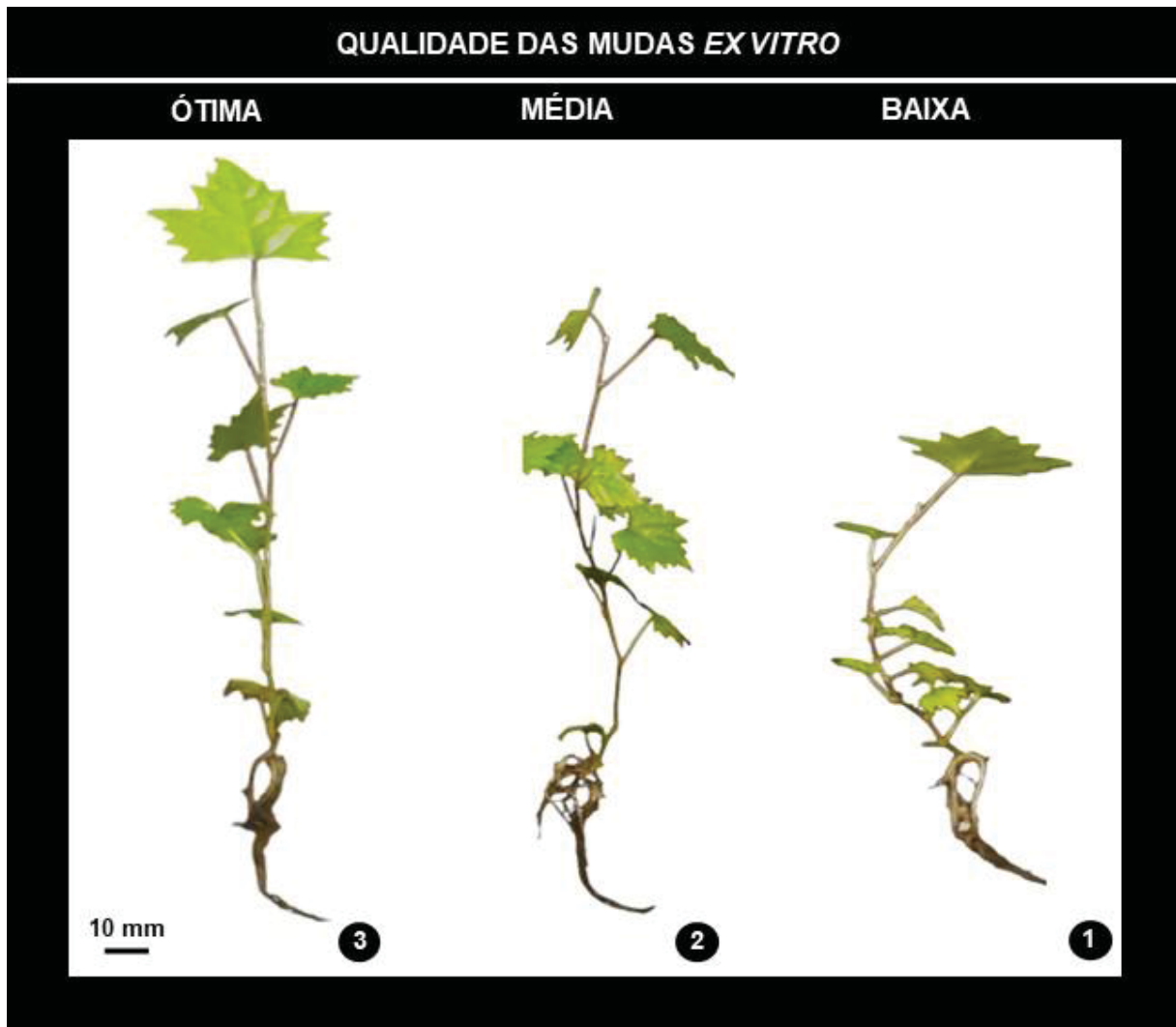


TABELA 4 – CARACTERÍSTICAS DA QUALIDADE DAS MUDAS *EX VITRO* DO HÍBRIDO DE VIDEIRA ‘SOUTHERN HOME’. UFPR, CURITIBA/PR, 2021.

NOTA	QUALIDADE	CARACTERÍSTICAS
3	ÓTIMA	Mudas bem formadas e eretas, com folhas expandidas, sem tecido vegetal necrosado, gemas e folhas equidistantes em todo o comprimento, entrenós de bom tamanho (± 1 cm) e raízes desenvolvidas.
2	MÉDIA	Mudas que apresentam alguma deformação do caule, mudas não eretas, folhas menores em comparação com a anterior, folhas com algum sintoma de clorose ou com tecido foliar morto.
1	BAIXA	Mudas frágeis, não eretas, folhas esmaecidas, folhas de tamanho reduzido, folhas com o maior índice de clorose ou tecido vegetal morto, mudas raquíticas, encurtamento de entrenós principalmente na porção basal da muda.

FIGURA 7 – QUALIDADE DAS MUDAS *EX VITRO*, 1=BAIXA, 2=MÉDIA E 3=ÓTIMA QUALIDADE DO HÍBRIDO DE VIDEIRA ‘SOUTHERN HOME’. UFPR, CURITIBA/PR, 2021.



3.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

As análises estatísticas dos experimentos de estabelecimento e de indução de brotação *in vitro* foram realizadas no software ASSISTAT Versão 7.7 pt (2017). Para o experimento de enraizamento, aclimatização em laboratório e aclimatização em casa de vegetação as análises foram realizadas no software R versão 4.0.5 utilizando o pacote ExpDes.pt.

Em todos os experimentos os dados foram submetidos ao teste de Bartlett para verificar a homogeneidade de variância, em seguida procedeu-se à análise de variância (ANOVA) e quando significativo realizou o teste de comparação de médias Tukey, ao nível de 5% de probabilidade. Para o experimento efeito dos reguladores vegetais BAP e ZEA foi realizado também a análise de regressão.

4 RESULTADOS

4.1 ESTABELECIMENTO *IN VITRO*

No primeiro ano de introdução *in vitro* da videira 'Southern Home', não houve diferença significativa entre os diferentes meios de cultura testados: MS, WPM, WPM modificado, QL e DSD1 para as variáveis: sobrevivência dos explantes e porcentagens de brotação por explante (TABELA 5).

Por outro lado, no segundo ano de introdução *in vitro* houve diferença significativa entre os meios de cultura testados para as variáveis sobrevivência e porcentagem de brotação por explante (TABELA 5). Onde os explantes cultivados no meio WPM modificado apresentaram a maior porcentagem de sobrevivência (75,00 %) diferindo estatisticamente do meio WPM, que apresentou a menor taxa de sobrevivência dos explantes (42,50%) (TABELA 5).

A porcentagem de brotação no primeiro ano de introdução *in vitro* variou de 32,50% a 57,50%. No segundo ano de introdução, os explantes cultivados no meio WPM modificado apresentaram maior porcentagem de brotação (57,50%), diferindo estatisticamente do WPM que apresentou a menor porcentagem (30,00%) (TABELA 5).

TABELA 5 – SOBREVIVÊNCIA E PORCENTAGEM DE BROTAÇÃO EM DIFERENTES MEIOS DE CULTURA NO ESTABELECIMENTO *IN VITRO* DA VIDEIRA 'SOUTHERN HOME'. UFPR, CURITIBA/PR, 2021.

TRATAMENTO	Sobrevivência dos explantes (%)		Porcentagem de brotação dos explantes (%)	
	1º Ano	2º Ano	1º Ano	2º Ano
MS	60,00	52,50 ab	47,50	32,50 ab
WPM	52,50	42,50 b	47,50	30,00 b
WPM modificado	72,50	75,00 a	57,50	57,50 a
DSD1	52,50	57,50 ab	50,00	47,50 ab
QL	55,00	50,00 ab	32,50	42,50 ab
Valor de F	1,68 ns	3,26 *	2,15 ns	3,60 *
CV%	22,18	24,29	26,35	28,17

* Médias seguidas pela mesma letra da coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey, com 5% de probabilidade.

Para as variáveis qualidade de brotação, comprimento de brotação e número de gemas por brotação não houve diferença significativa entre os meios de cultura testados no primeiro ano de estabelecimento *in vitro* (TABELA 6). Nesse primeiro ano

a qualidade da brotação variou entre 1,66 a 2,44, o comprimento da brotação variou de 0,91 a 1,65 cm e o número de gemas por brotação variou entre 2,52 a 3,33 gemas/brotção (TABELA 6).

No segundo ano de estabelecimento *in vitro*, houve diferença significativa entre os meios de cultura testados, tanto para a variável qualidade de brotação como para a variável número de gemas por brotação (TABELA 6). Onde os explantes cultivados no meio WPM modificado apresentaram maior qualidade de brotação, com nota atribuída de 2,40 diferindo estatisticamente do WPM e DSD1 os quais proporcionaram brotos de qualidade ruim, com notas 1,45 e 1,52, respectivamente (TABELA 6).

Em relação ao número médio de gemas por explantes no segundo ano de estabelecimento *in vitro*, o meio de cultura QL proporcionou o maior número de gemas por brotação (4,40 gemas/brotção), diferindo estatisticamente do WPM, o qual proporcionou o menor número de gemas (2,75 gemas/brotção) (TABELA 6).

Não houve diferença significativa entre os meios testados na variável comprimento de brotação no segundo ano de estabelecimento *in vitro*, e o comprimento variou entre 1,15 a 2,10 cm (TABELA 6).

TABELA 6 – QUALIDADE, COMPRIMENTO E NÚMERO DE GEMAS POR BROTAÇÃO EM DIFERENTES MEIOS DE CULTURA NO ESTABELECIMENTO *IN VITRO* DA VIDEIRA ‘SOUTHERN HOME’. UFPR, CURITIBA/PR, 2021.

TRATAMENTO	Qualidade das Brotações (1. Ruim; 2. Boa; 3. Ótima) (nota)		Comprimento de brotação por explante (cm)		Número de gemas por brotação	
	1º Ano	2º Ano	1º Ano	2º Ano	1º Ano	2º Ano
MS	1,66	1,90 ab	1,32	1,65	2,61	4,15 ab
WPM	1,70	1,45 b	0,91	1,15	2,52	2,75 b
WPM modificado	2,44	2,40 a	1,17	1,17	3,33	3,10 ab
DSD1	2,15	1,52 b	1,32	1,42	3,26	4,02 ab
QL	2,15	1,92 ab	1,65	2,10	3,31	4,40 a
Valor de F	3,42^{ns}	4,18[*]	2,95^{ns}	2,52^{ns}	2,67^{ns}	4,43[*]
CV%	17,78	20,16	24,44	32,91	16,55	18,5

* Médias seguidas pela mesma letra da coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey, com 5% de probabilidade.

4.2 INDUÇÃO DE BROTAÇÃO

4.2.1 Efeito dos meios de cultura

Nos três subcultivos analisados houve diferença significativa entre os meios de cultura testados na variável porcentagem de brotação (TABELA 7).

No primeiro e segundo subcultivo os explantes cultivados no meio WPM modificado apresentaram 100% de brotação. Por outro lado, no primeiro subcultivo os explantes cultivados no DSD1 apresentaram a menor porcentagem de brotação dos explantes (84%) e, no segundo subcultivo, os explantes cultivados no MS foram os que apresentaram a menor porcentagem de brotação (82%) (TABELA 7).

No terceiro subcultivo, os meios de cultura WPM, WPM modificado, DSD1 e QL apresentaram as maiores porcentagens de brotações sendo 98% nos meios WPM e WPM modificado e 96% nos meios DSD1 e QL. Por outro lado, os explantes cultivados no meio MS apresentaram a menor porcentagem de brotação (78%). Foi possível observar que a cada novo subcultivo o meio de cultura MS, que é o meio de cultura mais utilizado na micropropagação de plantas, apresentou redução de brotação ao longo dos subcultivos (94%; 82%; e 78%, respectivamente) (TABELA 7).

Em relação à variável número de brotação nos três subcultivos analisados, não houve diferença significativa entre os diferentes meios de cultura testados, e o número de brotação variou de 1,00 a 1,16 brotação por explantes (TABELA 7).

TABELA 7 – PORCENTAGEM E NÚMERO DE BROTAÇÃO EM DIFERENTES MEIOS DE CULTURA NA INDUÇÃO DE BROTAÇÃO DA VIDEIRA 'SOUTHERN HOME'. UFPR, CURITIBA/PR, 2021.

TRATAMENTO	Porcentagem de brotação (%)			Número de brotação por explante		
	1º Subcultivo	2º Subcultivo	3º Subcultivo	1º Subcultivo	2º Subcultivo	3º Subcultivo
DSD1	84 b	96 ab	96 a	1,02	1,08	1,00
WPM modificado	100 a	100 a	98 a	1,00	1,16	1,02
WPM	98 ab	92 ab	98 a	1,00	1,04	1,00
QL	96 ab	96 ab	96 a	1,00	1,04	1,02
MS	94 ab	82 b	78 b	1,00	1,02	1,00
Valor de F	3,12 *	3,37 *	4,94 **	1,00^{ns}	2,78^{ns}	0,75^{ns}
CV%	8,34	8,98	9,23	1,99	7,01	2,81

* Médias seguidas pela mesma letra da coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey, com 5 % de probabilidade.

** Médias seguidas pela mesma letra da coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey, com 1 % de probabilidade.

ns Não significativo.

Em se tratando do comprimento de brotação e do número de gemas nos três subcultivos analisados, houve diferença significativa entre os meios de cultura testados (TABELA 8). E, em todos os subcultivos analisados os explantes cultivados no meio de cultura WPM apresentaram o maior comprimento de brotação, apresentando brotações com 3,43 cm no primeiro subcultivo, 5,44 cm no segundo e 7,86 cm no terceiro subcultivo. (TABELA 8).

Por outro lado, o meio de cultura MS proporcionou o menor comprimento de brotação, sendo que no primeiro subcultivo apresentou brotação com 1,80 cm e de 3,30 cm no terceiro subcultivo. No segundo subcultivo, os meios de cultura DSD1, WPM modificado, QL e MS não diferiram entre si e apresentaram comprimento de brotação que variaram de 2,46 a 3,26 cm (TABELA 8).

Em relação à variável número de gemas por brotação, no primeiro subcultivo os meios de cultura WPM modificado, WPM, DSD1 e QL não apresentaram diferença significativa entre si e apresentaram o maior número de gemas por brotação (5,30; 5,16; 5,06; e 5,06, respectivamente), diferindo estatisticamente do MS, que apresentou 4,36 gemas por brotação (TABELA 8).

No segundo subcultivo, os explantes cultivados no WPM proporcionaram o maior número de gemas por brotação (6,30 gemas/brotação) e diferiu estatisticamente do MS e DSD1, o qual proporcionaram o menor número de gemas por brotação (5,26 e 5,50 gemas/brotação respectivamente) (TABELA 8).

No terceiro subcultivo, os meios de cultura WPM e DSD1 proporcionaram os maiores números de gemas por brotação, apresentando 8,68 e 8,28 gemas/brotação, respectivamente. Diferentemente, os explantes cultivados no WPM modificado e MS apresentaram o menor número de gemas por brotação (7,02 e 6,66 gemas/brotação), respectivamente (TABELA 8).

TABELA 8 – COMPRIMENTO DE BROTAÇÃO E NÚMERO DE GEMAS EM DIFERENTES MEIOS DE CULTURA NA INDUÇÃO DE BROTAÇÃO DA VIDEIRA 'SOUTHERN HOME'. UFPR, CURITIBA/PR, 2021.

TRATAMENTO	Comprimento debrotação por explante (cm)			Número de gemas por brotação		
	1º Subcultivo	2º Subcultivo	3º Subcultivo	1º Subcultivo	2º Subcultivo	3º Subcultivo
DSD1	2,45 b	3,16 b	5,08 b	5,06 a	5,50 bc	8,28 a
WPM modificado	2,71 b	3,26 b	4,34 bc	5,30 a	5,80 abc	7,02 b
WPM	3,43 a	5,44 a	7,86 a	5,16 a	6,30 a	8,68 a
QL	2,27 bc	3,02 b	4,12 bc	5,06 a	6,08 ab	7,76 ab
MS	1,80 c	2,46 b	3,30 c	4,36 b	5,26 c	6,66 b
Valor de F	16,01 *	29,28 **	17,99*	16,45 **	5,30 **	9,80 **
CV%	13,27	13,64	18,68	4,03	7,06	7,84

* Médias seguidas pela mesma letra da coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey, com 5% de probabilidade.

** Médias seguidas pela mesma letra da coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey, com 1 % de probabilidade.

ns Não significativo.

Para a variável qualidade de brotação, houve diferença significativa entre os meios de cultura nos três subcultivos analisados (TABELA 9).

No primeiro subcultivo, os meios de cultura WPM e WPM modificado apresentaram as maiores notas de qualidade de brotação, apresentando brotação com notas de 2,90 e 2,88, respectivamente. Por outro lado, os explantes cultivados em meio MS originaram brotação de menor qualidade (nota 2,40) (TABELA 9).

No segundo subcultivo, os explantes cultivados em WPM modificado apresentaram a maior qualidade de brotação (nota 2,86), diferindo estatisticamente do MS, que novamente proporcionou brotação de qualidade reduzida (nota 2,28) (TABELA 9).

No terceiro subcultivo, o WPM proporcionou a maior qualidade de brotação (nota 2,88). Diferindo desta forma do MS, o qual produziu brotação de qualidade menor (nota 2,40). Neste subcultivo os meios de cultura QL, WPM modificado e DSD1 não diferiram entre si e apresentaram as seguintes notas de qualidade de brotação: 2,56; 2,62; e 2,62, respectivamente (TABELA 9).

TABELA 9 – QUALIDADE DE BROTAÇÃO EM DIFERENTES MEIOS DE CULTURA NA INDUÇÃO DE BROTAÇÃO DA VIDEIRA 'SOUTHERN HOME'. UFPR, CURITIBA/PR, 2021.

TRATAMENTO	Qualidade de brotação		
	NOTAS (1. ruim 2. boa 3. ótima)		
	1º Subcultivo	2º Subcultivo	3º Subcultivo
DSD1	2,78 ab	2,58 abc	2,62 ab
WPM modificado	2,88 a	2,82 a	2,62 ab
WPM	2,90 a	2,46 bc	2,88 a
QL	2,48 bc	2,76 ab	2,56 ab
MS	2,40 c	2,28 c	2,40 b
Valor de F	7,45 **	8,86 **	3,85 *
CV%	7,08	6,42	7,53

* Médias seguidas pela mesma letra da coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey, com 5% de probabilidade.

** Médias seguidas pela mesma letra da coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey, com 1% de probabilidade.

4.2.2 Efeito dos reguladores vegetais BAP e ZEA

Não houve interação significativa entre as citocininas e concentrações testadas no primeiro e segundo subcultivo, para as seguintes variáveis: porcentagem e comprimento de brotação (TABELA 10 e 11).

No primeiro e segundo subcultivo, o fator concentração isoladamente apresentou diferença significativa para a porcentagem de brotação. Nos dois primeiros subcultivos, os explantes cultivados na ausência de BAP e ZEA apresentaram a menor porcentagem de brotação, sendo 43,75 % no primeiro e 20,00% no segundo subcultivo. Nestes dois subcultivos, as concentrações de 1,0; 2,5; e 5,0 μM de

citocininas não diferiram entre si e apresentaram no primeiro subcultivo, porcentagem de brotação que variam de 96,25 a 98,75 % e de 95,00 a 100,00 % no segundo subcultivo (TABELA 10).

TABELA 10 – PORCENTAGEM DE BROTAÇÃO DA VIDEIRA ‘SOUTHERN HOME’ SOB EFEITO DE ZEA E BAP NO MEIO DE CULTIVO WPM MODIFICADO. UFPR, CURITIBA/PR, 2021.

FONTE DE VARIAÇÃO	GL	Porcentagem de brotação (valor-F)	
		1º Subcultivo	2º Subcultivo
Regulador Citocininas(R)	1	0,04 ns	2,77 ns
Concentrações (C)	3	80,50 **	433,00 **
Interação (R*C)	3	0,39 ns	1,59 ns
CV %		10,09	6,76
Porcentagem de brotação (%)			
REG. CITOCININAS (R)			
BAP		84,37	76,87
ZEA		83,75	80,00
CONCENTRAÇÕES (C)			
Testemunha		43,75 b	20,00 b
1,0 µM		96,25 a	95,00 a
2,5 µM		98,75 a	98,75 a
5,0 µM		97,50 a	100,00 a

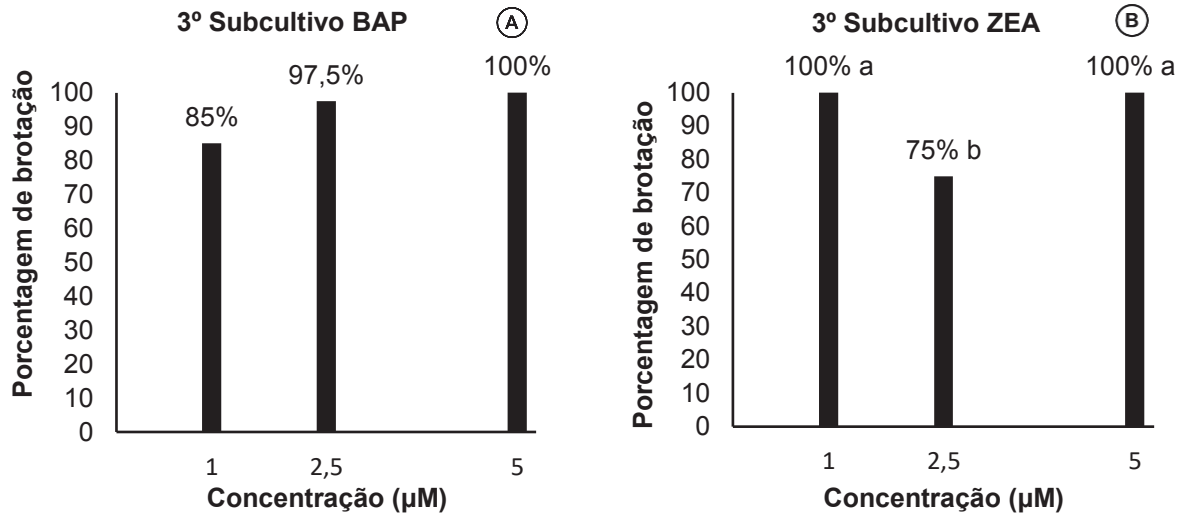
** Médias seguidas pela mesma letra da coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey, com 1% de probabilidade.

ns Não significativo.

No terceiro subcultivo, a testemunha sem reguladores vegetais foi retirada do experimento, por não haver material vegetal suficiente para realizar as análises. Todavia, houve interação significativa entre os reguladores vegetais (BAP e ZEA) e as concentrações testadas (1,0; 2,5 e 5,0 µM) na porcentagem de brotação (ANEXO 2).

Neste terceiro subcultivo, a porcentagem de brotação nos meios de cultura com 1,0; 2,5; e 5,0 µM de BAP variou de 85% a 100% de brotação, no entanto as concentrações não diferiram entre si (FIGURA 8A). Já para ZEA, houve diferença significativa entre as concentrações testadas, e a concentração de 2,5 µM proporcionou a menor porcentagem de brotação (75 %), diferindo estatisticamente das concentrações 1,0 e 5,0 µM, as quais apresentaram 100 % de brotações (FIGURA 8B)

FIGURA 8 – PORCENTAGEM DE BROTAÇÃO DA VIDEIRA 'SOUTHERN HOME' NO TERCEIRO SUBCULTIVO SOB EFEITO DE BAP E ZEA NO MEIO DE CULTURA WPM MODIFICADO. UFPR, CURITIBA/PR, 2021.



**Médias seguidas pela mesma letra no mesmo gráfico de barra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey, com 1% de probabilidade.

Em relação à variável comprimento de brotação no primeiro subcultivo, houve efeito significativo tanto para o fator regulador como para o fator concentração. Onde, os explantes cultivados na presença de ZEA apresentaram maior comprimento de brotação (2,52 cm) e os explantes cultivados na presença de BAP apresentaram brotação com 1,17 cm de comprimento (TABELA 11).

Neste primeiro subcultivo, a ausência de BAP e a maior concentração de BAP utilizada (5,0 µM) não diferiram entre si e proporcionaram brotações de menor comprimento (0,67 e 0,97 cm respectivamente). A ausência de ZEA no meio de cultivo também proporcionou o menor desenvolvimento de brotação, gerando brotos com menor comprimento (1,05 cm) (TABELA 11).

No segundo subcultivo não houve efeito significativo entre os fatores testados no comprimento de brotação (TABELA 11).

No terceiro subcultivo a testemunha com ausência de reguladores vegetais não foi avaliada, devida a falta de material vegetal para as análises. Todavia, para o comprimento de brotação, houve interação significativa entre os fatores testados: reguladores vegetais (BAP e ZEA) e concentrações (1,0; 2,5 e 5,0 µM) (ANEXO 2).

TABELA 11 – COMPRIMENTO DE BROTAÇÃO DA VIDEIRA ‘SOUTHERN HOME’ SOB EFEITO DE ZEA E BAP NO MEIO DE CULTIVO WPM MODIFICADO. UFPR, CURITIBA/PR, 2021.

FONTE DE VARIAÇÃO	GL	Comprimento de brotação (valor-F)	
		1º Subcultivo	2º Subcultivo
Regulador Citocininas(R)	1	45,74 **	3,09 ns
Concentrações (C)	3	11,96 **	0,08 ns
Interação (R*C)	3	2,70 ns	0,62 ns
CV %		30,54	46,6

Comprimento de brotação (cm)			
REG. CITOCININAS (R)	Médias		
BAP		1,17 b	1,53
ZEA		2,52 a	1,14

CONCENTRAÇÕES (C)	BAP	ZEA	
Testemunha	0,67 b	1.05 b	1,32
1,0 µM	1.55 a	3.15 a	1,32
2,5 µM	1.50 a	3.10 a	1,42
5,0 µM	0,97 b	2.80 a	1,27

** Médias seguidas pela mesma letra da coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey, com 1% de probabilidade.

ns Não significativo.

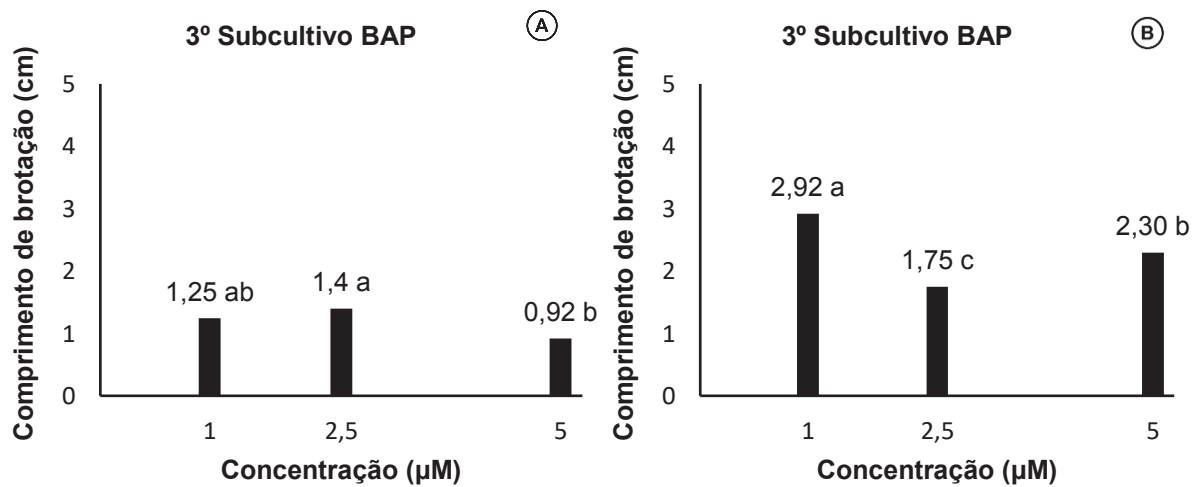
No último subcultivo, à medida que aumentou a concentração de BAP no meio de cultura, houve um aumento no comprimento de brotação até a concentração de 2,5 µM, a qual proporcionou brotação com o comprimento de 1,4 cm. A concentração de 5 µM de BAP gerou brotação de menor comprimento (0,92 cm) (FIGURA 9A).

Para ZEA, a concentração de 1 µM de ZEA no terceiro subcultivo proporcionou o maior comprimento de brotação (2,92 cm), diferindo estatisticamente da concentração de 2,5 µM, que proporcionou o menor comprimento de brotação (1,75 cm) e da concentração de 5,0 µM, que proporcionou brotação com 2,30 cm de comprimento (FIGURA 9B).

Para a variável qualidade de brotação, houve interação significativa entre o tipo de citocininas e as concentrações testadas no primeiro e segundo subcultivo (ANEXO 3).

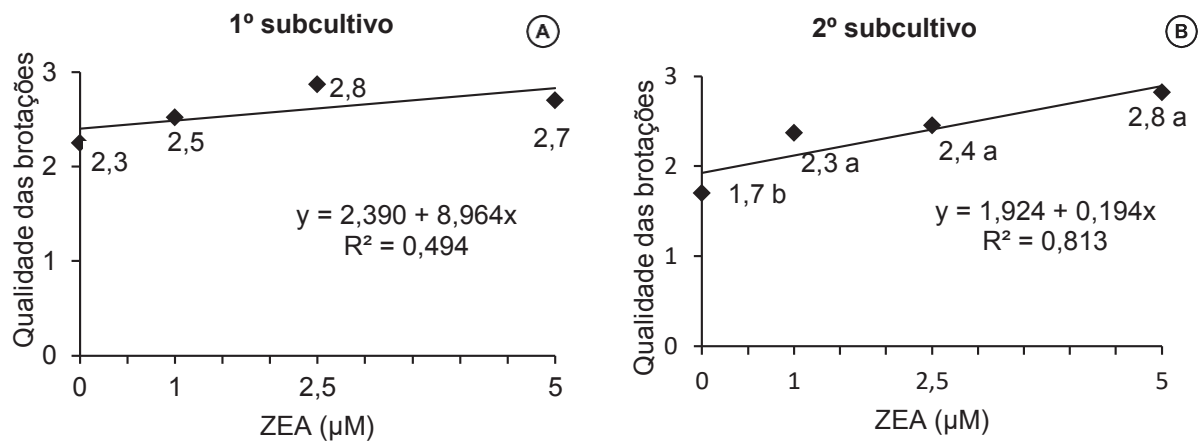
No primeiro subcultivo, as concentrações de ZEA não apresentaram diferença significativa entre si, e a nota de qualidade variou de 2,3 a 2,8, o que as considera brotação de boa a ótima qualidade (FIGURA 10A). No segundo subcultivo com ZEA houve diferença significativa apenas em relação à testemunha, a qual proporcionou a menor qualidade de brotação, com nota de 1,7. Neste subcultivo, as concentrações de 1,0; 2,5; e 5,0 µM proporcionaram qualidade de brotação com notas de 2,3 a 2,8, o que as considera como brotações de boa a ótima qualidade (FIGURA 10B).

FIGURA 9 – COMPRIMENTO DAS BROTAÇÕES DA VIDEIRA ‘SOUTHERN HOME’ NO TERCEIRO SUBCULTIVO SOB EFEITO DE BAP E ZEA NO MEIO DE CULTURA WPM MODIFICADO. UFPR, CURITIBA/PR, 2021.



**Médias seguidas pela mesma letra no mesmo gráfico de barra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey, com 1% de probabilidade.

FIGURA 10 – QUALIDADE DAS BROTAÇÕES DA VIDEIRA ‘SOUTHERN HOME’ NO PRIMEIRO E SEGUNDO SUBCULTIVO SOB EFEITO DE ZEA EM MEIO WPM MODIFICADO. UFPR, CURITIBA/PR, 2021.

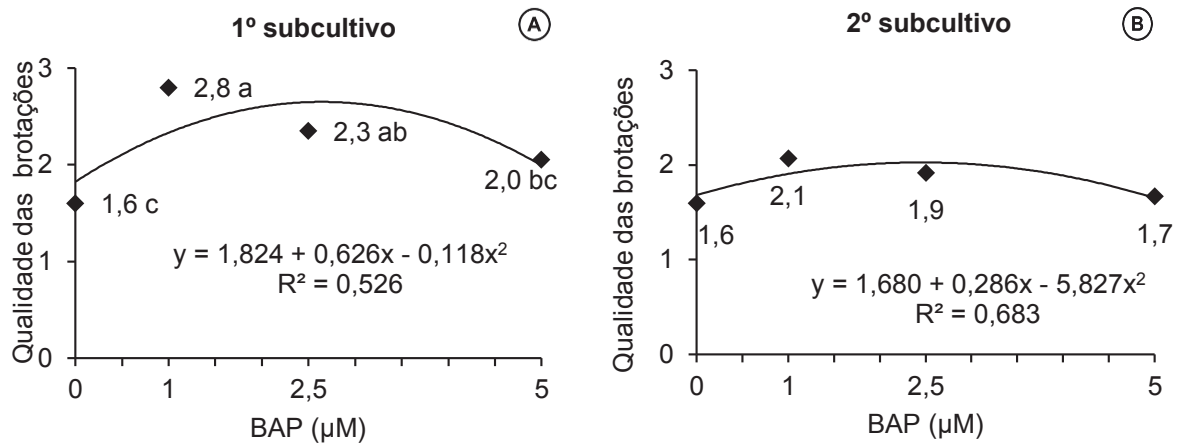


**Médias seguidas pela mesma letra em cada regressão não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey, com 1% de probabilidade.

Para BAP no primeiro subcultivo, houve diferença significativa entre as concentrações testadas, e a concentração de 1,0 µM de BAP conferiu a maior qualidade de brotação (nota 2,8), diferindo estatisticamente da concentração de 5 µM de BAP (nota 2,0) e do tratamento controle o qual apresentou a menor qualidade de brotação (nota 1,6) (FIGURA 11A).

No segundo subcultivo, as concentrações de BAP não diferiram entre si, e a nota de qualidade de brotação variou de 1,6 a 2,1 (FIGURA 11B).

FIGURA 11 - QUALIDADE DAS BROTAÇÕES DA VIDEIRA 'SOUTHERN HOME' SOB EFEITO DE BAP NO MEIO WPM MODIFICADO. UFPR, CURITIBA/PR, 2021



**Médias seguidas pela mesma letra em cada regressão não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey, com 1% de probabilidade.

No terceiro cultivo a testemunha não foi avaliada e, à medida que aumentou a concentração de BAP no meio de cultura a qualidade das brotações diminuiu, sendo que a concentração de 5,0 µM de BAP promoveu a menor nota de qualidade de brotações (nota 1,5). Neste subcultivo a concentração 1,0 µM de BAP proporcionou brotações de boa qualidade, com nota 2,3 (FIGURA 12A). Neste subcultivo a qualidade de brotação da videira 'Southern Home' em meio com ZEA variou de (2,7 a 2,9) o que considera brotações de ótima qualidade (FIGURA 12B).

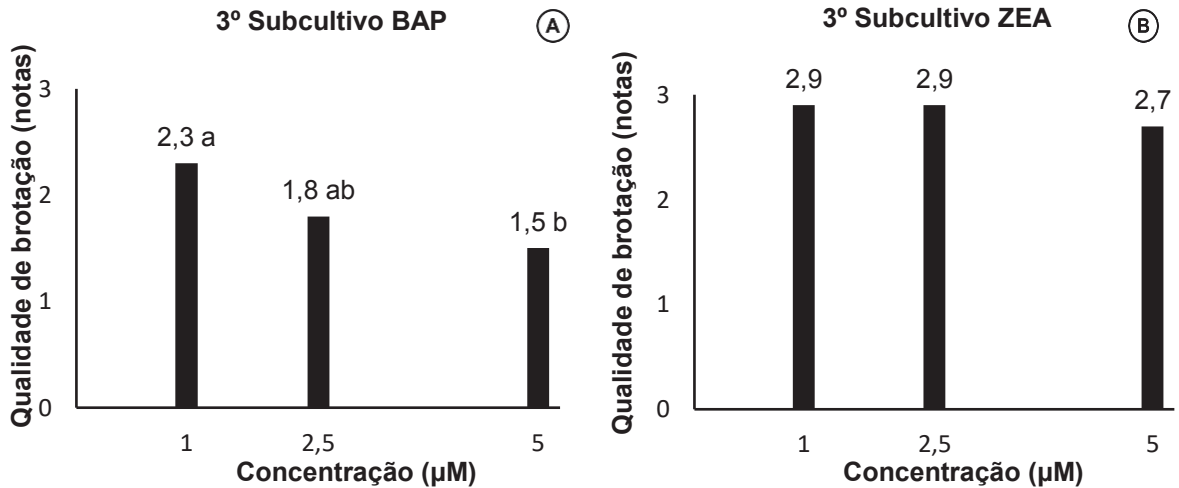
Em relação à variável número de gemas por brotação, houve interação significativa entre os fatores: citocininas e concentrações, no primeiro e terceiro subcultivo (ANEXO 4).

No primeiro subcultivo, a concentração de 1,0 e 2,5 µM de BAP proporcionam o maior número de gemas por brotação (3,6 e 3,7, respectivamente). Por outro lado, a concentração de 5,0 µM apresentou o menor número de gemas por brotação (2,4 gemas) (FIGURA 13A).

Neste subcultivo, o uso de ZEA proporcionou maior número de gemas em todas as concentrações testadas, em comparação com BAP. As concentrações 1,0; 2,5; e 5,0 µM de ZEA no meio de cultivo não diferenciaram entre si e o número de gemas por brotação foi 6,1; 7,1; e 5,8 respectivamente. No entanto, as concentrações 1,0;

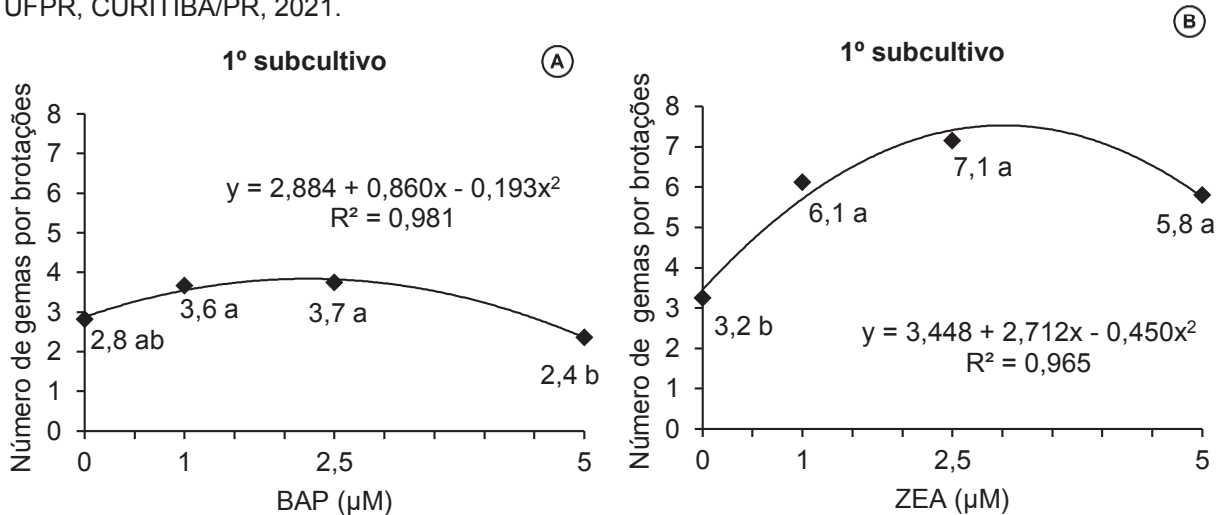
2,5; e 5,0 μM de ZEA diferenciaram-se do tratamento sem ZEA, o qual proporcionou brotações com 3,2 gemas (FIGURA 13B).

FIGURA 12 – QUALIDADE DE BROTAÇÃO DA VIDEIRA ‘SOUTHERN HOME’ NO TERCEIRO SUBCULTIVO SOB EFEITO DE BAP E ZEA NO MEIO DE CULTURA WPM MODIFICADO. UFPR, CURITIBA/PR, 2021.



**Médias seguidas pela mesma letra no mesmo gráfico de barra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey, com 1% de probabilidade.

FIGURA 13 – NÚMERO DE GEMAS POR BROTAÇÃO NO 1º SUBCULTIVO DA VIDEIRA ‘SOUTHERN HOME’ SOB EFEITO DE BAP E ZEA EM MEIO DE CULTURA WPM MODIFICADO. UFPR, CURITIBA/PR, 2021.



*Médias seguidas pela mesma letra em cada regressão não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey, com 5% de probabilidade.

No segundo subcultivo não houve interação significativa entre os fatores: citocininas e concentrações, na variável número de gemas por brotação (TABELA 13). No entanto, neste subcultivo o fator concentração isoladamente apresentou diferença

significativa, porém, o teste de comparação de médias não conseguiu identificar esta diferença nas concentrações (TABELA 13).

TABELA 12 – NÚMERO DE GEMAS POR BROTAÇÃO NO SEGUNDO SUBCULTIVO DA VIDEIRA 'SOUTHERN HOME' SOB EFEITO DE BAP E ZEA EM MEIO DE CULTURA WPM MODIFICADO. UFPR, CURITIBA/PR, 2021.

FONTE DE VARIAÇÃO	GL	Número médio de gemas (valor-F)	
		2º Subcultivo	
Regulador Citocininas(R)	1	1,81 ns	
Concentrações (C)	3	0,06 *	
Interação (R*C)	3	0,18 ns	
CV %		35,45	
REG. CITOCININAS (R)		Número de gemas	
		Médias	
BAP		4,41	
ZEA		2,52	
CONCENTRAÇÕES (C)		BAP	ZEA
Testemunha		4,50	3,67
1,0 µM		4,65	3,62
2,5 µM		4,60	3,75
5,0 µM		3,90	3,85

* Médias seguidas pela mesma letra minúscula na linha e maiúscula na coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey, com 5% de probabilidade.
ns Não significativo.

No terceiro subcultivo houve interação significativa entre os fatores estudados na variável número de gemas por brotação (ANEXO 4). As concentrações 1,0; 2,5; e 5,0 µM de BAP não diferiram entre si e apresentaram número de gemas que variam de 3,52 a 4,37 (FIGURA 14A).

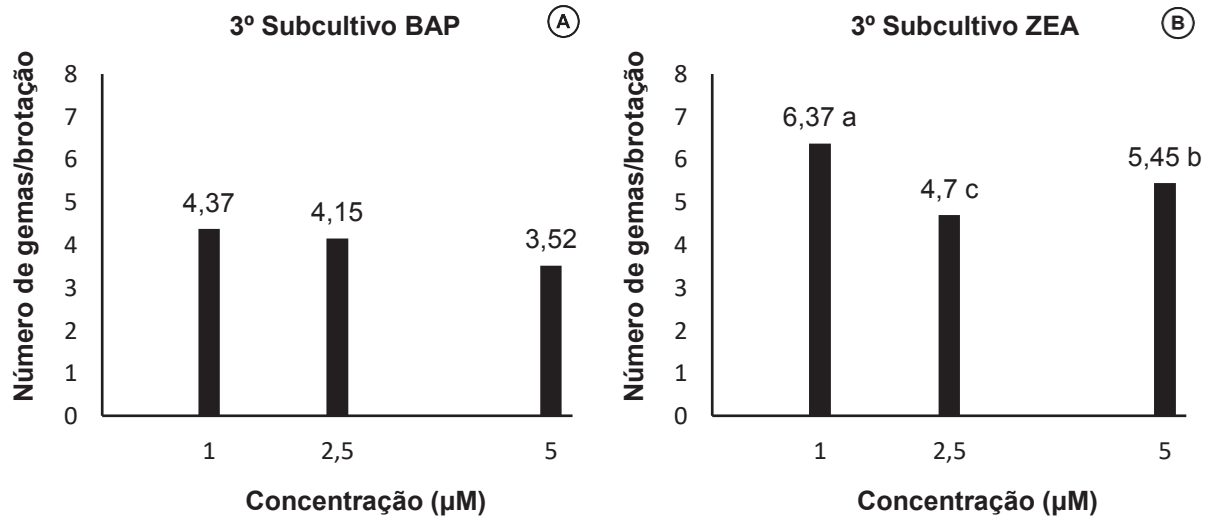
Para ZEA houve diferença significativa entre as concentrações testadas 1,0; 2,5; e 5,0 µM de ZEA. Onde, a concentração de 1,0 µM de ZEA proporcionou brotação com o maior número de gemas (6,37 gemas/brotção) e diferenciou-se das concentrações de 2,5 µM e 5,0 µM de ZEA, as quais proporcionaram o menor número de gemas por brotação (4,7 e 5,45 gemas por brotação), respectivamente (FIGURA 14B).

Neste estudo, a variável hiperhidricidade apresentou interação significativa entre os fatores citocininas e concentrações, nos três subcultivos analisados (ANEXO 5).

No primeiro e segundo subcultivo, à medida que aumentou a concentração de BAP no meio de cultura, houve maior aparecimento de sintomas de hiperhidricidade nas brotações. Onde, a concentração de 5 µM de BAP promoveu o maior aparecimento de sintomas de hiperhidricidade, apresentando nota 3,3 no primeiro

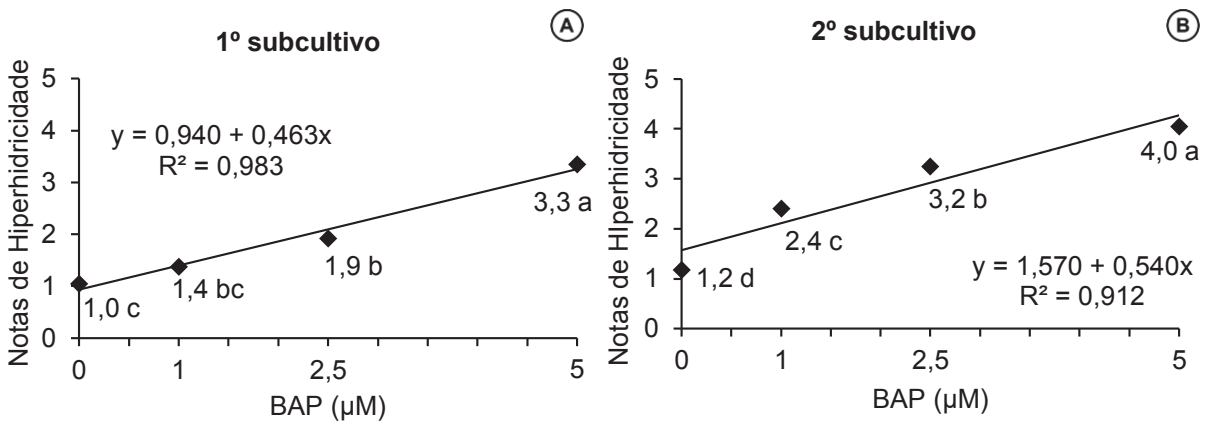
subcultivo e 4,0 no segundo subcultivo, o que caracteriza o sintoma como hiperhidricidade forte. A ausência de BAP no meio de cultivo nos dois primeiros subcultivos permitiu brotações sem sintomas de hiperhidricidade, com notas 1,0 e 1,2, respectivamente (FIGURA 15AB).

FIGURA 14 – NÚMERO DE GEMAS POR BROTAÇÃO NO 3º SUBCULTIVO DA VIDEIRA 'SOUTHERN HOME' SOB EFEITO DE BAP E ZEA EM MEIO DE CULTURA WPM MODIFICADO. UFPR, CURITIBA/PR, 2021.



de Tukey, com 1% de probabilidade.

FIGURA 15 – SINTOMAS DE HIPERHIDRICIDADE EM BROTAÇÕES DA VIDEIRA 'SOUTHERN HOME' SOB EFEITO DO REGULADOR VEGETAL BAP. UFPR, CURITIBA/PR, 2021.



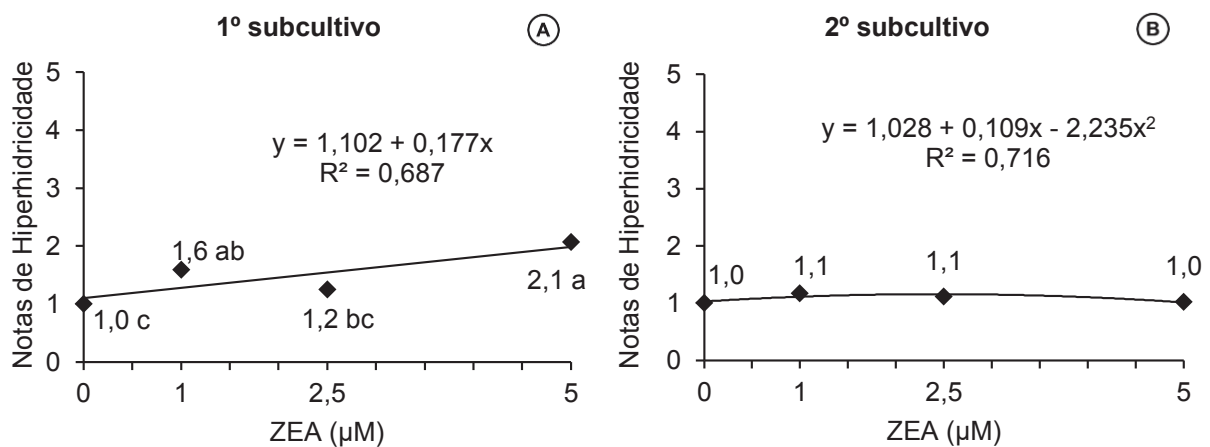
**Médias seguidas pela mesma letra em cada regressão não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey, com 1% de probabilidade.

Quando se fez o uso de ZEA no meio de cultivo, o aparecimento dos sintomas de hiperhidricidade foram menores em todos os subcultivos. No primeiro subcultivo a maior concentração testada 5 µM de ZEA promoveu o aparecimento de sintomas

suaves de hiperhidricidade, com nota atribuída de 2,1, diferindo estatisticamente da concentração de 2,5 μM de ZEA, que promoveu sintomas praticamente inexistente de hiperhidricidade, com nota 1,2 e diferindo do tratamento testemunha, que não apresentou nenhum sintoma de hiperhidricidade nas brotações (nota 1,0) (FIGURA 16A).

No segundo subcultivo não houve diferença entre as concentrações de ZEA e a hiperhidricidade foi ausente, com as notas variando de 1,0 a 1,1 (FIGURA 16B).

FIGURA 16 – SINTOMAS DE HIPERHIDRICIDADE EM BROTAÇÕES DA VIDEIRA ‘SOUTHERN HOME’ SOB EFEITO DE ZEA NO MEIO DE CULTURA WPM MODIFICADO. UFPR, CURITIBA/PR, 2021.UFPR.

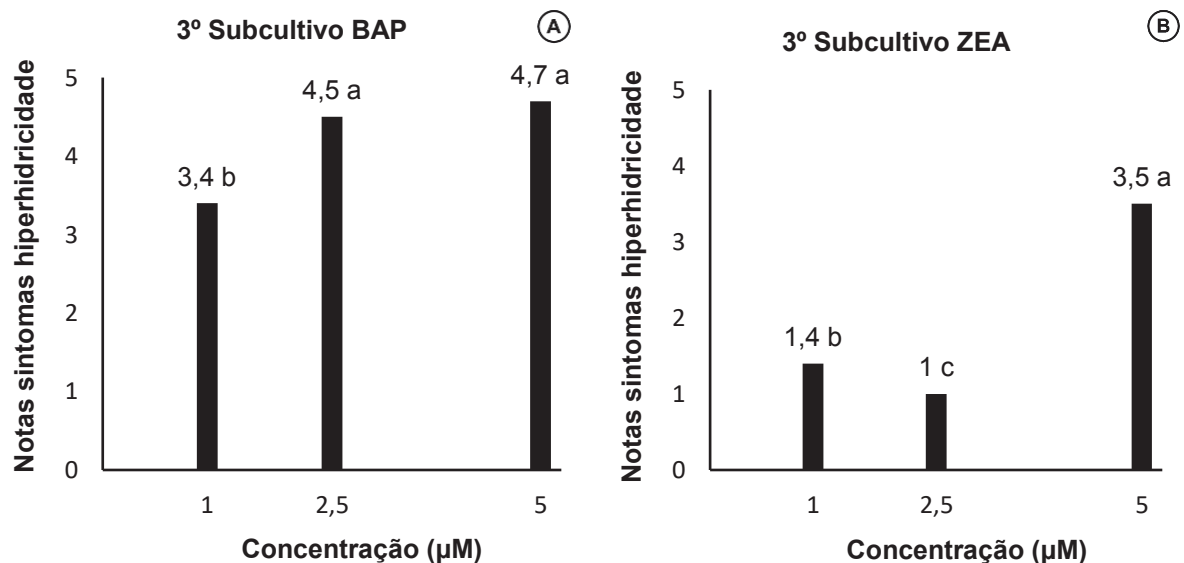


**Médias seguidas pela mesma letra em cada regressão não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey, com 1% de probabilidade.

No terceiro subcultivo tanto para BAP como ZEA houve diferença significativa entre os fatores testados. Onde, as concentrações 2,5 e 5 μM de BAP proporcionaram aparecimento de sintomas de hiperhidricidade nas brotações com nota 4,5 e 4,7, respectivamente, o que caracteriza como sendo sintomas fortes e severos. Nesse subcultivo, as concentrações 2,5 e 5 μM de BAP diferenciaram-se da concentração de 1 μM de BAP, a qual proporcionou brotações com sintomas moderados de hiperhidricidade, apresentando nota de 3,4 (FIGURA 17A).

Para ZEA as concentrações de 1 e 2,5 μM no terceiro subcultivo diferenciaram estatisticamente da concentração de 5 μM de ZEA, o qual desencadeou sintomas moderados de hiperhidricidade, com nota 3,5. A concentração de 2,5 μM apresentou brotação sem nenhum sintoma de hiperhidricidade (nota 1,0) e a concentração de 1,0 μM apresentou hiperhidricidade com nota 1,4, (FIGURA 17B).

FIGURA 17 - SINTOMAS DE HIPERHIDRICIDADE EM BROTAÇÕES DA VIDEIRA 'SOUTHERN HOME' NO TERCEIRO SUBCULTIVO SOB EFEITO DO REGULADOR VEGETAL BAP E ZEA NO MEIO DE CULTURA WPM MODIFICADO. UFPR, CURITIBA/PR, 2021.



**Médias seguidas pela mesma letra no mesmo gráfico de barra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey, com 1% de probabilidade.

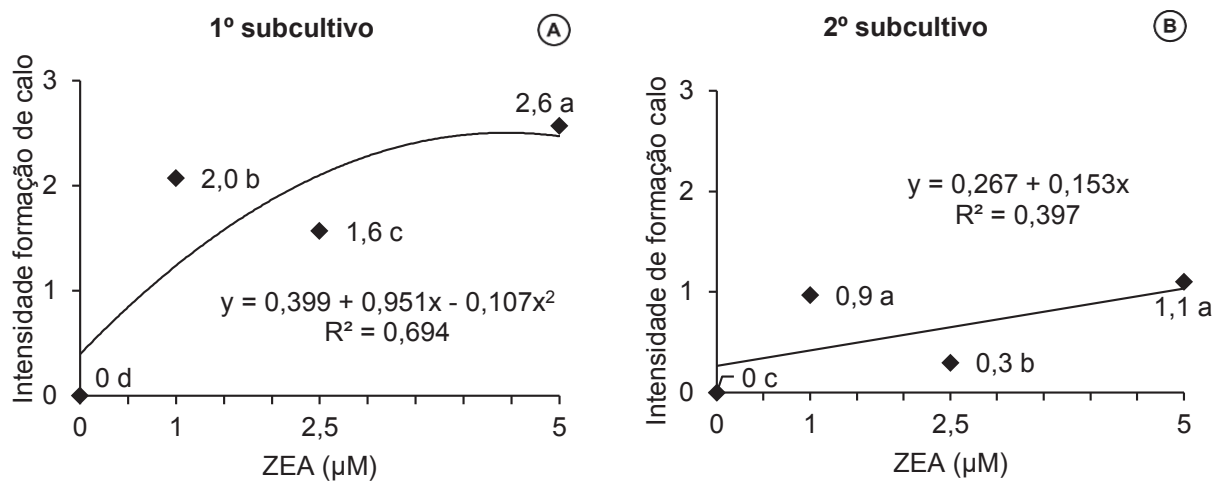
Na variável intensidade de formação de calo houve interação significativa nos três subcultivos analisados entre os fatores tipo de citocininas e as concentrações testadas (ANEXO 6).

Em todos os subcultivos os explantes cultivados na ausência de ZEA e BAP não apresentaram formação de calo na base dos explantes e diferiram estatisticamente das concentrações 1,0; 2,5; e 5,0 µM (FIGURA 18 e 19).

No primeiro subcultivo a concentração de 5 µM de ZEA promoveu a maior intensidade de formação de calo na base dos explantes, com nota atribuída de 2,6. Por outro lado, a menor intensidade de formação de calo foi na ausência de ZEA que não formou calo e na concentração 2,5 µM a qual proporcionou baixa intensidade de formação de calo (1,6) (FIGURA 18A).

No segundo subcultivo, a concentração de 1 e 5 µM de ZEA não diferiram entre si e apresentaram a maior intensidade de formação de calo com nota atribuída de 0,9 e 1,1, respectivamente. Já a menor intensidade formação de calo neste subcultivo foi encontrado na ausência de ZEA e na concentração de 2,5 µM de ZEA, a qual proporcionou baixa/inexistente intensidade de formação de calo, com nota 0,3 (FIGURA 18B).

FIGURA 18 – INTENSIDADE DE FORMAÇÃO DE CALO EM BROTAÇÕES DA VIDEIRA 'SOUTHERN HOME' SOB EFEITO DE ZEA NO MEIO DE CULTURA WPM MODIFICADO. UFPR, CURITIBA/PR, 2021.



**Médias seguidas pela mesma letra em cada regressão não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey, com 1% de probabilidade.

Neste estudo a presença de BAP no meio de cultivo promoveu a maior formação de calo na base dos explantes. No primeiro subcultivo as concentrações 2,5 e 5 μM de BAP produziram intensidade de calo com nota 2,5 e 2,2, respectivamente. Por sua vez, a menor formação de calo foi observada na concentração de 1 μM de BAP, a qual proporcionou pouca intensidade de formação de calo com nota atribuída de 1,5 e também foi localizado no tratamento testemunha, o qual não permitiu a formação de calo na base dos explantes (FIGURA 19A).

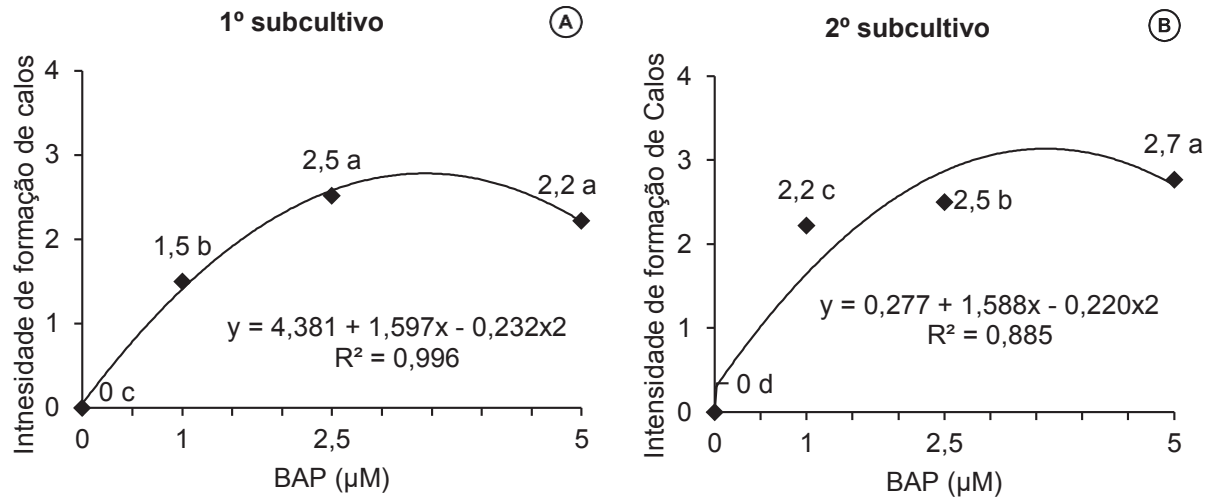
No segundo subcultivo houve diferença estatística entre as concentrações de BAP. Onde, a concentração de 5 μM de BAP conferiu a maior intensidade de formação de calo, com nota 2,7. Diferindo dessa forma da testemunha, que não promoveu a formação de calo na base dos explantes, e diferindo também das concentrações 1,0 e 2,5 μM de BAP, as quais promoveram média intensidade de formação de calo na base dos explantes, com notas 2,2 e 2,5, respectivamente (FIGURA 19B).

No terceiro subcultivo, a concentração de 2,5 μM de BAP proporcionou a maior intensidade de formação de calo, com nota 2,3 e diferenciou-se da concentração de 1 μM de BAP, o qual conferiu baixa/média intensidade de calo, com nota atribuída de 1,7 (FIGURA 20A).

Para ZEA no terceiro subcultivo a concentração de 5 μM conferiu a maior intensidade de formação de calo com nota (1,6), o que caracteriza pouca/média intensidade de formação de calo. E as menores formação de calo foi localizado nas

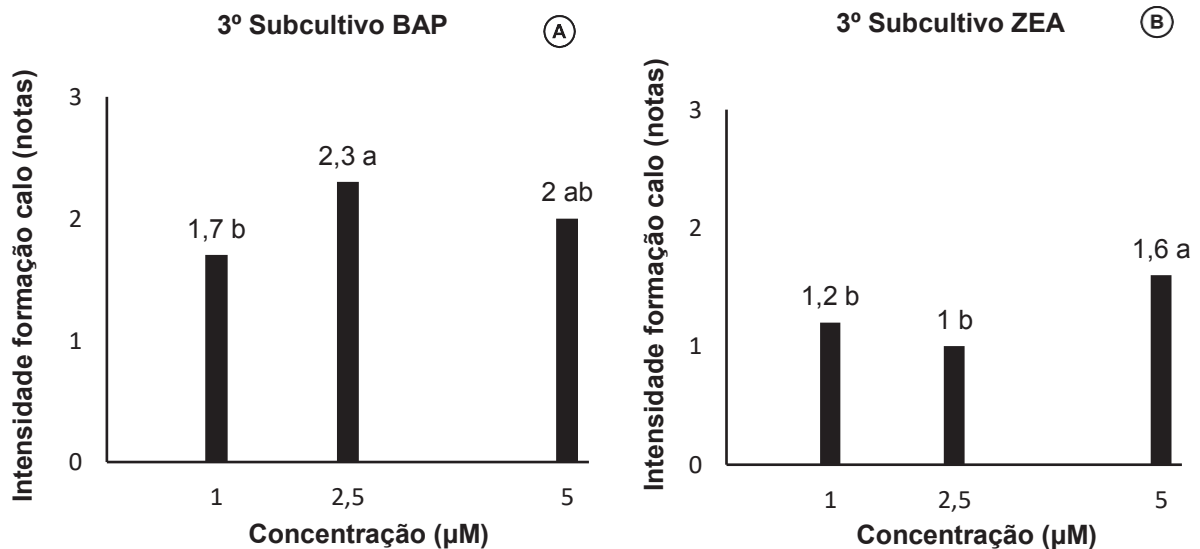
concentrações 1 e 2,5 μM de ZEA, as quais proporcionaram pouca formação de calo, com nota 1,2 e 1 respectivamente (FIGURA 20B).

FIGURA 19 – INTENSIDADE DE FORMAÇÃO DE CALO EM BROTAÇÕES DA VIDEIRA 'SOUTHERN HOME' SOB EFEITO DE BAP EM MEIO DE CULTIVO WPM MODIFICADO. UFPR, CURITIBA/PR, 2021.



**Médias seguidas pela mesma letra em cada regressão não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey, com 1% de probabilidade.

FIGURA 20 – INTENSIDADE DE FORMAÇÃO DE CALO EM BROTAÇÕES DA VIDEIRA 'SOUTHERN HOME' NO TERCEIRO SUBCULTIVO SOB EFEITO DO REGULADOR VEGETAL BAP E ZEA NO MEIO DE CULTURA WPM MODIFICADO. UFPR, CURITIBA/PR, 2021.



**Médias seguidas pela mesma letra no mesmo gráfico de barra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey, com 1% de probabilidade.

4.3 ENRAIZAMENTO, TRANSPLANTIO E ACLIMATIZAÇÃO

No enraizamento *in vitro* não houve interação significativa entre os fatores estudados: tipos de reguladores e concentrações para as variáveis porcentagem de explantes enraizados, número de raízes e comprimento de raízes *in vitro* (TABELA 14, FIGURA 21).

Para a variável porcentagem de explantes enraizados houve diferença significativa entre plantas cultivadas em meio de cultura com e sem auxinas (TABELA 14). Sendo que o maior porcentual de explantes enraizados foi encontrado em meio de cultura com auxinas, o qual apresentou um total de 99,94% de explantes enraizados, quando comparado com o meio de cultura sem auxinas (95%) (TABELA 14).

A variável número de raízes apresentou efeito significativo nos fatores estudados (regulador e concentração) (TABELA 14). As concentrações 0,4 μM e 0,8 μM das auxinas testadas proporcionaram o maior número de raízes por explantes *in vitro* (2,31 e 2,38, respectivamente), diferenciando da concentração de 0,2 μM , a qual promoveu o menor número raízes (2,00 raízes por explantes) (TABELA 14).

Em se tratando do tipo de auxinas, houve diferença significativa entre elas, a qual IAA e NAA apresentaram os maiores números de raízes por explante (2,48 e 2,28), diferindo desta forma de IBA, o qual apresentou a emissão de 1,93 raízes por explantes. Neste estudo, explantes cultivados em meio de cultura com e sem auxinas não apresentaram diferença significativa na variável número de raízes (TABELA 14).

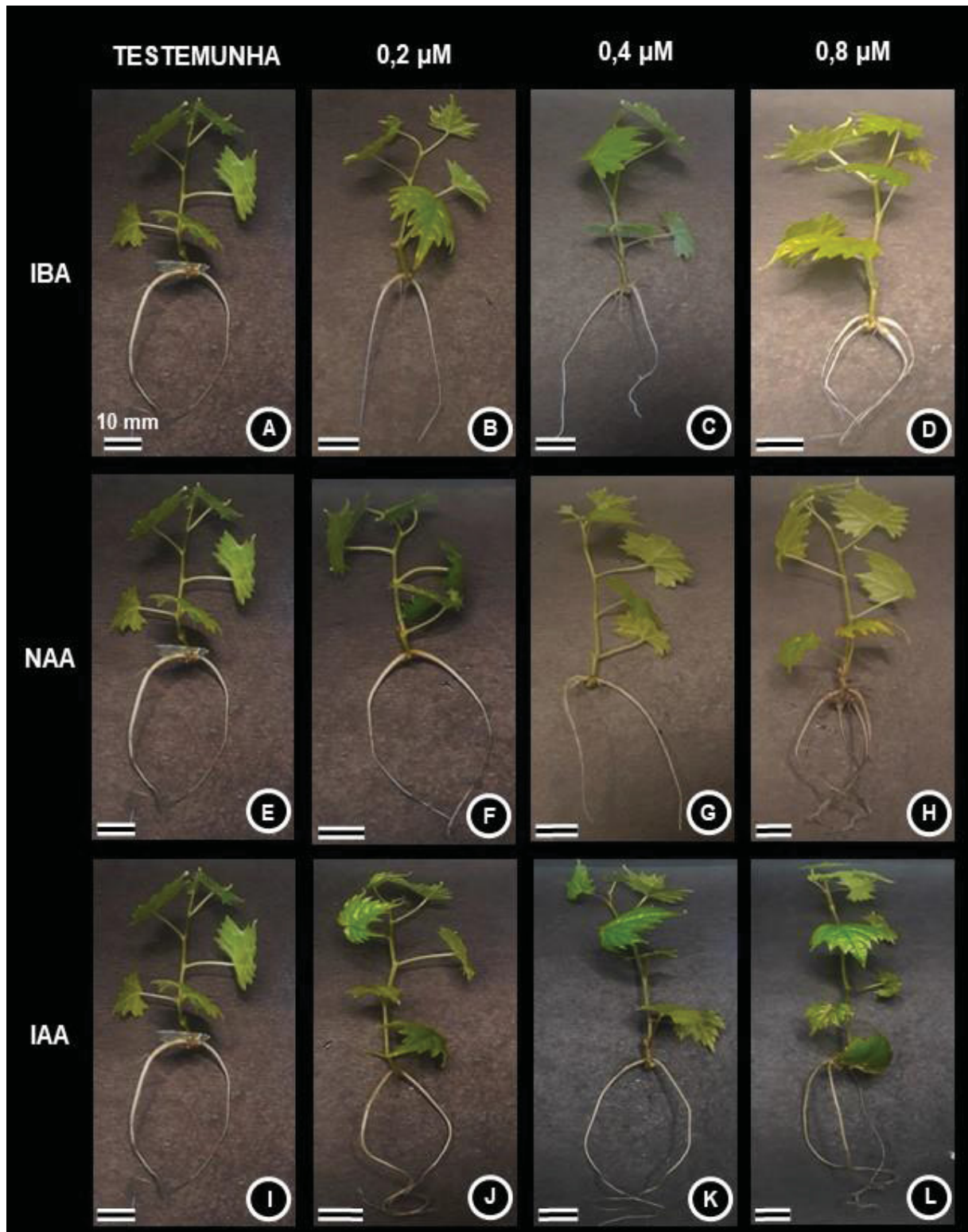
Com relação ao comprimento de raízes por explante, houve efeito significativo no fator concentração (TABELA 14). O qual a concentração de 0,8 μM proporcionou o maior comprimento de raízes por explantes (5,13 cm), diferindo desta forma das concentrações 0,2 e 0,4 μM de auxinas, as quais proporcionaram o menor comprimento de raízes (3,58 e 3,96 cm, respectivamente). Para o comprimento de raízes por explante não houve efeito significativo entre os explantes cultivados em meio de cultura com e sem auxinas, variando o comprimento de raízes de 4,22 a 4,14 cm, respectivamente (TABELA 14).

TABELA 13 – RESUMO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA DAS VARIÁVEIS DE ENRAIZAMENTO *IN VITRO* DA VIDEIRA 'SOUTHERN HOME' EM MEIO WPM MODIFICADO COM TRÊS AUXINAS EM TRÊS DIFERENTES CONCENTRAÇÕES'. UFPR, CURITIBA/PR, 2021.

Variáveis de Enraizamento (p-valor)				
FONTE DE VARIAÇÃO	GL	Explantos enraizados	Número de raízes	Comprimento de raízes
Concentração (C)	2	0,7192 ns	0,0041 *	0 *
Regulador (R)	2	0,7192 ns	1e-04 *	0,1387 ns
Interação (C*R)	4	0,5147 ns	0,0828 ns	0,5392 ns
Adicional * Fatorial	1	0,0066 *	0,7802 ns	0,7789 ns
CV %		2,92	12,34	13,9
Médias				
CONCENTRAÇÃO (C)				
		Explantos enraizados (%)	Número de raízes	Comprimento das raízes (cm)
0,2 µM		100,00	2,00 b	3,58 b
0,4 µM		99,16	2,31 a	3,96 b
0,8 µM		99,16	2,38 a	5,13 a
Médias				
REGULADORES (R)				
		Explantos enraizados (%)	Número de raízes	Comprimento das raízes (cm)
IAA		100,00	2,48 a	3,95
NAA		99,16	2,28 a	4,30
IBA		99,16	1,93 b	4,42
Médias				
TRAT. ADICIONAL * FATORIAL				
		Explantos enraizados (%)	Número de raízes	Comprimento das raízes (cm)
Trat. Adicional (Testemunha)		95,00 b	2,19	4,14
Fatorial		99,44 a	2,23	4,22

(*) significativo ao nível de 5% de probabilidade ($0,01 \leq p < 0,05$); (ns) não significativo ($p \geq 0,05$); GL= grau de liberdade e CV = coeficiente de variação; TRAT= Tratamentos; Médias seguidas de mesma letra na coluna, não diferem entre si pelo teste F.

FIGURA 21 – EFEITO DE IBA (A, B, C e D), NAA (E, F, G e H) E IAA (I, J, K e L) EM MEIO WPM MODIFICADO NO ENRAIZAMENTO *IN VITRO* DA VIDEIRA 'SOUTHERN HOME'. UFPR, CURITIBA/PR, 2021.



Para as variáveis: porcentagem de explantes brotados, comprimento de brotações, qualidade de brotações, número de gemas e folhas por brotações não houve interação significativa entre os fatores testados (reguladores e concentrações) (TABELA 15).

Contudo, o fator concentração na variável comprimento de brotação apresentou diferença significativa (TABELA 15). Onde, a concentração de 0,8 μM de auxinas no meio de cultura proporcionou brotações maiores (5,25 cm), diferindo desta forma das concentrações de 0,2 e 0,4 μM , as quais apresentaram brotações com o comprimento de 4,12 e 4,29 cm, respectivamente (TABELA 15).

Para a variável número de gemas e folhas por brotação, o fator regulador apresentou diferença significativa. Para tal, o IAA e NAA apresentaram o maior número médio de gemas e folhas por brotação (5,42 e 5,07, respectivamente), diferindo estatisticamente do IBA, que apresentou 4,97 gemas e folhas por brotação. De modo geral, na etapa de enraizamento *in vitro*, as variáveis referentes a parte aérea dos explantes não apresentaram diferença significativa quando cultivados em meio de cultura com e sem auxinas (TABELA 15).

Na etapa de aclimatização em laboratório não houve interação e nem diferença significativa entre os fatores estudados nas seguintes variáveis: sobrevivência das plantas, comprimento e ganho em crescimento das plantas, número de gemas e ganho de gemas por planta e número de folhas (TABELA 16, FIGURA 22).

Nessa etapa, a sobrevivência das plantas foi de 100% em todos os tratamentos e o comprimento das plantas cultivadas anteriormente sem auxina foi de 8,20 cm com um ganho médio em crescimento de 3,52 cm e de 8,42 cm em plantas cultivadas com auxinas, com um ganho em crescimento de 3,86 cm (TABELA 16).

A variável qualidade das plantas apresentou diferença significativa entre plantas cultivadas anteriormente com e sem auxinas (TABELA 16). As plantas cultivadas anteriormente com reguladores vegetais apresentaram melhor qualidade de plantas, com nota 2,94 quando comparadas com as sem regulador vegetal (2,84). Todavia, a qualidade das plantas cultivadas anteriormente com auxina e das cultivadas sem auxinas foram consideradas ótimas (TABELA 16).

Nessa etapa, as variáveis número de gemas e folhas por planta apresentaram efeito significativo no fator regulador (TABELA 16). Onde, IAA e NAA proporcionaram maior número de gemas e folhas por planta (7,67 e 7,43, respectivamente), diferindo

estatisticamente de IBA que apresentou 7,19 gemas e folhas por plantas (TABELA 16).

Na fase de aclimatização *ex vitro* em casa de vegetação, não houve interação significativa entre os fatores estudados, e, a sobrevivência das plantas foi de 100% tanto para plantas cultivadas anteriormente com auxinas, quanto para as cultivadas sem auxinas (TABELA 17, FIGURA 23).

Em relação à variável qualidade das plantas, não houve interação significativa entre os fatores testados (concentração e reguladores) (TABELA 17). No entanto, houve interação significativa entre os tratamentos com e sem auxinas, no qual as plantas cultivadas anteriormente na presença de auxinas apresentaram ótima qualidade de plantas, com nota de 2,96, e as plantas oriundas do cultivo sem auxinas apresentaram menor nota de qualidade (2,87), todavia também apresentaram ótima qualidade de plantas (TABELA 17).

TABELA 14 – RESUMO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA DAS VARIÁVEIS PARTE AÉREA DA VIDEIRA ‘SOUTHERN HOME’ EM MEIO WPM MODIFICADO COM TRÊS AUXINAS EM TRÊS DIFERENTES CONCENTRAÇÕES NO ENRAIZAMENTO *IN VITRO*. UFPR, CURITIBA/PR, 2021.

Variáveis parte aérea (p-valor)							
FONTE DE VARIAÇÃO	GL	Explantos brotados	Comprimento de brotação	Qualidade de Brotação	Número de gemas/ brotação	Número de folhas/brotação	Tamanho das folhas
Concentração (C)	2	0,8146 ns	9e-04 *	0,0733 ns	0,0817 ns	0,0817 ns	0,4057 ns
Reguladores (R)	2	0,2516 ns	0,5604 ns	0,0494 ns	0,0226 *	0,0226 *	0,1695 ns
Interação (C*R)	4	0,4932 ns	0,3051 ns	0,1899 ns	0,5402 ns	0,5402 ns	0,7613 ns
Adicional * Fatorial	1	0,7065 ns	0,6633 ns	0,2083 ns	0,0956 ns	0,0956 ns	0,8272 ns
CV %		10,03	15,46	3,77	7,63	7,63	19,93
Médias							
CONCENTRAÇÃO (C)		Explantos brotados (%)	Comprimento de brotação (cm)	Qualidade de Brotação	Número de gemas/ brotação	Número de folhas/brotação	Tamanho das folhas
0,2 µM		95,83	4,12 b	2,80	5,00	5,00	2,50
0,4 µM		96,66	4,29 b	2,90	5,09	5,09	2,75
0,8 µM		98,33	5,25 a	2,89	5,36	5,36	2,50
Médias							
REGULADORES		Explantos brotados (%)	Comprimento de brotação (cm)	Qualidade de Brotação	Número de gemas/ brotação	Número de folhas/brotação	Tamanho das folhas
IAA		100,00	4,72	2,89	5,42 a	5,42 a	2,54
NAA		93,33	4,41	2,89	5,07 ab	5,07 ab	2,80
IBA		97,50	4,52	2,80	4,97 b	4,97 b	2,40
Médias							
TRAT. ADICIONAL * FATORIAL		Explantos brotados (%)	Comprimento de brotação (cm)	Qualidade de Brotação	Número de gemas/ brotação	Número de folhas/brotação	Tamanho das folhas
Adicional (Testemunha)		95,00	4,72	2,79	5,51	5,51	2,52
Fatorial		96,94	4,55	2,86	5,15	5,15	2,58

(*) significativo ao nível de probabilidade (0,01 ≤ p < 0,05); (ns) não significativo (p ≥ 0,05); GL= grau de liberdade e CV = coeficiente de variação; TRAT= Tratamentos; Médias seguidas de mesma letra na coluna, não diferem entre si pelo teste F.

TABELA 15 – RESUMO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA DAS VARIÁVEIS AÉREAS NA ETAPA DE ACLIMATIZAÇÃO EX VITRO DA VIDEIRA 'SOUTHERN HOME' CULTIVADAS EM VERMICULITA EM LABORATÓRIO. UFPR, CURITIBA/PR, 2021.

Variáveis aéreas (p-Valor)									
FONTE DE VARIAÇÃO	GL	Sobrevivência das plantas	Comprimento das plantas	Ganho em crescimento	Qualidade das plantas	Número de gemas por planta	Ganho de gemas/planta	Número de folhas/planta	CV %
Concentração (C)	2	0,3798 ns	0,3504 ns	0,9529 ns	0,8473 ns	0,5019 ns	0,5619 ns	0,5019 ns	5,61
Regulador (R)	2	0,3798 ns	0,3959 ns	0,3376 ns	0,6115 ns	0,0281 *	0,7174 ns	0,028 *	17,99
Interação (C*R)	4	0,4229 ns	0,1811 ns	0,7493 ns	0,4671 ns	0,5281 ns	0,9451 ns	0,5281 ns	
Adicional * Fatorial	1	0,3253 ns	0,5424 ns	0,3963 ns	0,0039 *	0,8804 ns	0,2141 ns	0,8804 ns	
	0		8,35	19,51	2,41	5,61			
Médias									
CONCENTRAÇÃO (C)		Sobrevivência das plantas (%)	Comprimento das plantas (cm)	Ganho em crescimento (cm)	Qualidade das plantas	Número de gemas por planta	Ganho de gemas/ plantas	Número de folhas por planta	
0,2 µM		100	8,20	3,85	2,95	7,37	2,30	7,37	
0,4 µM		100	8,46	3,91	2,94	7,37	2,27	7,37	
0,8 µM		100	8,61	3,82	2,93	7,55	2,14	7,55	
Médias									
REGULADORES (R)		Sobrevivência das plantas (%)	Comprimento das plantas (cm)	Ganho em crescimento (cm)	Qualidade das plantas	Número de gemas por planta	Ganho de gemas/ plantas	Número de folhas por planta	
IAA		100	8,52	3,60	2,93	7,67 a	2,30	7,67 a	
NAA		100	8,55	3,98	2,93	7,43 ab	2,17	7,43 ab	
IBA		100	8,20	4,00	2,95	7,19 b	2,14	7,19 b	
Médias									
TRAT. ADICIONAL * FATORIAL		Sobrevivência das plantas (%)	Comprimento das plantas (cm)	Ganho em crescimento (cm)	Qualidade das plantas	Número de gemas por planta	Ganho de gemas/ plantas	Número de folhas por planta	
Trat. Adicional(TESTEMUNHA)		100	8,20	3,52	2,82 b	7,40	1,97	7,40	
Fatorial		100	8,42	3,86	2,94 a	7,43	2,24	7,43	

(*) significativo ao nível de probabilidade (0,01 ≤ p < 0,05); (ns) não significativo (p ≥ 0,05); GL= grau de liberdade e CV = coeficiente de variação; TRAT= Tratamentos; Médias seguidas de mesma letra na coluna, não diferem entre si pelo teste F.

TABELA 16 – RESUMO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA DAS VARIÁVEIS SOBREVIVÊNCIA E QUALIDADE DAS PLANTAS NA ETAPA DE ACLIMATIZAÇÃO *EX VITRO* DA VIDEIRA ‘SOUTHERN HOME’ EM SUBSTRATO COMERCIAL F44 CLASSE “A” MARCA AGROFIOR® EM CASA DE VEGETAÇÃO. UFPR, CURITIBA/PR, 2021.

FONTE DE VARIAÇÃO	GL	Variáveis (p-valor)	
		Sobrevivência das plantas	Qualidade das plantas
Concentração (C)	2	0,3798 ns	0,1387 ns
Regulador (R)	2	0,3798 ns	0,4685 ns
Interação (C*R)	4	0,4229 ns	0,2437 ns
Adicional * Fatorial	1	0,3253 ns	0,0012 *
CV %		0	1,69
Médias			
		Sobrevivência das plantas (%)	Qualidade das plantas
CONCENTRAÇÃO (C)			
0,2 µM		100	2,95
0,4 µM		100	2,96
0,8 µM		100	2,99
Médias			
		Sobrevivência das plantas (%)	Qualidade das plantas
REGULADORES (R)			
IAA		100	2,93
NAA		100	2,96
IBA		100	2,95
Médias			
		Sobrevivência das plantas (%)	Qualidade das plantas
TRAT. ADICIONAL * FATORIAL			
Trat. Adicional (TESTEMUNHA)		100	2,87 b
Fatorial		100	2,96 a

(*) significativo ao nível de 5% de probabilidade ($0,01 \leq p < 0,05$); (ns) não significativo ($p \geq 0,05$); GL= grau de liberdade e CV = coeficiente de variação; TRAT= Tratamentos; Médias seguidas de mesma letra na coluna, não diferem entre si pelo teste F.

FIGURA 22 – PLANTAS DA VIDEIRA ‘SOUTHERN HOME’ ACLIMATADAS EM LABORATÓRIO E EM VERMICULITA SEM O USO ANTERIOEMENTE DE AUXINAS EM MEIO DE CULTIVO WPM MODIFICADO *IN VITRO* (A) E PLANTAS ACLIMATADAS EM LABORATÓRIO E VERMICULITA CULTIVADAS ANTERIAMENTE NA PRESENÇA DE IBA (B, C e D), NAA (E, F e G) E IAA (H, I e J) EM MEIO DE CULTIVO WPM MODIFICADO. UFPR, CURITIBA/PR, 2021.

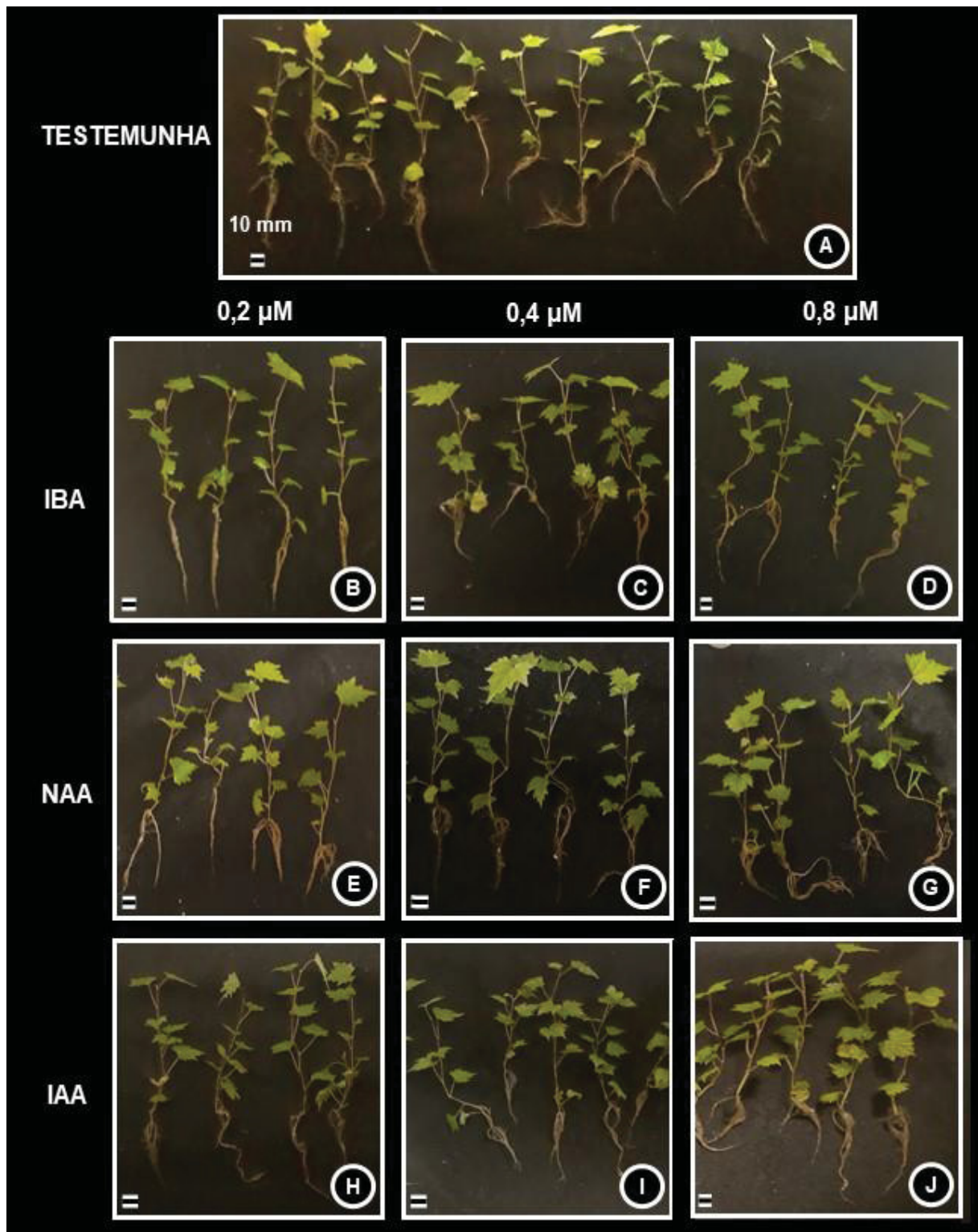
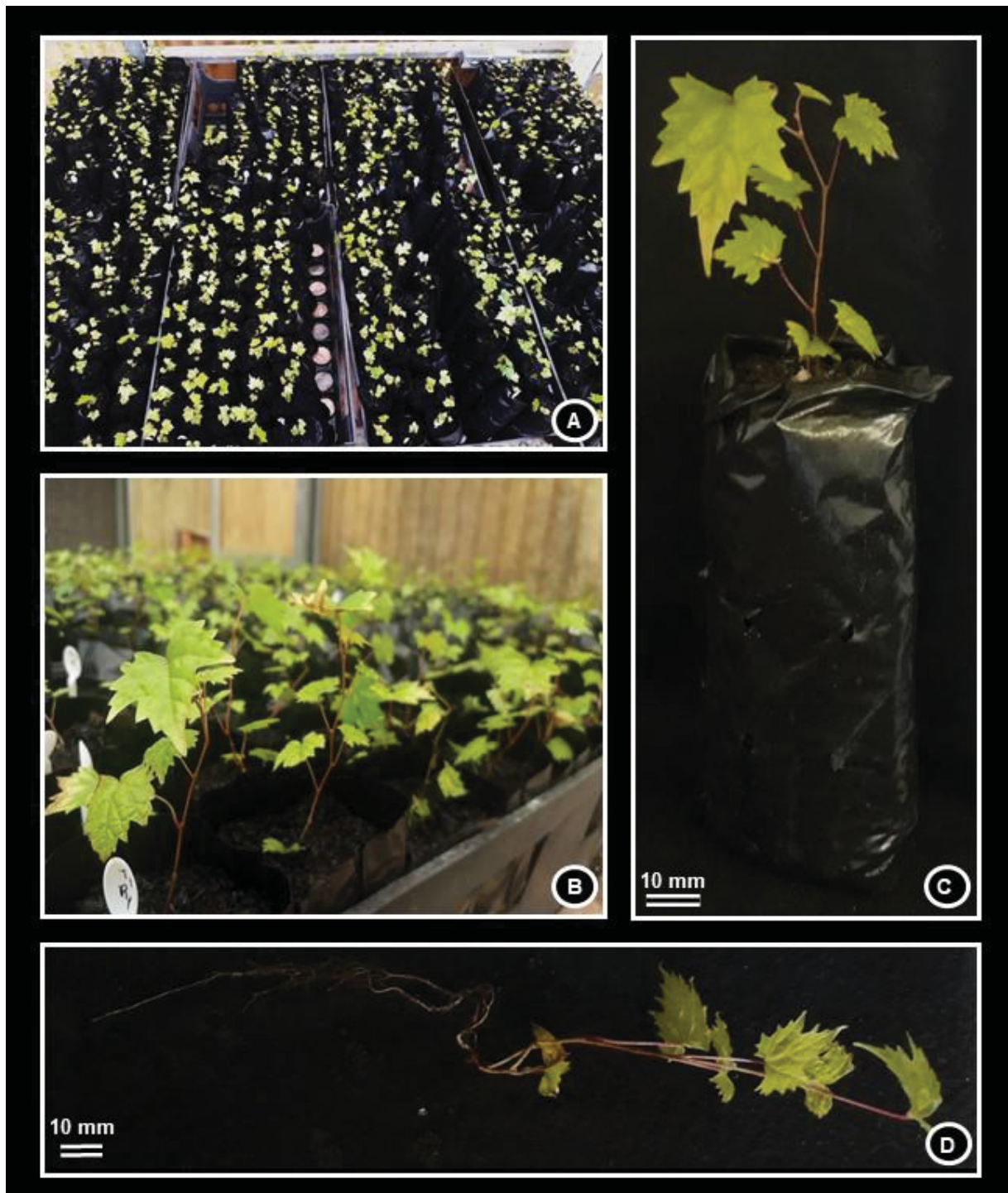


FIGURA 23 – ACLIMATIZAÇÃO *EX VITRO* DA VIDEIRA 'SOUTHERN HOME' EM CASA DE VEGETAÇÃO. UFPR, CURITIBA/PR, 2021.



5 DISCUSSÃO

O presente estudo mostrou que o meio de cultura WPM modificado foi superior no estabelecimento *in vitro* da videira 'Southern Home'. Já na etapa seguinte (indução de brotação), o maior desenvolvimento das plantas foi identificado no meio de cultura WPM. Inversamente a isto, em ambas as etapas o menor desenvolvimento das plantas foi observado no MS, que é o meio de cultura mais utilizado no cultivo *in vitro* de plantas.

Uma possível explicação para estes resultados seria o fato que o meio WPM e WPM modificado apresentam menores concentrações de nutrientes em sua composição, possuindo apenas 45 % da força iônica do meio de cultura MS (NUNES et al., 2002; CAMILLO et al., 2009). O WPM é composto em média por quatro vezes menos nitrogênio e potássio em sua concentração do que o meio MS (LU, 2005). Além do mais, o teor total de nitrogênio disponível nas formas de NO_3^- e de NH_4^+ no meio de cultura WPM totaliza em torno de 14,7 μM (MELO et al., 1999; CAMILLO et al., 2009). Em compensação para o meio de cultura MS a concentração de nitrogênio total disponível (NO_3^- e NH_4^+) é em torno de 60 μM (MELO et al., 1999).

Além disto, o meio MS apresenta uma elevada porcentagem de nitrogênio disponível na forma de íon amônio (34,4%) (SANTA-CATARINA et al., 2001). O que pode ser um fator limitante no desenvolvimento de algumas espécies de plantas devido à alta concentração de nitrogênio na forma amoniacal (VILLA et al., 2012).

O bom desenvolvimento dos explantes no meio WPM modificado também pode ser decorrente da presença do dobro de ferro em sua composição, em comparação a todos meios de cultura testados. O ferro é um micronutriente importantíssimo para o bom desenvolvimento das plantas, pois participa de processos metabólicos importantes, como fotossíntese, respiração, síntese de DNA e aumenta a fixação de nitrogênio (SAHRAWAT, 2004; TAIZ; ZEIGER, 2017). Quando disponibilizado em concentrações adequadas, o ferro permite bom crescimento e desenvolvimento das plantas *in vitro*.

Além dos meios de cultura, o uso de citocininas em concentrações adequadas contribuiu para o sucesso do desenvolvimento das plantas *in vitro*. As citocininas se caracterizam por serem essenciais na etapa de indução de brotação (MHATRA et al., 2000). Sendo que, a concentração ótima de citocininas variam entre genótipos e entre as fases de desenvolvimento das plantas (IBANEZ et al., 2003; POUDEL et al., 2005).

Neste estudo, a concentração de 1,0 μM de ZEA proporcionou o maior desenvolvimento das brotações da videira 'Southern Home' e isto pode ser decorrente do fato que, em condições adequadas para cada espécie vegetal, as citocininas aumentam a síntese de RNA e proteínas, aumentam a atividade enzimática, promovem a divisão celular e promovem o afrouxamentos das paredes celulares, o que acarretará no bom crescimento e desenvolvimento dos tecidos vegetais (KULAEVA, 1980; SILVA et al., 2007; AREMU et al., 2014; GOELZER et al., 2019).

No presente estudo à medida que aumentou a concentração de citocinina no meio de cultivo principalmente de BAP até a concentração de 5,0 μM , houve um aumento na porcentagem de brotação, todavia, essas brotações tiveram redução da qualidade, além de apresentarem sintomas de hiperhidricidade, menor crescimento de brotação, menor número de gemas e maior formação de calo na base dos explantes. O desenvolvimento reduzido das plantas em altas concentrações de citocininas, pode ser decorrente do aumento da atividade da citocinina oxidase, o qual, ao invés de regular as taxas endógenas de citocininas, simplesmente, ela pode ter inibido a ação das citocininas nos tecidos vegetais, não permitindo a divisão celular nos tecidos vegetais (AREMU et al., 2014).

Além do mais, este menor desenvolvimento também pode estar relacionado com a elevada e rápida produção de etileno nos tecidos vegetais (MOK; MOK, 2001; KHAN et al., 2015). O que resulta em baixo desenvolvimento da parte área das plantas, baixo crescimento de brotos e em um encurtamento de internódios (KHAN et al., 2015). Corroborando com nossos resultados, Gray e Benton (1991) trabalhando com diferentes cultivares de muscadíneas (*Vitis rotundifolia*), observaram um menor desenvolvimento das plantas na concentração de 5,0 μM de BAP em meio WPM.

Neste estudo evidenciou-se que concentrações elevadas de citocininas no meio de cultivo (2,5 e 5,0 μM), principalmente as sintéticas (BAP) favoreceram o aparecimento de distúrbios fisiológicos nos tecidos vegetais da videira 'Southern Home' como a hiperhidricidade. Este distúrbio fisiológico (hiperhidricidade) pode ser decorrente de uma absorção exagerada de água pelas vias apoplásticas e conseqüentemente seu acúmulo nos tecidos vegetais (GAO et al., 2018). O que desencadeia a redução das trocas gasosas, hipóxia celular, alterações nas trocas gasosas de CO_2 e etileno, acúmulo de gases nos tecidos vegetais, além da criação de um ambiente celular estressante, limitando desta forma o bom desenvolvimento dos tecidos vegetais (VASCONCELOS et al., 2012). Além disso, pode afetar os

processos respiratórios, diminuindo a disponibilidade de ATP produzida pelas mitocôndrias por meio da fosforilação oxidativa, prejudicando assim o desenvolvimento das plantas (SAHER et al., 2005).

A ausência de citocininas no meio de cultivo promoveu redução do crescimento e do desenvolvimento das brotações da videira 'Southern Home'. Todavia, a ausência de citocininas no meio de cultivo permitiu a menor formação de calo na base dos explantes, o que é excelente, uma vez que a formação de calo pode reduzir a assimilação de nutrientes (GUTIERREZ-ROSATI; GONZALES, 2019). Corroborando com estes resultados, Kwon et al. (2019) verificaram que em meio de cultura sem citocininas não promoveu a indução e o desenvolvimento de brotos na etapa de multiplicação *in vitro* da videira *Vitis amurensis* 'Cheongsan'.

O desenvolvimento reduzido dos explantes no meio sem regulador vegetal mostra que o conteúdo endógeno de citocinina, nos tecidos vegetais, estava abaixo da concentração ideal para que houvesse a indução de brotação das gemas e, conseqüentemente, para que houvesse o estímulo para o desenvolvimento das brotações.

O enraizamento é uma fase muito importante na micropropagação das plantas, no entanto, se caracteriza por ser uma etapa difícil e complicada em muitas espécies vegetais, sendo desta forma altamente influenciada pelo tipo de auxinas e pelo genótipo em estudo (RADMANN et al., 2002; KWON et al., 2019).

O sucesso no enraizamento pode determinar a sobrevivência das mudas nas fases seguintes, principalmente a de aclimatização das plantas (ROCHA et al., 2008). Em nosso estudo o meio de cultura sem auxinas proporcionou 95,00% de explantes enraizados e o meio de cultura acrescido de auxinas proporcionou 99,94% de explantes enraizados, sendo que IAA e NAA permitiram maior número de raízes por explante (2,48 e 2,19) e o maior número de gemas e folhas (5,42 e 5,7).

Estes resultados demonstram que o conteúdo endógeno de auxinas na videira 'Southern Home' foi suficiente para promover o processo rizogênico de desenvolvimento de raízes *in vitro*. E que a presença de auxina exógena no meio de cultivo promove um aumento da atividade mitótica, da divisão celular, da diferenciação celular, do alongamento celular, do controle das atividades das enzimas IAA oxidase e peroxidase, promovendo assim um ambiente propício e favorável para o desenvolvimento de raízes (QADDOURY; AMASSA, 2004; LASKOWSKI et al., 2008; LIMA et al., 2016; TAIZ; ZEIGER, 2017; JAGIELLO-KUBIEC et al., 2021).

Corroborando com estes resultados, Kwon et al. (2019) trabalhando com *Vitis amurens* 'Cheongsan' obteve 41,7% de explantes enraizados em meio de cultura MS sem auxinas e de 68,9% de explantes enraizados em meio com as auxinas (IBA, NAA e IAA) em concentrações que variam de 0 a 1,0 μM .

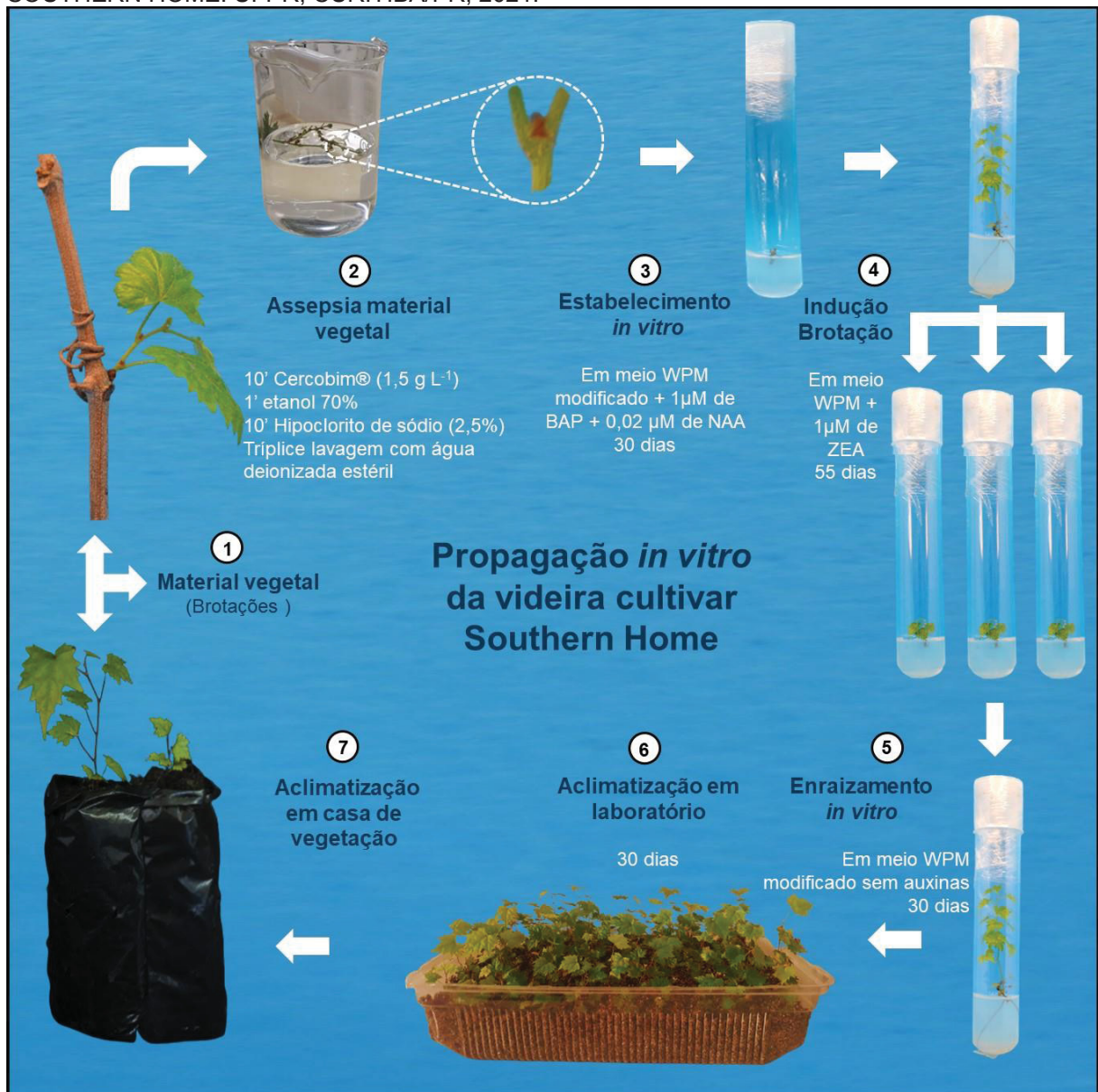
A fase de aclimatização das mudas é bastante delicada, no entanto, fundamental para a sobrevivência das mudas no campo. Neste estudo, tanto na etapa de aclimatização em laboratório como na aclimatização em casa de vegetação, as plantas micropropagadas *in vitro* apresentaram 100% de sobrevivência e apresentaram ótima qualidade em todos os tratamentos. A excelente taxa de sobrevivência na aclimatização das plantas pode ser decorrente do genótipo, uma vez que as muscadíneas, de forma geral, possuem alta adaptação a condições variáveis de temperaturas (calor e inverno) e à variação de ambientes, por possuírem alta rusticidade e por apresentarem tolerância/resistência a muitas doenças (XIE et al., 2015; HICKEY et al., 2019). Como prova, Compton e Gray (1994) obtiveram 90% de sobrevivência das plantas na aclimatização da videira 'Southern Home' em condições de aclimatização em laboratório e em estufa, utilizando vermiculita grossa + Pro Mix BX (Premier Brands, Inc., NY).

6 CONCLUSÕES

Foi estabelecido um protocolo eficiente de micropropagação do híbrido de videira ‘Southern Home’, com a garantia de produção de mudas de qualidade (FIGURA 24).

Desta forma, a introdução *in vitro* da videira ‘Southern Home’ deve ser realizada em meio WPM modificado, a indução de brotação no meio WPM acrescido de 1 μM de ZEA e não se faz necessário o uso de auxinas para o enraizamento *in vitro* e para o sucesso da aclimatização *ex vitro* da videira ‘Southern Home’.

FIGURA 24 - PROTOCOLO DE MICROPROPAGAÇÃO DA VIDERA MUSCADÍNEA CULTIVAR SOUTHERN HOME. UFPR, CURITIBA/PR, 2021.



REFERÊNCIAS

- ABIDO, A.; ALY, M.; HASSANEN, S.; RAYAN, G. *In vitro* propagation of grapevine (*Vitis vinifera* L.) 'Muscat of Alexandria' for conservation of endangerment. **Middle East Journal**, v. 13, n. 3, p. 328-337, 2013. DOI: 10.5829/idosi.mejsr.2013.13.3.1926
- ALI, N.; AFRASIAB, H.; ANWAR, S. Micropropagation and acclimatization of European varieties of grapes (*Vitis vinifera* L.). **International Journal of Advances in Biology (IJAB)**, v. 4, n. 1/2/3, p. 1-11, 2017. DOI: 10.5121/ijab.2017.4301
- AMIRI, S.; MOHAMMADI, R.; AKBARI, R. The effects of cytokinin and auxin interactions on proliferation and rooting of seedless grapevine (*Vitis vinifera* L.) cv. Sultanine. **Erwerbs-Obstbau**, v. 61, n. 1, p. 85–92, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10341-019-00456-0>
- AGIELLO-KUBIEC, K.; NOWAKOWSKA, K.; ILCZUK, A. Optimizing micropropagation conditions for a recalcitrant ninebark (*Physocarpus opulifolius* L. maxim.) cultivar. **In Vitro Cellular and Developmental Biology - Plant**, v. 57, s/n, p. 281-295, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11627-020-10154-0>
- AAZAMI M.A. Effect of some growth regulators on “in vitro” culture of two *Vitis vinifera* L. cultivars. **Romanian Biotechnological Letters**, v. 15, n. 3, p. 5229-5232, 2010.
- AREMU, A.O.; PLACKOVÁ, L.; BAIRU, M.W.; NOVÁK, O.; SZUOEVÁ, L.; DOLEŽAL, K.; FINNIE, J.F.; VAN STADEN, J. Endogenous cytokinin profiles of tissue-cultured and acclimatized 'Williams' bananas subjected to different aromatic cytokinin treatments. **Plant Science**, v. 214, s/n. p. 88–98, 2014.
- BANILAS, G.; KORKAS, E. Rapid micropropagation of grapevine cv. Agiorgitiko through lateral bud development. **E-Journal of Science and Technology**, v. 2, s/n, p. 31–38, 2007.
- BARBIERI, R. L.; STUMPF, E. R. T. **Origem e evolução de plantas cultivadas**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2008.
- BARCHENGER, D.W.; CLARK, J.R. Evaluation of physicochemical and storability attributes of muscadine grapes (*Vitis rotundifolia* Michx.). **Hortscience**, v. 50, n. 1, p. 104–111, 2015.
- BARRETO, M. S.; NOOKARAJU, A. Effect of auxin types on in vitro rooting and acclimatization of grapevine as influenced by substrates. **Indian Journal of Horticulture**, v. 64, s/n. p. 5-11, 2007.
- BASSAN, J.S.; REINIGER, L.R.; ROCHA, B.H. G.; SEVERO, C.R.P.; FLORES, A.V. Oxição fenólica, tipo de explante e meios de cultura no estabelecimento *in vitro* de canafístula (*Peltophorum dubium* (SPRENG.) TAUB.) **Ciência Florestal**, v. 16, n. 4, p. 381-390, 2006. DOI: <https://doi.org/10.5902/198050981919>.

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

BONA, C.M.; GOULD, J.H.; CREIGHTON MILLER, J.; MCEACHERN, G.R.; SETAMU, M.; LOUZADA, E.S. In vitro micropropagation of nine grape cultivars. **Subtropical Plant Science**, v. 59, s/n. p. 56-63, 2007.

BORGHEZAN, M.; MORAES, L. K. A.; MOREIRA, F. M.; SILVA, A. L. Propagação in vitro e avaliação de parâmetros morfofisiológicos de porta-enxertos de videira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.38, n.8, p.783-789, 2003.

BROWN, K.; SIMS, C.; ODABASI, A.; BARTOSHUK, L.; CONNER, P.; GRAY, D. Consumer acceptability of fresh market muscadine grapes. **Journal of Food Science**, v. 11, n. 81, p. S2808-S2816, 2016. DOI: 10.1111/1750-3841.13522.

CABRAL, G.B.; PIRES, M.V.V.; LACERDA, A.L.; CARNEIRO, V.T.C. **Introdução in vitro, micropropagação e conservação de plantas de *Brachiaria* sp.** Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2003. Comunicado Técnico.

CAMARGO, U. A. Melhoramento genético da videira. In: SOUZA LEÃO, P. C.; SOARES, J. M. **A vitivinicultura no Semi-Árido brasileiro**. Petrolina: Embrapa Semi-Árido, 2000.

CAMILLO, J.; SCHERWINSKI-PEREIRA, J.E.; VIEIRA, R.G.; PEIXOTO, J.R. Conservação in vitro de *Cochlospermum regium* (Schrank) Pilg.- Cochlospermaceae sob regime de crescimento mínimo. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.11, n.2, p.184-189, 2009.

CARVALHO, J. M. F. C.; SILVA, M. M. A.; MEDEIROS, M. J. L. **Fatores inerentes a micropropagação**. Campina Grande: Embrapa Algodão, 2006. Documentos, 148.

CASTRO, P. R. C.; PITELLI A. M. C. M.; PERES L. E. P.; ARAMAKI, P. H. Análise da atividade reguladora de crescimento vegetal de Tiametoxam através de biotestes. **Ciências Exatas Terra, Ciências Agronômicas e Engenharia**, v. 13, n. 3, p. 25-29, 2007.

CAO, S.; STRINGER, S.; GUNAWAN, G.; MCGREGOR, C.; CONNER, P. Genetic diversity and pedigree analysis of muscadine grape using SSR markers. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v. 145, n. 3, p. 143–151, 2020. DOI: <https://doi.org/10.21273/JASHS04856-20>

CHÉE, R.; POOL, RM. In vitro propagation of *Vitis*: the effects of organic substances on shoot multiplication. **Vitis**, v. 24, s/n. p. 106-118, 1985.

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

CONNER, P.J. Performance of muscadine grape cultivars in southern Georgia. **Journal of the American Pomological Society**, v. 63, n. 3, p. 101-107, 2009.

CONNER, P.J. A century of muscadine grape (*Vitis rotundifolia* Michx.) breeding at the University of Georgia. **Journal of the American Pomological Society**, v. 64, s/n, p. 78-82, 2010.

COMPTON, M.E.; GRAY, D.J. Micropropagation of 'Southern Home' hybrid grape. **Proceedings of the Florida State Horticultural Society**. v.107, s/n, p. 308-310, 1994.

CORTES, A.; JEOVANNA, A.G.; DAVID, A.C.; MELIDA, S. Principales reguladores hormonales y sus interacciones en el crecimiento vegetal. **NOVA**, v. 17, n. 32, p. 109-129, 2019. DOI: <https://doi.org/10.25058/24629448.3639>

DIAB, A.A.; KHALIL, S.M.; ISMAIL, R.M.; Regeneration and micropropagation of grapevine (*Vitis vinifera* L.) through shoot tips and axillary buds. **International Journal of Advanced Biotechnology**, v. 2, s/n, p. 484-491, 2011.

DÍAZ-PÉREZ, J.C.; SUTTER, E.G.; SHACKEL, K.A. Acclimatization and subsequent gas-exchange, water relations, survival and growth of microcultured apple plantlets after transplanting them in soil. **Physiologia Plantarum**, v. 95, s/n, p. 225-232, 1995.

DOGAN, M. Effect of pre-treatment of zeatin on multiple shoot regeneration from leaf explants of aquatic plant *Bacopa monnieri* (L.) Wettst. **Journal of Anatolian Environmental and Animal Sciences**, v. 4, n. 2, p. 161-165, 2019. DOI: <https://doi.org/10.35229/jaes.557425>

DOGAN, M. Zeatin ve farklı oksin kombinasyonlarının önemli tıbbi bitki *Limnophila aromatica* (Lamk.) Merr.'nin in vitromikroçoğaltımı üzerine etkisi. **KSÜ Tarım ve Doğa Derg**, v. 22. n. 2, p. 323-329, 2019. DOI: 10.18016/ksutarimdogavi.555790

DONATO, V. M. T. S.; ANDRADE, A. G. TAKAKI, G.M.C.; MARIANO, R. L.R.; MACIEL, G.A. Plantas de cana-de-açúcar cultivadas *in vitro* com antibióticos. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 29, n. 1, p. 134-141, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1413-70542005000100017>

DZAZIO, P.M.; BIASI, L.A.; ZANETTE. Micropropagação do porta-enxerto de videira '420-A'. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 24, n. 3, p. 754-764, 2002.

ECCO, M.; MORAIS, W.G.; REUTER, R.J.; POTTKER, V.L.; LENHARDT, V.L.; VANZELLA, T. Uso de diferentes tratamentos de bioestimulante vegetal na cultura da soja. **Revista Científica Rural**, v. 21, n. 2, p. 269-283, 2019.

FARIA, G.A.; JUNIOR, L.H.S.; LOPES, B.G.; FERREIRA, A.F.A.; OLIVEIRA, C.P.M.; ROCHA, P.S. Definição do protocolo e técnicas estatísticas para otimizar o estabelecimento *in vitro* de *Passiflora foetida*. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 10, s/p., 2020. DOI: <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v9i10.9378>

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS (FAO). Disponível em: <http://www.fao.org/faostat/> . Acesso em: 25 março 2021.

FERREIRA, E.A.; PASQUAL, M.; MENDONÇA, V.; FELDBERG, N. P. Influência de diferentes substratos e fertilizantes na aclimatização de plantas de figueira (*Ficus carica* L.) **Caatinga**, v. 21, n. 5, p. 64-68, 2008.

GALZY, R. Confirmation de la nature virale du courtnoué de la vigne par des essais de thermotherapie surdes cultures in vitro. **Comptes Rendus de l' Académiedes Sciences**, v. 253, s/n. p. 706-708, 1961.

GAO, H.; Li, J.; Ji, H.; An, L.; Xia, X. Hyperhydricity-induced ultrastructural and physiological changes in blueberry (*Vaccinium* spp.). **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 133, n. 1, p. 65–76, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11240-017-1361-x>

GARAY-ARROYO, A.; SÁNCHEZ, M.D.L.P.; GARCÍA-PONCE, B.; ÁLVAREZ-BUYLLA, E.R.; GUTIÉRREZ, C. La Homeostasis de las Auxinas y su Importancia en el Desarrollo de *Arabidopsis thaliana*. **Revista de Educación Bioquímica**, v. 33, n. 1, p.13–22, 2014.

GOELZER, A.; DÉO, T.G.; LOPES, G.B.; DAMIANI, C.R. Reguladores de crescimento na multiplicação *in vitro* de *Campomanesia adamantium* (Cambess.) O. Berg (Myrtaceae). **Brazilian Applied Science Review**, v. 3, n. 2, p. 1280-1291, 2019.

GOLLE, D.P.; REINIGER, L.R.S.; CURTI, A.R.; LEÓN, E.A.B. Estabelecimento e desenvolvimento *in vitro* de *Eugenia involucrata* dc. influência do tipo de explante e do meio nutritivo. **Ciência Florestal**, v. 22, n. 1, p. 207-214, 2012.

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO; M. Micropropagação In: TORRES, A.C.; CALDAS, L.S. **Técnicas e Aplicações de Cultura de tecidos de plantas**. EMBRAPA Hortaliças, 1990.

GRAY, D.J.; BENTON, C.M. In vitro micropropagation and plant establishment of muscadine grape cultivars (*Vitis rotundifolia*). **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 27, n. 1, p. 7-14, 1991.

GRAY, D.J.; FISHER, L.C. In vitro shoot propagation of grape species, hybrids and cultivars. **Proceedings of the Florida State Horticultural Society**, s/v. n. 98, p.172-174, 1985.

GUTIERREZ-ROSATI, A.; GONZALES, P. Reguladores de crecimiento en el cultivo in vitro de tres cultivares porta injertos de vid (*Vitis vinifera* L.) para su uso en la industria del pisco. **Scientia Agropecuaria**, v. 10, n. 4, p. 461-468, 2019.

HAISSIG, B.E. Meristematic activity during adventitious root primordium development: influences of endogenous auxin and applied gibberellic acid. **Plant Physiology**, v. 49, n.6, p. 886–892, 1972. DOI: 10.1104 / pp.49.6.886

HARTMANN, H.T. **Plant propagation: principles and practices**. New Jersey: Prentice Hall, 2002.

HAZARIKA, B.N. Morpho-physiological disorders in vitro culture of plants. **Scientia Horticulturae**, v. 108, n. 2, p. 105-120, 2006. DOI: 10.1016/j.scienta.2006.01.038

HELOIR, M.C.; FOURNIOUX, J.C.; OZIOL, L.; BESSIS, R. An improved procedure for the propagation in vitro of grapevine (*Vitis vinifera* cv. Pinot Noir) using axillary bud microcuttings. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 49, s/n, p. 223–225, 1997. DOI: <https://doi.org/10.1023/A:1005867908942>

HICKEY, C.C.; SMITH, E.D.; CAO, S.; CONNER, P. Muscadine (*Vitis rotundifolia* (Michx.), syn and *Muscandinia rotundifolia* (Michx.) Small): The resilient, native grape of the southeastern U.S. **Agriculture**, v. 9, n. 131, p. 2-3, 2019. DOI:10.3390/agriculture9060131

IBAÑES, A.; VALERO, M.; MORTE, A. Establishment and in vitro clonal propagation of the Spanish autochthonous table grapevine cultivar Napoleon: an improved system where proliferating cultures alternate with rooting ones. **Anales de Biología**, v. 27, s/n, p. 211-220, 2005.

ILCZUK, A.; JACYGRAD, E. In vitro propagation and assessment of genetic stability of acclimated plantlets of *Cornus alba* L. using RAPD and ISSR markers. **In Vitro Cellular and Developmental Biology – Plant**, v. 52, n. 4, p. 379–390, 2016.

JAGIELLO-KUBIEC, K.; NOWAKOWSKA, K.; ILCZUK, A.; LUKASZEWSKA, A.J. Optimizing micropropagation conditions for a recalcitrant ninebark (*Physocarpus opulifolius* L. maxim.) cultivar. **In Vitro Cellular and Developmental Biology - Plant.**, v. 57, n. 4, p. 281-295, 2021. DOI:10.1007/s11627-020-10154-0

JASKANI, M.J.; ABBAS, H.; SULTANA, R.; KHAN, M.M.; QASIM, M.; KHAN, I.A. Effect of growth hormones on micropropagation of *Vitis vinifera* L. cv. Perlette. **Paquistão Journal of Botany**, v. 40, n. 1, p. 105–109, 2008.

KEVERS, C.; FRANCK T.; STRASSER, R.J.; DOMMES, J.; GASPER, T. Hyperhydricity of micropropagated shoots: a typically stress-induced change of physiological state. **Plant Cell, Tissue and Organ culture**, v. 77, n. 2, p. 181- 191, 2004. DOI: 10.1023 / B: TICU.0000016825.18930.e4

KHAN, N.; AHMED, M.; HAFIZ, I.; ABBASI, N.; EJAZ, S.; ANJUM, M. Optimizing the concentrations of plant growth regulators for in vitro shoot cultures, callus induction and shoot regeneration from calluses of grapes. **Journal international des Sciences de la vigne et du vin**, v. 49, n. 1, p. 37-45, 2015. DOI: <https://doi.org/10.20870/oenone.2015.49.1.95>

KULAEVA, O.N. Cytokinin action on enzyme activities in plants. In: Skoog F. (eds) **Plant growth substances. Proceedings in Life Sciences**. Berlin: Springer, 1980.

KUMSA, F. Review on in vitro regeneration of some selected grapevines (*Vitis vinifera* L.) cultivars from shoot and leaf culture. **Journal of Natural Sciences Research**, v. 6, n. 23, p. 46-51, 2016.

KWON, J.H.; PARK, Y.S.; KIM, S.H.; HEO, J.J. Evaluation of genetic stability and effects of plant growth regulators for *in vitro* propagation of underutilized *Vitis amurensis* 'Cheongsan'. **Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca**, v. 47, n. 3, p. 987-994, 2019. DOI:<https://doi.org/10.15835/nbha47311599>

LASKOWSKI, M.; GRIENEISEN, V. A.; HOFHUIS, H.; TEN HOVE, C. A.; HOGEWEG, P.; MARÉE, A. F. M; SCHERES, B. Root system architecture from coupling cell shape to auxin transport. **Plos Biology**, v. 6, n. 12, p. 2721-2735, 2008.

LEMES, C. S. R.; SORGATO, J. C.; SOARES, J. S.; ROSA, Y. B. C. J.; Meios de cultivo e sacarose no crescimento inicial *in vitro* de *Miltonia flavescens*. **Ciência Rural**, v. 46, n. 3., p. 499-505, 2016.

LEITZKE, L.N, DAMIANI, C.R.; SCHUCH, M.W. Multiplicação e enraizamento *in vitro* de amoreira-preta 'Xavante': efeito da concentração de sais, do tipo de explante e de carvão ativado no meio de cultura. **Ciência Agrotecnologia**, v. 33, s.n., p. 1959-1966, 2009. DOI: <https://dx.doi.org/10.1590/S1413-70542009000700045>

LIMA, A.B.; ALBUQUERQUE, M.M.S.; RESENDE, S.V.; CARNEIROS, C.E.; SANTANA, J.R.F. Rustificação *in vitro* em diferentes ambientes e aclimatização de microplantas de *Comanthera mucugensis*. **Revista Ciência Agrônômica**, v. 47, n. 1, p. 152-161, 2016.

LU, M.C. Micropropagation of *Vitis thunbergii* Sieb. et Zucc., a medicinal herb, through high-frequency shoot tip culture. **Scientia Horticulturae**, v. 107, n. 1, p. 64-69, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2005.05.014>

LLOYD, G.; MCCOWN, B. Commercially-feasible micropropagation of mountain laurel, *Kalmia latifolia*, by use of shoot-tip culture. **Int. Plant Propagators' Society**. v. 30, s/n. p. 421-427, 1980.

MACHADO, M. P.; BIASI, L.A.; RITTER, M.; RIBAS, L.P.; KOEHLER, H.S. Multiplicação *in vitro* do porta enxerto de videira "VR043-43" (*Vitis vinifera* x *Vitis rotundifolia*). **Ciência e Agrotecnologia**, v. 30, n. 4, p. 648-655, 2006. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S1413-70542006000400009>

MACHADO, M. P.; BIASI, L.A.; RITTER, M.; RIBAS, L.P.; KOEHLER, H.S.; ZANETTE, F.; Meios de cultura na micropropagação do porta-enxerto de videira "VR043-43" (*Vitis vinifera* x *Vitis rotundifolia*). **Ciência Rural**, v.37, n.1, p. 277-280, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0103-84782007000100046>.

MARCUZZO, K.V.; MELO, B.; CARVALHO, H.; TEODODRO, R.E.F.; SEVERINO, G.M.; ALVARENGA, C.B. Desenvolvimento de mudas de cafeeiro (*Coffea arabica* L.) em diferentes substratos e doses de fertilizantes de liberação gradual. **Bioscience Journal**, v. 21, n. 1, p. 57-69, 2005.

MELYAN, G.; SAHAKYAN, A.; HARUTYUNYAN, A. Micropropagation of grapevine (*Vitis vinifera* L.) seedless cultivar 'Parvana' through lateral bud development. **Vitis**, v. 54, s/n. p. 253–255, 2015.

MHATRE, M.; SALUNKHE, C.K.; RAO, O.S. Micropropagation of *Vitis vinifera* L.: towards an improved protocol. **Scientia Horticulturae**. v.84, s/n, p.357–363, 2000.

MELO, N.F.; OKASAKI, W.Y.; LEITE, C; B.; FÁRI, M. Estabelecimento do cultivo in vitro da aceroleira (*Malpighia emarginata* dc.). **Ciência e Agrotecnologia**, v. 23, n. 1, p.102-107, 1999.

MOK, D.W.S.; MOK, M.C. Cytokinins: chemistry, activity and function. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v. 52, s/n, p. 15-35, 2001.

MORTENSEN, J.; J. HARRIS, D.; HOPKINS; ANDERSON, P. 'Southern Home': An interspecific hybrid grape with ornamental value. **Scientia Horticulturae**, v. 29, n. 11, p.1371-1372, 1994. DOI: <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.29.11.1371>

MOZAFARI, AA.; GHORAISHI, O.; GHADERI, N.; JAVADI, T. Micropropagation of grape cultivars (*Vitis vinifera* L.) on different basal media supplemented with benzyl adenine. **Agriculturae Conspectus Scientificus**, v.81, n.3, p.123-129, 2016.

MUKHERJEE, P.; HUSAIN, N.; MISRA, S.C.; RAO, V.S. In vitro propagation of a grape rootstock, de Grasset (*Vitis champinii* Planch.): Effects of medium compositions and plant growth regulators. **Scientia Horticulturae**, v. 126, n. 1, p. 13–19, 2010. DOI: 10.1016 / j.scienta.2010.06.002

MULLER D.; LEYSER, O. Auxin, cytokinin and the control of shoot branching. **Annals of Botany**, v. 107, s/n. p. 1203-1212, 2011.

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

NUNES, E. C.; CASTILHO, V.C.; MORENO, N. In vitro cultures of *Cedrella fissilis* Vellozo (Meliaceae). **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 70, n. 1, p. 259-268, 2002. DOI: <https://doi.org/10.1023/A:1016509415222>

OLIVEIRA, L. S.; DIAS, P. C.; BRONDANI, G. E. Micropropagação de espécies florestais brasileiras. **Pesquisa Florestal Brasileira**, v. 33, n. 76, p. 439-453, 2013.

OLIEN, W. Introduction to the muscadines. In: BASIOUNY, F; HIMELRICK. D. **Muscadine grapes**. Alexandria: ASHS Press, 2001.

OLMO, H.P. Grapes: *Vitis*, *Muscadinia* (Vitaceae). In: SMARTT, J; SIMMONDS, N.W. **Evolution of Crop Species**. United Kingdom: Longman Scientific and Technical, Harlow, 1995.

PÁDUA, M. SOUZA.; SANTOS, R. S.; PAIVA, L.V.; STEIN, V.C.; SILVA, L.C. In vitro enraizamento de plantas de óleo híbrido de tâmara (*Elaeis guineensis* Jacq.). **Revista**

Árvore, v. 41, n. 4, s/p. 2017. DOI: <https://doi.org/10.1590/1806-90882017000400014>.

PAIVA, A.M.S.; ALOUFA, M.A.I. Estabelecimento *in vitro* de aroeira da praia (*Schinus terebinthifolius* Raddi) em diferentes concentrações de 6-benzilaminopurina (BAP). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 11, n. 3, p. 300-304, 2009. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-05722009000300011>

POMMER, C. V. **Uva tecnologia de produção, pós colheita, mercado**. Porto Alegre: Cinco Continentes, 2003. 778 p.

POLING, B.; MAINLAND, W.; BLAND, B.; SORENSON, K. **Muscadine Grape Production Guide**. Carolina do Norte - EUA: The North Carolina cooperative extension, 2003. 20 p.

POUDEL, P.R.; KATAOKA, I.; MOCHIOKA, R. Effect of plant growth regulators on *in vitro* propagation of *Vitis ficifolia* var. Ganebu and its interspecific hybrid grape. **Asian Journal of Plant Sciences**, v. 4, s/n. p. 466-71, 2005.

QADDOURY, A.; AMSSA, M. Effect of exogenous indole butyric acid on root formation and peroxidase and indole-3-acetic acid oxidase activities and phenolic contents in date palm offshoots. **Botanical Bulletin of Academia Sinica**, v. 45, n. 2, p. 127–131, 2004.

QUEIROZ-VOLTAN, R. B.; PIRES, E. J. P. A videira. In: POMMER, C. V. **Uva: tecnologia de produção, pós-colheita, mercado**. Porto Alegre: Cinco Continentes, 2003.

QUOIRIN, M.; LEPOIVRE, P. Etude de milieux adaptes aux cultures *in vitro* de *Prunus*. **Acta Horticulturae**, v. 78, s/n. p. 437-442, 1977.

RADMANN, E.B.; FACHINELLO, J.C.; PETERS, J.A. Efeito de auxinas e condições de cultivo no enraizamento *in vitro* de porta-enxertos de macieira 'M-9'. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 24, n. 3, p. 624–628, 2002. DOI:10.1590/s0100-29452002000300011

ROCHA, M.A.C.; COSTA, M.A.P.C.; SILVA, S.A.; LEDO, C.A.S.; MOREIRA, M.J.S.; BASTOS, L.P. Enraizamento *in vitro* e aclimatização de genótipos de jenipapeiro (*Genipa americana* L.). **Revista Brasileira Fruticultura**, v. 30, n. 3, p. 769-774, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-29452008000300035>.

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

SAJID, G.M.; ILYAS, M.K.; ANWAR, R. Effect of diverse hormonal regimes on *in vitro* growth of grape germplasm. **Pakistan Journal of Botany**, v. 38, n. 2, p. 385-391, 2006.

SAN PEDRO, T.; PEIRO, R.; VILLANOVA, J.; OLMOS, A.; GISBERT, C. In vitro propagation of *Vitis vinifera* L. 'Monastrell'. **Electronic Journal of Biotechnology**, v. 27, s/n, p. 80–83, 2017. DOI: 10.1016 / j.ejbt.2017.03.006

SANDHU, A.K.; GU, L. Antioxidant capacity, phenolic content, and profiling of phenolic compounds in the seeds, skin, and pulp of *Vitis rotundifolia* (muscadine grapes) as determined by HPLC-DAD-ESI-MSn. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, n. 8, p. 4681–4692, 2010.

SANTA-CATARINA, C.; MACIEL, S.C.; DENARDI, F.; PEDROTTI, E.L. Micropropagação do porta-enxerto de macieira 'seleção 69' tolerante à podridão do colo (*phytophthora cactorum*). **Ciência Rural**, v. 31, n. 5, p. 757-762, 2001.

SAHER, S.; PIQUERAS, A.; HELLIN, E.; OLMOS, E. Prevention of hyperhydricity in micropropagated carnation shoots by bottom cooling: implications of oxidative stress. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 81, n. 1. p. 149-158, 2005.

SAHRAWAT, K. L. Iron toxicity in wetland rice and the role of other nutrients. **Journal Plant Nutrition**, v. 27, p. 1471-1504, 2004.

SCHUCHOVSKI, C.S.; BIASI, L.A.; In Vitro Establishment of 'Delite' Rabbiteye Blueberry Microshoots. **Horticulturae**, v. 5, n. 24, s/p. 2019. DOI:10.3390/horticulturae5010024

SILVA, C.G.; DEBIASI, C.; PESCADOR, R. Enraizamento *in vitro* e aclimatização de mudas micropropagadas de *Aloe vera* L. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 9, n. 1, p. 29-35, 2007.

SILVA, A. L.; DOAZAN, J. P. Une méthode d'irradiation aux rayons gamma appliquée à des porte-greffes de Vigne in vitro. **Journal International Science of Vigne et Vin**, v. 29, n. 1, p. 1-9, 1995.

SILVA, C.P.; PISTORI, M.F.; BLINI, R.C.B.; SANTANA, A.P.L. Reguladores vegetais no crescimento e desenvolvimento de plantas cultivadas *in vitro*. In: ZUFFO, A. M.; AGUILERA, J.G. **Agricultura 4.0**. Nova Xavantina: Pantanal, s/v, s/n, p. 46- 57, 2020.

SIMIONI, P.F.; SILVA, A.P.R.; SILVA, J.C.; CORBELLINI, M.; RONDON, M.J.; MARTINS, V.; KARSBURG, I.V.; GALLO, R. Influência da canela em pó no desenvolvimento de *Catsetum x altaflorestense* Benelli & Grade. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 1, p. 10406-10421, 2021.

SOARES, B.O.; MIRANDA, V.S. Enraizamento in vitro e aclimatização ex vitro de cultivares de citros. **Revista Ciência Agrárias**, v. 59, n. 2, p. 144-151, 2016.

STRIEGLER, R.K.; CARTER, P.M.; MORRIS, J.R.; CLARK, J.R.; THRELFALL, R.T.; HOWARD, L.R. Yield, Quality, and nutraceutical potential of selected Muscadine cultivars grown in southwestern Arkansas. **Hortchnology**, v. 15, n. 2, p. 276-284, 2005.

SUDARSONO, A.; GOLDY, R. G. Growth regulator and axillary bud position effects on in vitro establishment of *Vitis rotundifolia*. **HortScience**, v.26, n.3, p.304-307, 1991.

TAIZ. L.; ZEIGER. E. **Fisiologia Vegetal**. 6ª ed. Porto Alegre: Artmed, 2017. p. 1-888.

TARINEJAD, A.; AMIRI, S. Influence of plant growth regulators, carbohydrate source and concentration on micropropagation and other physiological traits of grape (*Vitis vinifera* L. cv. Shahroudi) under in vitro conditions. **Journal of Plant Physiology and Breeding**, v. 9, n. 1, p. 75-82, 2019.

THIES, K., GRAVES, C. H. Meristem micropropagation protocols for *Vitis rotundifolia* Michx. **HortScience**, v. 27, s/n. 447-449, 1992.

TORREGROSA, L.; BOUQUET A. In vitro propagation of *Vitis* x *Muscadinia* hybrids by microcuttings or axillary budding. **Vitis**, v.34, n.4, p.237-238, 1995.

UNIVERSITY OF GEORGIA. COLLEGE OF AGRICULTURAL AND ENVIRONMENTAL SCIENCES, Choosing a Muscadine Cultivar. Disponível em: <<http://www.caes.uga.edu/extension-outreach/commodities/muscadine-grape-breeding/cultivars/fresh-market-cultivars/southern-home.html>>. Acesso em: 24/06/2019.

VANTELGEN, H.J.; VANMIL, A.; KUNNEMAN, B. Effect of propagation and rooting condition on acclimatization of micropropagated plants. **Acta Botanica Neerlandica**, v. 41, n. 4, p. 453-459, 1992.

VASCONCELOS, A.G.V.; TOMAS, L.F.; CAMARA, T.R.; WILLADINO, L. Hiperidricidade: uma desordem metabólica. **Ciência Rural**, v. 42, n. 5, p.837-844, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0103-84782012000500013> .

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

VILLA, F.; PASQUAL, M.; VILELA, X.M.S. Meios de cultura e reguladores de crescimento na micropropagação de porta-enxertos de videira. **Scientia Agraria Paranaensis**, v. 11, n. 2, p. 63-74, 2012. DOI: <http://dx.doi.org/10.18188/1983-1471/sap.v11n2p63-74>

YANCHEVA, S.; MARCHEV, P.; YANEVA, V.; ROICHEV, V.; TSVETKOV, I. In vitro propagation of grape cultivars and rootstocks for production of pre-basic planting material. **Journal of Agricultural Science**, v. 24, n. 5, p. 801–806, 2018.

YERBOLOVA, L.S.; RYABUSHKINA, N.A.; OLEICHENKI, S.N.; KAMPITOVA, G.A.; GALIAKPAROV, N.N. The effect of growth regulators on in vitro culture of some *Vitis vinifera* L. cultivars. **World Applied Sciences Journal**, v. 23, n. 1, p. 76-80, 2013. DOI: 10.5829/idosi.wasj.2013.23.01.13043

YI, W.; AKOH, C.C.; FISHER, J.; KREWER, G. Effects of phenolic compounds in blueberries and muscadine grapes on hepG2 cell viability and apoptosis. **Food Research International**. v. 39, n. 5, p. 628–638, 2005. DOI: 10.1016/j.foodres.2006.01.001

YILDIRIM, H.; OZDMIR, G. Influence of bap concentrations and nutrient medium composition on in vitro regeneration of 'Öküzgözü' and 'Boğazkere' (*Vitis vinifera* L.) cultivars. **Erwerbs-Obstbau**, v. 60, n. 3, p. 55–59, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10341-018-0393-7>

XIE, X.; AGUERO, C.B.; WANG, Y.; WALKER, M.A. In vitro induction of tetraploids in *Vitis* 3 *Muscadinia* hybrids. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 122, n. 3, p. 675–683, 2015. DOI: 10.1007/s11240-015-0801-8

WANG, Y.; WANG, S.; XU, J.; YAN, Z.; BAO, H. Culture medium for proliferating blueberry tissue, comprises improved woody plant medium culture medium, naphthaleneacetic acid, gibberellic acid, zeatin, sucrose and agar. Patent Number CN104082142-A em 8-10-2014.

ANEXO 1 – LAUDO DE SANIDADE VEGETAL

 <p>Revisão nº 07, em vigor desde 28/06/2019 Página 1 de 1</p>		AGRONÔMICA – LABORATÓRIO DE DIAGNÓSTICO FITOSSANITÁRIO E CONSULTORIA NIRE 43.205.056.551 CNPJ 05.554.224/0001-69 www.agronicabr.com.br													
FORMULÁRIO – FOR0126 – Laudo de Sanidade Vegetal															
Laudo de Sanidade Vegetal 4294/2020-AGR															
Data Coleta: 08/07/2020		Recebimento: 15/07/2020	Resultado: 10/08/2020												
INTERESSADO:		Tatiane Otto de França,													
AMOSTRADO POR:															
NATUREZA DA ANÁLISE:		Planta: Uva-muscadina/Videira (<i>Vitis rotundifolia</i>) Variedade/Cultivar: Southern home Lote: NI Parte Coletada: Planta "in vitro" Medida: 8 muda(s) Lacre: SEM LACRE Representatividade da amostra: NI Classe/Marca/Safra: NI Protocolo: 164619/2020-AGR Número Amostra: 12932 Descrição: Termo: Termo de Coleta; Número Termo: NI;													
MATERIAL:															
ANÁLISE:		<table border="1"> <thead> <tr> <th>Praga</th> <th>Laboratório</th> <th>Método</th> <th>Procedimento</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Bactéria</td> <td>Bacteriologia</td> <td>Biológica/Bioquímica/Molecular</td> <td>POP0022</td> </tr> <tr> <td>Bactéria</td> <td>Biologia Molecular</td> <td>Molecular</td> <td>POP0040</td> </tr> </tbody> </table>		Praga	Laboratório	Método	Procedimento	Bactéria	Bacteriologia	Biológica/Bioquímica/Molecular	POP0022	Bactéria	Biologia Molecular	Molecular	POP0040
Praga	Laboratório	Método	Procedimento												
Bactéria	Bacteriologia	Biológica/Bioquímica/Molecular	POP0022												
Bactéria	Biologia Molecular	Molecular	POP0040												
RESULTADO:		O resultado dos testes realizados (Gram, catalase, oxidase e sequenciamento da região DNAr 16 S com os primers Bac-8F/Bac-1492R) indicou que se trata da bactéria <i>Luteibacter</i> sp. ou <i>Luteibacter rhizovicius</i> . A indefinição é devida ao número de testes.													
DIAGNOSTICADO POR:		Biól. Dra. Tatiana Mituti e Sr. Vinícius Borges Joaquim													
NOTAS:		1 – A identificação da amostra é de exclusiva responsabilidade do requerente 2 – A presente análise tem seu valor restrito à amostra acima identificada 3 – NI - Não Informado													
Porto Alegre, 10 de agosto de 2020.															
		Documento eletrônico assinado digitalmente por Priscila Silva da Costa Ferreira Gomes, Responsável Técnica , em Porto Alegre no dia 10/08/2020 , às 17:26, conforme horário oficial de Brasília, com validade jurídica assegurada conforme MP 2.200-2/2001, que instituiu a ICP-Brasil.													
Avenida Ipiranga, 7464/Cj 1202, Bairro Jardim Botânico, CEP 91530-000, Porto Alegre, RS, Fone: (51) 2131-6262, Site: www.agronicabr.com.br; Razão Social: Teló e Duarte SS															
*Credenciado pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento, através da Portaria No. 156, de 22 de julho de 2014, publicada no D.O.U nº 139, seção 1 de 23 de julho de 2014, como Laboratório de Diagnóstico Fitosanitário para análise de identificação de fungos, oomicetos, procaríotos, vírus, virídeos, nematoides, insetos, ácaros e sementes de espécies invasoras em plantas e sub-produtos vegetais.															

ANEXO 2 – RESUMO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA DA PORCENTAGEM E COMPRIMENTO DE BROTAÇÃO DA VIDEIRA ‘SOUTHERN HOME’ SOB EFEITO DE ZEA E BAP NO MEIO DE CULTURA WPM MODIFICADO. UFPR, CURITIBA/PR, 2021.

FONTE DE VARIAÇÃO	GL	Porcentagem de brotação (valor-F)	Comprimento de brotação (valor-F)
		3º Subcultivo	3º Subcultivo
Regulador Citocininas(R)	1	0,32 ns	145,25 **
Concentrações (C)	3	3,28 ns	12,30 **
Interação (R*C)	3	6,18 **	18,19 **
CV %		11,56	13,10

ANEXO 3 – RESUMO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA DA QUALIDADE DE BROTAÇÃO DA VIDEIRA ‘SOUTHERN HOME’ SOB EFEITO DE ZEA E BAP EM MEIO DE CULTURA WPM MODIFICADO. UFPR, CURITIBA/PR, 2021.

FONTE DE VARIAÇÃO	GL	Qualidade de brotação (valor-F)		
		1º Subcultivo	2º Subcultivo	3º Subcultivo
Regulador Citocininas(R)	1	14,67 **	28,90 **	82,72 **
Concentrações (C)	3	11,84 **	8,82 **	6,66 **
Interação (R*C)	3	4,90 **	5,56 **	3,27 ns
CV %		11,78	13,13	11,00

ANEXO 4 – RESUMO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA DO NÚMERO DE GEMAS POR BROTAÇÃO DA VIDEIRA ‘SOUTHERN HOME’ SOB EFEITO DE ZEA E BAP NO MEIO DE CULTURA WPM MODIFICADO. UFPR, CURITIBA/PR, 2021.

FONTE DE VARIAÇÃO	GL	Número de gemas por brotação (valor-F)		
		1º Subcultivo	2º Subcultivo	3º Subcultivo
Regulador Citocininas(R)	1	61,69 **	1,81 ns	75,03 **
Concentrações (C)	3	11,55 **	0,06 *	12,69 **
Interação (R*C)	3	5,20 **	0,18 ns	7,49 **
CV %		19,99	35,45	8,86

ANEXO 5 – RESUMO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA DOS SINTOMAS DE HIPERHIDRICIDADE NO HÍBRIDO DE VIDEIRA ‘SOUTHERN HOME’ DECORRENTE DO EFEITO DE ZEA E BAP NO MEIO DE CULTURA WPM MODIFICADO. UFPR, CURITIBA/PR, 2021.

FONTE DE VARIAÇÃO	GL	Notas sintomas de hiperhidricidade (valor-F)		
		1º Subcultivo	2º Subcultivo	3º Subcultivo
Regulador Citocininas(R)	1	24,64 **	393,00 **	287,29 **
Concentrações (C)	3	63,71 **	56,76 **	61,90 **
Interação (R*C)	3	18,82 **	54,61 **	24,38 **
CV %		14,92	12,30	10,44

ANEXO 6 – RESUMO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA DA INTENSIDADE DE FORMAÇÃO DE CALO NA VIDEIRA ‘SOUTHERN HOME’ DECORRENTE DO EFEITO DE ZEA E BAP NO MEIO DE CULTURA WPM MODIFICADO. UFPR, CURITIBA/PR, 2021.

FONTE DE VARIAÇÃO	GL	Notas sintomas de hiperhidricidade (valor-F)		
		1º Subcultivo	2º Subcultivo	3º Subcultivo
Regulador Citocininas(R)	1	0,01 ns	869,48 **	61,18 **
Concentrações (C)	3	183,37 **	384,73 **	6,69 **
Interação (R*C)	3	18,11 **	116,60 **	9,46 **
CV %		14,32	9,96	13,22