



**ENRAIZAMENTO DE ESTACAS SEMILENHOSAS E
CULTURA DE EMBRIÕES *IN VITRO* DE OLIVEIRA (*Olea
europaea* L.).**

ADELSON FRANCISCO DE OLIVEIRA

2001

ADELSON FRANCISCO DE OLIVEIRA

**ENRAIZAMENTO DE ESTACAS SEMILENHOSAS E CULTURA DE
EMBRIÕES *IN VITRO* DE OLIVEIRA (*Olea europaea* L.).**

Tese apresentada à Universidade Federal de
Lavras como parte das exigências do
Programa de Pós-graduação em Agronomia,
área de concentração Fitotecnia, para
obtenção do título de "Doutor".

Orientador

Professor Moacir Pasqual

LAVRAS
MINAS GERAIS – BRASIL
2001

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da
Biblioteca Central da UFLA**

Oliveira, Adelson Francisco de

Enraizamento de estacas semilenhosas e cultura de embriões *In Vitro* de
oliveira (*Olea europaea* L.) / Adelson Francisco de Oliveira. -- Lavras : UFLA,
2001.

122 p. : il.

Orientador: Moacir Pasqual.

Tese (Doutorado) – UFLA.

Bibliografia.

1. *Olea europaea* L. 2. Propagação. 3. Enraizamento de estaca. 4. Embrião *In Vitro*. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD-634.97374

-583.74

ADELSON FRANCISCO DE OLIVEIRA

**ENRAIZAMENTO DE ESTACAS SEMILENHOSAS E CULTURA DE
EMBRIÕES *IN VITRO* DE OLIVEIRA (*Olea europaea* L.)**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Agronomia, área de concentração Fitotecnia, para obtenção do título de "Doutor".

APROVADA em 06 de julho de 2001.

Prof. Nilton Nagib Jorge Chalfum

UFLA

Dr. Murillo de Albuquerque Regina

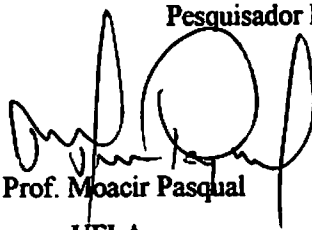
EPAMIG/CTSM

Dr. Luis Eduardo Corrêa Antunes

EPAMIG/CTSM

Dr. Leonardo Ferreira Dutra

Pesquisador Recém-Doutor/CNPq



Prof. Moacir Pasqual

**UFLA
(Orientador)**

**LAVRAS
MINAS GERAIS – BRASIL**

A minha mãe, Nely e a meu pai, Sebastião (in memoriam), pela minha vida.

A meus filhos, Deive e Dili, como estímulo.

À minha esposa, Maria de Lourdes, por sua valiosa ajuda.

DEDICO.

**“A DEUS, DEDICO
E PEÇO PERDÃO POR MOMENTOS DE FALTA DE FÉ”**

AGRADECIMENTOS

A realização deste trabalho não teria sido possível sem a colaboração de muitas pessoas. Quero agradecer a todas que, com palavras, pensamentos e obras, me ajudaram a vencer mais este desafio de minha vida, especialmente aquelas que me ofereceram amizade e apoio.

Aos participantes do comitê de orientação e banca examinadora: Professor Moacir Pasqual, Professor Nilton Nagib Jorge Chalfun, Pesquisador Murillo de Albuquerque Regina, Pesquisadora Carmen del Rio Rincón, Pesquisador Luis Eduardo Corrêa Antunes, Pesquisador Leonardo Ferreira Dutra e Pesquisador José Carlos Fráguas, pela valiosa colaboração e sugestões.

À Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais – EPAMIG, por ter permitido a realização deste curso.

À Universidade Federal de Lavras – UFLA, por ter me concedido a oportunidade de aprimorar meus conhecimentos.

Ao CNPq, pela concessão de bolsa de estudos de doutorado sanduíche para o Centro de Investigación y Formación Agrária - CIFA – “Alameda del Obispo” de Córdoba – Espanha.

À Direção do CIFA e ao Chefe do Departamento de Olivicultura, Dr. Juan M. Caballero, por ter possibilitado meus estudos nesta conceituada instituição.

Aos Professores Dr. Antonio Nazareno Guimarães (Vice-Reitor da UFLA), Dr. José da Cruz Machado (Escritório de Assuntos Internacionais da UFLA) e Dr. Samuel Pereira de Carvalho (Coordenador do Comitê de Pós-Graduação Agronomia/Fitotecnia), pelo apoio concedido.

À Dra. Carmen del Rio Rincón, do CIFA de Córdoba, pela ajuda para o planejamento de alguns ensaios e pelas sugestões apresentadas.

A meus filhos, Deive e Dili, e a minha esposa, Maria de Lourdes, pelo incentivo constante. A eles peço perdão pelas faltas que cometi durante esses anos e espero que tenhamos crescido na fé e no amor de Deus.

Aos funcionários da Fazenda Experimental de Maria da Fé da EPAMIG, especialmente: a Auxiliar de Serviços Marina Aparecida de Carvalho, ao Técnico de Nível Médio José Eduardo de Souza Gomes e ao Técnico de Nível Superior Luiz Eugênio Santana Matos, pela ajuda na condução dos ensaios realizados naquela Unidade.

Aos funcionários do Laboratório de Cultura de Tecidos do Departamento de Agricultura da UFLA, pela ajuda e orientação nos ensaios conduzidos.

Aos professores da UFLA, com quem tive oportunidade de cursar disciplinas, pela serenidade na arte de ensinar.

Ao Eng. Agr. Eduardo Henrique de Albuquerque Maranhão e sua esposa Elizabeth Araújo de Albuquerque Maranhão, pesquisadores do Instituto de Pesquisa de Pernambuco, alunos do curso de Doutorado da Escuela de Ingenieros Agrónomos e Montes de Córdoba, Espanha, pela amizade e estímulo.

A todos os colegas do curso de pós graduação, pela grande amizade.

SUMÁRIO

	Página
RESUMO.....	i
ABSTRACT.....	ii
CAPÍTULO 1 A oliveira (<i>Olea europaea</i> L.) e sua propagação.....	1
1 Introdução geral.....	2
2 Referencial teórico.....	5
2.1 A oliveira.....	5
2.1.1 Origem e áreas de distribuição.....	5
2.1.2 Classificação botânica.....	5
2.1.3 Descrição da planta.....	6
2.1.4 Ciclo bienal.....	7
2.1.4.1 Indução, iniciação floral e repouso de gemas.....	8
2.1.4.2 Crescimento vegetativo e reprodutivo.....	9
2.1.4.3 Polinização e fecundação.....	9
2.1.4.4 O fruto.....	11
2.2 Propagação.....	13
2.2.1 Enxertia como método de propagação.....	13
2.2.1.1 Enxertia em oliveira.....	15
2.2.1.2 Enxertia em oliveira utilizando porta-enxerto de gênero e espécie distintos.....	17
2.2.1.3 Enxertia e enraizamento sob túnel plástico em mesa.....	18
2.2.2 A estaquia como método de propagação.....	19
2.2.3 Métodos tradicionais de enraizamento de estacas de oliveira.....	21
2.2.4 Enraizamento de estacas semilenhosas sob nebulização e tratamento com regulador de crescimento.....	22
2.2.4.1 Fatores que afetam o enraizamento.....	23

	Página
2.2.4.1.1 Anatômicos	23
2.2.4.1.2 Fisiológicos.....	24
2.2.4.1.2.1 Reguladores de crescimento.....	24
2.2.4.1.2.2 Hidratos de carbono.....	27
2.2.4.1.3 Idade da planta-matriz.....	29
2.2.4.1.4 Época de preparo das estacas.....	30
2.2.4.1.5 Fatores ambientais.....	31
2.2.4.1.5.1 Substratos para enraizamento.....	31
2.2.4.1.5.2 Aquecimento do substrato.....	32
2.2.4.1.5.3 Nebulização.....	32
2.2.5 Cultivo <i>in vitro</i> de embriões e micropropagação.....	33
2.2.5.1 Cultivo de embriões em oliveira.....	37
3 Referências bibliográficas.....	40
CAPÍTULO II INFLUÊNCIA DA ÉPOCA DE COLETA, DO SUBSTRATO E DE CONCENTRAÇÕES DE AIB SOBRE O ENRAIZAMENTO DE ESTACAS SEMILENHOSAS DE OLIVEIRA (<i>Olea europaea</i> L.).....	54
1 Resumo.....	55
2 Abstract.....	56
3 Introdução.....	57
4 Material e métodos.....	59
5 Resultados e discussão.....	61
6 Conclusões.....	69
7 Referências bibliográficas.....	70
CAPÍTULO III INFLUÊNCIA DO NÚMERO DE NÓS EM ESTACAS SEMILENHOSAS DE OLIVEIRA (<i>Olea europaea</i> L.), DAS VARIEDADES PICUAL E ARBEQUINA, NO ENRAIZAMENTO SOB CÂMARA DE NEBULIZAÇÃO.....	72
1 Resumo	73

2 Abstract.....	74
3 Introdução.....	75
4 Material e métodos.....	76
5 Resultados e discussão.....	77
6 Conclusões.....	82
7 Referências bibliográficas.....	83
CAPÍTULO IV INFLUÊNCIA DE ADUBAÇÃO FOLIAR DURANTE O ENRAIZAMENTO DE ESTACAS SEMILENHOSAS, VEGETATIVAS E FRUTÍFERAS DE OLIVEIRA (<i>Olea europaea</i> L), SOB NEBULIZAÇÃO.....	
	85
1 Resumo	86
2 Abstract.....	87
3 Introdução.....	88
4 Material e métodos.....	90
5 Resultados e discussão.....	92
6 Conclusões.....	96
7 Referências bibliográficas.....	97
CAPÍTULO V EFEITO DE DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE MS E SACAROSE NO DESENVOLVIMENTO DE EMBRIÕES <i>IN VITRO</i> DE OLIVEIRA (<i>Olea europaea</i> L.).....	
	98
1 Resumo.....	99
2 Abstract.....	100
3 Introdução.....	101
4 Material e métodos.....	103
5 Resultados e discussão.....	105
6 Conclusões.....	113
7 Referências bibliográficas.....	114
ANEXOS.....	116

LISTA DE TABELA E FIGURAS

página

TABELA 1 Média de porcentagens de estacas enraizadas, número de raízes por estacas e maior comprimento de raízes estudadas em dois experimentos de avaliação de substratos e concentrações de AIB, no enraizamento de estacas semilenhosas de oliveira (<i>Olea europaea</i> L.), Maria da Fé, MG. UFLA, Lavras, MG, 2001.....	67
FIGURA 1 Efeito de substratos de enraizamento em porcentagem de estacas enraizadas, número de raízes por estaca e maior comprimento de raízes de oliveira cv. 'Ascolano 315', para duas épocas de instalação de ensaios, Maria da Fé, MG. UFLA, Lavras, MG, 2001.....	62
FIGURA 2 Concentrações de AIB em porcentagem de estacas enraizadas, número de raízes por estaca e maior comprimento de raízes de oliveira cv. 'Ascolano 315', para duas épocas de instalação de ensaios, Maria da Fé, MG. UFLA, Lavras, MG, 2001.....	64
FIGURA 3 Efeito da interação substratos x doses no número de raízes por estaca, Maria da Fé, MG. UFLA, Lavras, MG, 2001.....	65
FIGURA 4 Resultados médios para porcentagem de estacas enraizadas, número de raízes por estaca e porcentagem de estacas mortas, para variedades e tamanho de estacas, Córdoba, Espanha. UFLA, Lavras, MG, 2001.....	78
FIGURA 5 Efeito da interação variedades x tamanho de estacas no comprimento médio de raízes, Córdoba, Espanha. UFLA, Lavras, MG, 2001.....	79
FIGURA 6 Resultados médios para porcentagem de estacas enraizadas, com calo e mortas, efeito da interação tipos de ramos x adubação foliar, Córdoba, Espanha. UFLA, Lavras, MG, 2001.....	93
FIGURA 7 Resultados para comprimento médio de raízes em tipos de ramos, vegetativos e frutíferos, Córdoba, Espanha. UFLA, Lavras, MG, 2001.....	94

FIGURA 8 Altura de plântulas (cm), em diferentes concentrações de sacarose no meio de cultura MS com 0 (zero), 0,5 (metade) e 1,0 (completo) dos seus componentes. UFLA, Lavras, MG, 2001.....	106
FIGURA 9 Número médio de folhas/plântula em diferentes níveis de componentes do meio de cultura MS. UFLA, Lavras, MG, 2001.....	107
FIGURA 10 Número médio de folhas/plântula em diferentes concentrações de sacarose no meio de cultura. UFLA, Lavras, MG, 2001.....	108
FIGURA 11 Peso de matéria seca de plântulas de oliveira, em diferentes níveis de componentes do meio de cultura MS. UFLA, Lavras, MG, 2001.....	109
FIGURA 12 Peso de matéria seca de plântulas de oliveira em diferentes concentrações de sacarose no meio de cultura MS. UFLA, Lavras, MG, 2001.....	109
FIGURA 13 Porcentagem de germinação de embriões, em diferentes concentrações de sacarose no meio de cultura MS com 0 (zero), 0,5 (metade) e 1,0 (completo) dos seus componentes. UFLA, Lavras, MG, 2001.....	111

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABA	Ácido abscísico
AIA	Ácido indol-3-acético
AIB	Ácido indol-3-butírico
ANA	Ácido naftalenoacético
BAP	6-benzilaminopurina
°C	Graus Celsius
Ca	Cálcio
CIFA	Centro de Investigación e Formación Agraria
Cm	Centímetro
CO₂	Dióxido de carbono
Cv.	Cultivar
DNA	Ácido desoxirribonucléico
2ip	2-isopentenilamina
g	Gramo
Gas	Giberelinas
Kn	Kinetina
L	Litro
M	Metro
Min.	Minuto
μmol	Micromol
ml	Mililitro
MS	Meio de cultura de Murashige e Skoog (1962)
OM	Meio de cultura para multiplicação de oliveira
PB	Pacobutrazol
Ppm	Partes por milhão
PVP	Polivinilpirrolidone
%	Porcentagem
R²	Coefficiente de determinação
SADH	Ácido succínico 2,2 dimetilhidrácido
T	Temperatura
v/v	Volume/volume
UP	Uréia fosfatada
Z	Zeatina

RESUMO

OLIVEIRA, A. F. de. Enraizamento de estacas semilenhosas e cultura de embriões *in vitro* de oliveira (*Olea europaea* L.). Lavras: UFLA, 2001. 122 p. (Tese - Doutorado em Agronomia/Fitotecnia).¹

Com o objetivo de estudar o enraizamento de estacas semilenhosas de oliveira (*Olea europaea* L.) com uso de AIB em diferentes condições e a cultura de embriões *in vitro*, conduziram-se experimentos em Maria de Fé e Lavras, MG, Brasil, e em Córdoba, Espanha. Em Maria da Fé, avaliou-se o enraizamento de estacas semilenhosas da cv. 'Ascolano 315', em duas épocas de coleta, 09/02 e 27/04/2000, em casa de vegetação rústica, testando-se quatro substratos: areia, vermiculita, areia/terra e terra, e quatro concentrações: 0, 1.000, 3.000 e 5.000 mg.L⁻¹ de AIB. Estacas coletadas em 09/02/2000 enraizaram 48,44% quando utilizou-se o substrato areia/terra e 44,28% utilizando-se AIB na concentração de 3.000 mg.L⁻¹. Em Córdoba, no primeiro experimento avaliou-se o enraizamento de estacas semilenhosas com diferentes tamanhos, dois nós com duas folhas, três nós com duas folhas, três nós com quatro folhas, quatro nós com quatro folhas e cinco nós com quatro folhas, das cvs. Picual e Arbequina, tratadas com AIB 3000 mg.L⁻¹, sob nebulização intermitente. Observou-se que, entre estacas de quatro nós e cinco nós com quatro folhas, não houve diferença nos parâmetros considerados; estacas com três nós, com duas e quatro folhas também não diferenciaram. Estacas com dois nós e duas folhas, apresentaram maior mortalidade. No segundo experimento, também sob nebulização e com uso de AIB na concentração de 3.000 mg.L⁻¹, avaliou-se o enraizamento de estacas semilenhosas, vegetativas e frutíferas, da cv. Picual, com aplicação semanal do fertilizante foliar hakafof durante o enraizamento. Observou-se que a aplicação de hakafof em estacas de ramos vegetativos não afetou a porcentagem de estacas enraizadas, diminuiu a porcentagem de estacas com calos e aumentou porcentagem de estacas mortas. Em estacas de ramos frutíferos aumentou a porcentagem de enraizamento e não afetou outros parâmetros. Em Lavras, avaliou-se a germinação de embriões *in vitro* da cv. Ascolano 315, em diferentes combinações de MS e de sacarose. Melhores resultados foram obtidos com componentes de MS em torno de 0,5 do conteúdo de seus sais e entre 30 e 35 g.L⁻¹ de sacarose. Observou-se um maior acúmulo de matéria seca, tanto com o aumento dos níveis de sais componentes do meio MS, como também da concentração de sacarose no respectivo meio.

¹ Comitê orientador: Moacir Pasqual – UFLA (Orientador), Nilton Nagib Jorge Chalfun – UFLA, Murillo de Albuquerque Regina – EPAMIG, Carmen del Rio Rincón – CIFA.

ABSTRACT

OLIVEIRA, A. F. de. Rooting of semi-woody cuttings and in vitro culture of olive tree (*Olea europaea* L) embryos. Lavras: UFLA, 2001. 122 p. (Thesis-Doctorate in Agronomy/Crop Science).²

With a view to studying the rooting of semi-woody olive tree cuttings of olive tree (*Olea europaea* L.) with the use of IBA under different conditions and in vitro embryo culture, experiments were conducted at Maria da Fé and Lavras, MG., Brasil, and Cordoba, Spain. At Maria da Fé the rooting of semi-woody cuttings of the cultivar 'Ascolano 315' in two collection times, February 2nd and April 27th, 2000, in rustic greenhouse was evaluated, testing four substrates: sand, vermiculite, sand/earth, earth; and four concentrations: 0, 1000, 3000 and 5000 mg.L⁻¹ of IBA. Cuttings collected on February 2nd, 2000 rooted 48.44% when the substrate sand/earth was utilized and 44.28% by utilizing IBA at the concentration of 3000 mg. L⁻¹. At Cordoba, in the first experiment, the rooting of semi-woody cuttings with different sizes, two nodes with two leaves, three nodes with two leaves, three nodes with four leaves, four nodes with four leaves and five nodes with four leaves of the cultivars Picual and Arbequina, treated with IBA 3000 mg.L⁻¹, under intermittent misting was evaluated. It was found that between four and five node cuttings with four leaves, there were no differences in the considered parameters; cuttings with three nodes, two leaves and four leaves also did not differ. Cuttings with two nodes and two leaves presented increased mortality. In the second experiment, also under misting and with the use of IBA at the concentration of 3000 mg.L⁻¹, the rooting of semi-woody cuttings, vegetative and fruit-bearing, of the cultivar 'Picual' with weekly application of the foliar fertilizer hakafofos during rooting was evaluated. It was observed that the application of hakafofos on vegetative branch cuttings did not affect the percentage of rooted cuttings, decreased the percentage of cuttings with calluses and increased the percentage of dead cuttings. On fruit-bearing branch cuttings, it increased the percentage of rooting and did not affect other parameters. At Lavras, germination of in vitro embryos of the cultivar 'Ascolano 315' under different combinations of MS and sucrose was evaluated. Better results were obtained with components of MS around 50% of the content of salts and between 30 and 35 g.L⁻¹ of sucrose. A greater accumulation of dry matter both with increasing levels of component salts of the MS medium and also concentration of sucrose in the respective medium was found.

² Guidance Committee. Moacir Pasqual - UFLA (Major Professor) , Nilton Nagib Jorge Chalfun - UFLA , Murillo de Albuquerque Regina - EPAMIG , Carmen del Rio Rincón - CIFA

CAPÍTULO I A OLIVEIRA (*Olea europaea* L.) E SUA PROPAGAÇÃO

1 INTRODUÇÃO GERAL

Os produtos da oliveira tiveram importância destacada no período pré-histórico da humanidade, pois, durante algumas centenas de anos, foi a única fonte de azeite líquido. Além de alimento energético e relativamente estável, foi utilizado também para iluminação, aquecimento, lubrificante e como produto farmacêutico (Loussert e Brousse, 1980).

Para os países da bacia mediterrânea, a oliveira faz parte das tradições culturais e sociais, devido à sua grande importância para os habitantes da região. Sobre a planta surgiram várias crenças, o que a tornou uma das mais significativas heranças das civilizações antigas para as gerações atuais. Possui um elevado componente econômico e social, pois, tratando-se de monocultivo, sua colheita e grande parte das práticas agrícolas requerem elevada quantidade de mão-de-obra, devido à sua escassa mecanização.

Na região mediterrânea, em países da Comunidade Econômica Européia, são produzidos 82% do azeite de oliva de todo o mundo. Na Espanha, na Comunidade Autónoma de Andaluzia, obtêm-se 26% da produção mundial.

A partir da década de 1980 o cultivo de oliveira adquiriu especial relevância em todo mundo, por ser o azeite de oliva benéfico à saúde humana e pela sua comprovada eficácia na proteção de enfermidades cardiovasculares.

No Brasil, a oliveira foi introduzida por volta de 1800, em regiões do sul e sudeste do país, principalmente, onde hoje estão localizados os estados do Rio Grande do Sul, Santa Catarina, Paraná, São Paulo, Minas Gerais, Espírito Santo e Rio de Janeiro (Gomes, 1979).

Tratando-se de um mercado consumidor de grande expressão, o Brasil é francamente importador de produtos da oliveira, ocupando posição importante na pauta de exportação de países como Argentina, Peru e Chile, na América do Sul.

Parte do que se consome no Brasil também é importado da Espanha e Portugal (Castro et al., 1997).

Na pauta de importações brasileiras, a Argentina é um dos principais fornecedores. O Brasil adquiriu 80% das exportações de azeite de oliva realizadas por este país, no período de 1991 a 1997. Sendo considerado mercado não exigente quanto à qualidade, exportadores argentinos contam com fontes constantes de ingressos nas relações comerciais com empresas do Brasil, além de se beneficiarem de acordos realizados entre estes países, para a integração regional, um dos objetivos do MERCOSUL (Rosselot, 1997).

Mesmo com um mercado consumidor de azeitonas e azeite de oliva constante, decorridos mais de duzentos anos desde a introdução das primeiras oliveiras no Brasil, não se conseguiu, até os dias de hoje, que esta cultura se tornasse uma alternativa a mais para os produtores rurais de algumas regiões de plantio. Isso possivelmente ocorreu por condições climáticas ou manejo inadequado para implantação e condução da cultura. Assim, o conhecimento de modernas técnicas agrônômicas é de importância fundamental para o sucesso econômico dessa cultura.

Para a oliveira, a propagação vegetativa é uma ferramenta fundamental. Esta técnica melhorou muito nos últimos anos, principalmente o enraizamento de estacas semilenhosas sob nebulização e com uso de AIB e, por isso, é hoje amplamente utilizada em muitos países.

Também a difusão desta técnica de multiplicação e a maior qualidade das plantas que proporciona (Caballero, 1981; Caballero e del Rio, 1994), contribuíram eficazmente para a melhoria da olivicultura na Espanha. Isto porque o enraizamento de estacas lenhosas em viveiro nunca conseguiria fornecer o número de mudas necessárias para o aumento da superfície de plantio que ocorreu nos últimos anos.

Diversas situações podem requerer o emprego de métodos clássicos de propagação, como, por exemplo a enxertia. Quando se trata de fazer a substituição de uma variedade já estabelecida, o emprego de um porta-enxerto, por sua resistência ou adaptação a distintas enfermidades ou ainda por condições de meio ambiente, é recomendável.

Entretanto, a obtenção de plantas por enraizamento de estacas semi-lenhosas é o melhor método para abordar uma importante difusão de cultivo. Sobretudo quando se trata de estabelecer plantações com variedades selecionadas ou obtidas mediante programas de melhoramento genético.

Por outro lado, a cultura de tecidos vegetais tem sido amplamente utilizada para melhorar os índices de produtividade agrícola, principalmente como suporte a programas de melhoramento genético. Assim, a cultura de embriões permite estudar as necessidades nutricionais e físicas para o desenvolvimento do embrião, superar a dormência em certos tipos de sementes, testar a viabilidade das sementes e resgatar embriões híbridos imaturos oriundos de cruzamentos incompatíveis.

Dessa forma, o presente trabalho teve como objetivo estudar a influência de determinados fatores que interferem no enraizamento de estacas semilenhosas de oliveira e estudar, também, necessidades nutricionais para o cultivo de embriões *in vitro*.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 A oliveira

2.1.1 Origem e áreas de distribuição

A oliveira é uma das plantas mais antigas da região do Mediterrâneo. Sua exploração agrícola remonta há uns 3 ou 4 mil anos antes de Cristo. Alguns autores consideram a Síria e o Irã como centros de origem da oliveira, mas outros apotam como sendo do Líbano e Palestina (Loussert e Brousse, 1980).

A expansão da oliveira ocorreu do oriente ao ocidente, especialmente em toda a região mediterrânea, onde se encontram grandes extensões de plantio. Mais tarde se estendeu também à América, Austrália e regiões do extremo oriente, como China e Japão (Civantos, 1998).

2.1.2 Classificação botânica

A oliveira (*Olea europaea* L) pertence à família Oleaceae (Gobbato, 1945). Esta família inclui até trinta gêneros, como, por exemplo, *Fraxinus*, *Ligustrum*, *Olea* e *Syringa*. A espécie *Olea europaea* L. se divide em *Olea europaea euromediterrânea*, *Olea europaea laperini* e *Olea europaea cuspidata*.

A subespécie *euromediterranea* é constituída por duas séries, que representam o patrimônio oléico da região do mediterrâneo: *Olea europaea euromediterranea sativa*, que é a oliveira cultivada e difundida em toda a América (*Olea europaea sativa*) e *Olea europaea euromediterranea oleaster*, forma espontânea, também conhecida como acebuche.

2.1.3 Descrição da planta

A oliveira comumente cultivada é uma árvore de tamanho médio e formato arredondado, cujo porte, densidade da copa, comprimento de entrenós e cor da madeira variam em função da variedade e de condições de cultivo.

A oliveira apresenta polimorfismo com duas fases bem diferenciadas: a juvenil e a adulta. Estas fases se distinguem pela capacidade reprodutora, potencial de enraizamento e na aparência de folhas e ramos. Durante a fase juvenil, a oliveira não é capaz de produzir e apresenta maior potencial de enraizamento de estacas, folhas mais curtas e grossas e ramos em que o comprimento dos entrenós é menor. Ao contrário, na fase adulta alcança sua capacidade reprodutora, as folhas são maiores e mais delgadas e os ramos apresentam entrenós com maiores comprimentos (Rapoport, 1998).

O sistema radicular varia em função da origem da árvore, se é de sementes ou de estacas e das características do solo sobre o qual está sendo cultivada. A semente dá origem a um sistema radicular caracterizado por uma raiz pivotante central (Loussert e Brousse, 1980). Por outro lado, a partir de estacas forma-se, desde o início, um sistema radicular fasciculado. A maioria destas raízes adventícias se comporta como raízes principais durante o desenvolvimento e crescimento da árvore (Rapoport, 1998).

As folhas adultas são simples e de forma elíptica, elíptica-lanceolada ou lanceolada, com comprimento que vai de 5 a 7 cm e largura de 1,0 a 1,5 cm. A estrutura foliar permite adaptação a condições de elevada transpiração. Assim, a região ventral é de cor escura e brilhante, devido à existência de cutícula sem a presença de estômatos, enquanto que a região dorsal é de cor esbranquiçada devido, em parte, à presença de tricomas, também denominados placas foliares, o que permite resistir as condições de extrema seca (Rapoport, 1998).

A inflorescência tem forma paniculada, apresentando ramificações desde o eixo central que, por sua vez, podem também estar ramificadas. Estas se situam nas axilas foliares de crescimento vegetativo do ano anterior.

A flor é constituída por quatro sépalas verdes soldadas, formando o cálice e por quatro pétalas brancas, também soldadas pela base, que formam a corola. Trata-se de uma flor actinomorfa com simetria regular. Apresenta dois estames que se inserem pela base da corola com disposição oposta. Estes estão constituídos por filamento e antera de cor amarela, dividida em dois lóbulos onde estão localizados os grãos de pólen. No centro da flor encontra-se o pistilo, composto de um ovário súpero, estilo curto e grosso e estigma bilocado e papiloso, que pode variar em sua forma dependendo da variedade. A maturação dos órgãos sexuais ocorre vinte dias antes da floração, com o desenvolvimento do saco embrionário e a maturação dos gametas (Rapoport, 1998).

2.1.4 Ciclo bienal

A oliveira apresenta uma série de fenômenos cíclicos com caráter anual, como o crescimento de brotos e o desenvolvimento de frutos. O crescimento de brotos ocorre no mesmo ano, entretanto, os processos que levam à frutificação precisam de dois anos consecutivos. No primeiro ano ocorre a formação de gemas e sua indução; após um período de repouso, durante o segundo ano, ocorre o desenvolvimento da flor, a floração, o crescimento e a maturação do fruto (Fernández-Escobar, 1993; Rallo, 1998).

2.1.4.1 Indução, iniciação floral e repouso de gemas

As gemas presentes nas axilas foliares dos ramos podem evoluir, dependendo dos estímulos recebidos, a gemas vegetativas ou frutíferas. A mudança fisiológica que condiciona uma gema a formar flores é denominada indução floral, sendo um processo reversível (Rallo, 1998).

Segundo Rallo e Fernández-Escobar (1985) e Rallo (1998), frutos em desenvolvimento atuam como inibidores da indução floral, sendo que a eliminação destes, no intervalo de 6 a 7 semanas após a plena floração, aumenta a floração do ano seguinte. Esta inibição pode ser devido à ação de giberelinas que são sintetizadas na semente dos frutos em formação (Fernández-Escobar et al., 1992).

A iniciação floral é definida como alterações irreversíveis, de caráter histoquímico ou morfológico, que levam a modificações da condição de uma gema após a indução floral. Para a oliveira, estas modificações estão associadas com o incremento do número de nós e de RNA nos meristemas apicais das gemas (Rallo, 1998).

Após a iniciação floral, as gemas entram em um estado de latência, que caracteriza-se pela ausência de crescimento visível em qualquer estrutura dos tecidos meristemáticos. Se estabelecem as seguintes causas como responsáveis pela latência das gemas florais: causas endógenas, em que as gemas carecem de capacidade de crescimento, ainda que as condições sejam favoráveis (endolatência ou repouso) e condições ambientais desfavoráveis (ecolatência ou quiescência) que não permitem o crescimento meristemático. O período de tempo em que as gemas recuperam sua capacidade de crescimento é denominado saída de repouso. A causa determinante do desaparecimento da endolatência em oliveira, igualmente a outras espécies frutíferas caducifólias, é o frio hibernal, conhecido como necessidade de frio (Rallo, 1998).

2.1.4.2 Crescimento vegetativo e reprodutivo

A partir do momento da brotação, em que se inicia tanto o desenvolvimento de novos brotos como de inflorescências, sucede-se uma série de processos, que vão determinar o crescimento vegetativo total da árvore e sua produção, estabelecendo forte relação de competição por assimilados entre ambos processos. Neste período, foi observado que um estresse hídrico ou carências nutricionais ocasionam redução do número de flores por inflorescência e aumentam a taxa de aborto ovárico (Rallo, 1998).

Por outro lado, condições climáticas durante a floração também são determinantes para a polinização e o vingamento do fruto. Temperaturas superiores a 30°C inibem o desenvolvimento do tubo polínico (Fernández-Escobar, Gómez-Velledor e Rallo, 1983), obtendo-se baixa porcentagem de vingamento de frutos e incremento do número de frutos partenocárpicos ou não fecundados.

Somente uma vez finalizado o período de concorrência por assimilados entre os jovens frutos em desenvolvimento e ovários sem fecundar, caracterizado por uma grande abscisão destes órgãos durante 6 ou 7 semanas depois da floração, é que ficará definido o número final de frutos e, portanto, a carga produtiva da árvore (Rallo, 1998).

2.1.4.3 Polinização e fecundação

A polinização e fecundação são requisitos essenciais para formação e vingamento dos frutos. Entretanto, em oliveira também formam-se frutos partenocárpicos. Estes frutos são menores que os normais, não têm valor

econômico e, em muitos casos, não permanecem na árvore até a colheita (Rapoport, 1998).

A polinização começa com a chegada do grão-de-pólen ao estigma. Com sua germinação, os tubos polínicos penetram pelas papilas estigmáticas e começam o caminho até o primórdio seminal. Passam pelo estigma e, em continuação, pelo tecido transmissor do centro do estilo. Somente um tubo polínico, ou uns poucos, passa a base do estilo e penetra na parte superior do ovário (Cuevas, Rapoport e Rallo, 1995).

As interações entre tubo polínico e estilo representam um importante ponto de controle da fecundação para os frutos de oliveira. Ali ocorre a seleção de um só tubo polínico, fenômeno chamado seleção gamética, pelo qual alguns gametas são preferidos em detrimento de outros, para a fecundação. Assim, a autoincompatibilidade em oliveira expressa-se pelo atraso dos tubos polínicos da mesma cultivar para atravessar o estigma. Por esta razão podem não chegar a tempo para encontrar primórdios seminais viáveis (Cuevas, 1992).

Segundo Loussert e Brousse (1980), a polinização cruzada aumenta o vingamento dos frutos e a produção de muitas cultivares, embora nem sempre ocorra desta maneira (del Rio e Caballero, 1999). Isto pode ser observado porque a velocidade de crescimento do tubo polínico é maior quando o grão-de-pólen origina-se de uma variedade distinta (Rapoport, 1998).

O tubo polínico “ganhador” entra em um dos dois lóculos, desloca-se sobre o funículo e chega até ao micrópilo de um primórdio seminal, onde penetra por uma das sinérgidas e descarrega seu conteúdo de dois gametas. No processo de dupla fecundação, característica básica das angiospermas, um dos dois gametas masculinos procedentes do tubo polínico une-se à ovocélula e o outro aos núcleos polares (Rapoport, 1998).

Da união de um gameta masculino com a ovocélula forma-se o zigoto, que logo se transforma em embrião. O zigoto mantém-se, a princípio, sem atividade até 3 ou 4 semanas após a floração, momento em que começa seu crescimento. O segundo gameta masculino une-se com os núcleos polares para formar o endosperma, tecido que serve para nutrir o embrião. Em oliveira, o endosperma apresenta grande desenvolvimento após a fecundação (Rapoport, 1998).

Como consequência da fecundação, um dos quatro óvulos, chamado óvulo funcional, começa a desenvolver-se como semente. Os outros três óvulos abortam e terminam degenerando. A fecundação, que determina o óvulo funcional e o desenvolvimento e crescimento deste, estimula o crescimento do ovário para formar o fruto e determinar seu vingamento (Rapoport, 1998).

2.1.4.4 O fruto

O fruto, denominado azeitona, é uma drupa de tamanho pequeno e forma elipsoidal, cujas dimensões variam em função da variedade, podendo apresentar entre 1 a 4 cm de comprimento e diâmetro de 0,6 a 2 cm. Possui uma só semente e é composto de três tecidos fundamentais: endocarpo, mesocarpo e exocarpo (Rapoport, 1998). O endocarpo corresponde ao caroço, o mesocarpo à polpa e o exocarpo à pele. Ao conjunto destes tecidos denomina-se pericarpo, que origina-se da parede do ovário.

O caroço ou endocarpo pode apresentar diversas formas, tamanhos, simetrias e relevo em superfície, devido ao distinto número e continuidade de sulcos fibrovasculares originados pela pressão dos vasos que separam o mesocarpo e o endocarpo durante o desenvolvimento do fruto. Esses caracteres são utilizados como principal critério morfológico de classificação para a

identificação de variedades de oliveira (Barranco et al., 2000). A semente madura encontra-se no interior do caroço. A cobertura seminal encerra o endosperma, onde estão embebidos os cotilédones planos em forma de folha, a plúmula e a radícula (Rapoport, 1998).

O mesocarpo apresenta células parenquimáticas, pouco diferenciadas, mas com elevada capacidade de crescimento. A acumulação de azeite nas células do mesocarpo se localiza nos vacúolos (King, 1938, citado por Rapoport, 1998).

O exocarpo, também denominado epicarpo, é a parte externa que envolve o fruto. Está constituído por uma delgada capa de células monoestratificadas com a parede coberta de cutina, pela epiderme e cutícula. Em algumas variedades observa-se a presença de pontos brancos, que tratam-se de lenticelas, pelas quais pode ocorrer intercâmbio gasoso (Rapoport, 1998).

Em frutos totalmente desenvolvidos, a polpa representa de 70% a 90%, o caroço entre 9% e 27%, e a semente de 2 a 3 % do seu peso total (Hermoso et al., 1998). Em qualquer caso, estas percentagens variam de forma notável, em função da variedade, estado de maturação do fruto e produção da planta. Os componentes principais da polpa e da semente são a água e o azeite (Fernández et al., 1985), com percentagem variando de 50% a 60% para água e 20% a 30% para azeite, existindo uma relação inversa entre eles. Na semente, a água representa, em média, 30% e o azeite 20% do peso total (Hermoso et al., 1998).

Outros componentes, quantitativamente importantes na composição da polpa, são os açúcares redutores que podem alcançar um valor de 3% a 4% de seu peso, destacando-se, por sua importância, glucose, frutose e sacarose. A fração de polissacarídeos presentes na polpa está constituída fundamentalmente por celulose, hemicelulose e lignina, numa percentagem da ordem de 4%. Relacionadas com a consistência da polpa, as substâncias pécticas representam de 0,3% a 0,6% de seu peso (Hermoso et al., 1998).

O conteúdo de proteína da polpa é de 1% a 3% do peso total, sendo a arginina o aminoácido mais importante. Outros componentes que alcançam porcentagens importantes na polpa são os compostos fenólicos, que podem chegar a valores compreendidos entre 1% e 3% de seu peso fresco (Hermoso et al., 1998; Beltrán, 2000).

A semente apresenta um conteúdo de carboidratos de 27% e um elevado conteúdo de proteínas de 10%. A fração fenólica presente na semente também é elevada, entre 0,5% e 1%, não havendo estudos comparativos entre variedades. Por último, o caroço está constituído fundamentalmente por celulose, com aproximadamente 30% e outros carboidratos com 41% (Hermoso et al., 1998).

2.2 Propagação

2.2.1 Enxertia como método de propagação

A enxertia é uma forma de propagação assexuada de plantas superiores, em que se juntam partes de tecidos de duas plantas, de maneira que se unam e continuem seu crescimento como uma única planta (Hartmann, Kester e Davies, 1990). Em geral, é constituída de duas partes, enxerto ou garfo e porta-enxerto ou cavalo e, eventualmente, uma parte intermediária, chamada interenxerto ou filtro (Pádua, 1983; Fachinello et al., 1994).

É utilizada para a propagação de espécies que não se adaptam a outros métodos, para obter benefícios determinados pelos porta-enxertos ou por enxertos intermediários, para trocar variedades copa, para acelerar o crescimento de plantas de interesse, para recuperar partes danificadas de plantas e para estudar doenças causadas por vírus (Hartmann, Kester e Davies, 1990).

Neste sistema de propagação, há influência de uma planta sobre a outra. O efeito do porta-enxerto na copa pode ser ananizante ou revigorante, indutor de precocidade de produção e resistência a pragas e doenças (Hartmann, Kester e Davies, 1990).

Segundo Murayma (1973), citado por Ledo (1991), na enxertia todo broto desenvolvido sobre uma das partes possui o mesmo genótipo da planta-matriz. A combinação resultante, no entanto, é diferente das plantas originais, havendo ganhos de qualidades específicos de ambas as plantas envolvidas e em uniformização de características desejáveis.

Vários fatores influem na perfeita união do enxerto com o porta-enxerto. Entretanto, um dos problemas que podem inviabilizar este método de propagação é a incompatibilidade, que pode ser de natureza anatômica ou fisiológica e, em geral, resulta em sintomas imediatos. Ela pode causar a morte prematura das plantas ou provocar sintomas que se manifestam ao longo de alguns anos, também levando à morte das plantas (Driessen e Souza Filho, 1986; Hartmann, Kester e Davies, 1990).

O gradiente de diâmetro entre enxerto e porta-enxerto e a formação de linha necrótica na região da enxertia podem ocorrer nas uniões sem sucesso, naquelas resultantes em tecidos pouco coesos ou em uniões normais. A causa básica é a degeneração do floema, que restringe o movimento de carboidratos no ponto de enxertia, causando acúmulo na parte superior e deficiência na parte inferior. Estes sintomas podem ser provocados por viroses ou por defeitos de enxertia, casos que não caracterizam incompatibilidade (Mosse, 1962, citado por Ledo, 1991). O gradiente de diâmetro é considerado incompatibilidade translocada (Driessen e Souza Filho, 1986; Hartmann, Kester e Davies, 1990), que não pode ser confundido com o crescimento secundário observado na maioria das espécies (Ferri, 1964).

Segundo Barbosa et al. (1996), citados por Reis (1999), na propagação do marmeleiro, o uso de porta-enxerto da mesma espécie permitiu a formação de pomares compactos, resultando em árvores de pequeno porte e de rápida frutificação. Entretanto, esta combinação de enxertia tem mostrado um comportamento vegetativo e reprodutivo bastante variável, formando raízes superficiais e com moderada fixação, manifestando sensibilidade a solos secos, além de não tolerar o calcário ativo, evidenciando cloroses, mesmo em solos com baixos teores deste material.

Muitas espécies podem ser propagadas por enxertia, com resultados vantajosos (Ramos, 1983; Gama, 1983; Hoffmann et al., 1998). Na propagação de cultivares copa de macieira, dois sistemas de enxertia são mais utilizados: a borbulhia e a garfagem (Driessen e Souza Filho, 1986).

Cobo (1981), comparando diversos tipos de enxertia na propagação de macadâmia (*Macadamia integrifolia* Maiden & Betche), verificou efeito sobre o pegamento e também do anelamento do garfo sobre o êxito da enxertia.

Ledo (1991), estudando respostas de três gravioleiras (*Annona muricata* L.) a dois métodos de enxertia, observou que tanto a garfagem a inglesa simples quanto a garfagem no topo foram eficazes na propagação das gravioleiras enxertadas. Entretanto, verificou maior acúmulo de matéria seca no sistema radicular, bem como maior vigor das plantas enxertadas quando utilizou o método de garfagem a inglesa simples.

2.2.1.1 Enxertia em oliveira

Para a cultura de oliveira, a propagação por enxertia é limitada pela falta de estudos sobre a melhor combinação enxerto e porta-enxerto. Entretanto, foi

muito difundida na Itália, permitindo a obtenção de mudas para a formação de olivais na segunda metade do século XX (Jacoboni, Battaglini e Perziosi, 1976).

Os métodos de enxertia utilizados em campo variam entre regiões (Sotomayor-León, 1989). Em Andaluzia, na Espanha, utiliza-se o enxerto de garfagem, colocando-se dois ou três ramos com gemas em cada planta enxertada, sistema também utilizado na Califórnia (Hartmann, Opite e Bentel, 1986). Em Portugal, se usa enxerto de placa, colocando também dois ou três enxertos por cada rama (Sotomayor-León, 1989).

Em viveiro, a enxertia mais utilizada é a de garfagem, que consiste em introduzir o enxerto sob a casca do porta-enxerto previamente cortado transversalmente (Jacoboni, Battaglini e Perziosi, 1976).

Em países sul-americanos, como Argentina, Chile e Peru, a oliveira ainda é propagada utilizando-se enxertia da cultivar que se deseja reproduzir, em porta-enxertos do mesmo gênero e espécie, obtidos por meio da germinação de sementes coletadas das variedades Arbequina ou Moraiolo. Estes genótipos estes que produzem grandes quantidades de frutos, com sementes de pequenas dimensões e elevado percentual de germinação (Gobbato, 1945; Ubaldi, 1945; Jacoboni, Battaglini e Perziosi, 1976; Salvarredi, 1987).

Outro sistema utilizado no Egito é a enxertia em porta-enxertos obtidos por germinação de sementes, mas mantendo-o por dois ou três meses unido à árvore fornecedora do ramo a enxertar. Além deste caso, a enxertia somente é utilizada em regiões de tradicional indústria viverista, como Toscana na Itália e no Levante Espanhol, ou para trocar de variedade em oliveiras adultas, quando a nova variedade é muito difícil de enraizar (Caballero e del Rio, 1998).

A muda obtida por enxertia em viveiro é de qualidade, embora necessite de 4 a 5 anos para ser formada (Wiesman e Lavee, 1993). Além disso, ao ser arrancada perde boa parte do seu sistema radicular (Caballero e del Rio, 1998).

Em estudos recentes de relações recíprocas entre enxerto e porta-enxerto, Caballero e del Rio (1997) verificaram que em oliveira existe uma forte interação, que determina as características agrônômicas e pomológicas da combinação utilizada. Segundo estes autores, os ensaios realizados mostram que mediante o emprego de porta-enxertos pode-se modificar o vigor da planta, a produção de azeitonas e azeite, e o peso médio do fruto obtido. As respostas são variáveis em função das cultivares utilizadas, havendo a necessidade de estudos individuais de cada uma das possíveis combinações.

2.2.1.2 Enxertia em oliveira utilizando porta-enxertos de gênero e espécie distintos

Jacobini (1950), citado por Jacoboni, Battaglini e Perziosi (1976), foi o primeiro pesquisador a estudar melhores combinações para enxertia na cultura de oliveira. Posteriormente, outros estudos foram realizados, com o objetivo de verificar as possibilidades do uso de porta-enxertos de espécies de gêneros distintos, como *Phyllirea*, *Ligustrum*, *Syringa*, *Chionantus*, *Fontanesia*, *Forsythia*, *Fraxinus* e *Forestiera*, buscando efeitos ananizantes.

Estudos realizados na Califórnia por Hartmann, Opite e Bentel (1986), com enxertia de variedades de *Olea europaea* L. em porta-enxertos distintos, permitiram observar incompatibilidade entre enxerto e porta-enxerto. Além disso, verificou-se que as variedades Mission e Manzanilha, quando originárias de estacas enraizadas, apresentavam-se mais vigorosas e com colheitas mais abundantes se comparadas com resultados das mesmas variedades enxertadas. Os enxertos de variedades de *Olea europaea* L. em porta-enxertos de outras espécies, como *Olea ferruginea*, *Olea verrucosa* e *Olea chrysoylla*, não obtiveram resultados satisfatórios. Foi observado um crescimento excessivo no

ponto de enxertia, além da produção de numerosos frutos inaptos, seguido de um amarelecimento, murcha e queda de folhas, resultando na morte das plantas.

2.2.1.3 Enxertia e enraizamento sob túnel plástico em mesa

Não dispondo de porta-enxertos que conferem características de interesse às principais variedades, o enraizamento de estacas continua sendo o sistema de propagação mais utilizado para produzir mudas de oliveira. Entretanto, algumas variedades apresentam dificuldade em emitir raízes, mesmo utilizando o método de nebulização e tratamento com AIB (del Rio, Caballero e Rallo, 1988).

Com o objetivo de possibilitar a propagação de variedades de difícil enraizamento, foram realizados estudo de enxertia em túneis plásticos instalados em bancadas ou mesas. Nestes túneis a nebulização é substituída por um ambiente saturado de umidade, o que se consegue cobrindo com lâminas de plástico que vedam herméticamente a bancada de enraizamento (Fontanazza e Jacoboni, 1976) e utilizando como porta-enxerto uma variedade de fácil enraizamento.

Quando utilizam-se porta-enxertos clonais, as estacas semilenhosas podem ser enraizadas previamente, sob nebulização, em qualquer época do ano ou em ambiente fechado, com lâmina plástica, somente nos meses de outono e inverno ou quando o enxerto e o enraizamento se deseja obter simultaneamente. Para isto, a utilização de material vegetal em estado de crescimento vigoroso favorece ambos os processos porque assegura melhores resultados nestas datas de relativo ou completo repouso (Sotomayor-León e Caballero, 1994).

Na fase de cicatrização do enxerto, simultânea ou posteriormente ao enraizamento, é necessária a utilização de túnel plástico em mesas, já que a nebulização diminui a temperatura dos tecidos implicados e, conseqüentemente, o

êxito da enxertia. Além do mais, os métodos de enxertia utilizados devem ser os que não dependem de uma boa separação da casca ao preparar o enxerto e porta-enxerto (Caballero e del Rio, 1998).

O enxerto sobre estacas enraizadas de uma variedade de fácil enraizamento permite a obtenção de plantas com quase um metro de altura, no mesmo tempo requerido para conseguir plantas auto-enraizadas, aproximadamente um ano (Caballero e del Rio, 1998).

Os enxertos podem também ser realizados sobre plântulas com pequeno tamanho, em torno de 12 cm de altura, conseguidas aos cinco ou seis meses após germinação da semente (Sotomayor-León e Caballero, 1994). Desta forma uma muda de viveiro enxertada pode ser produzida em um ano e meio. Portanto, em menor tempo, se comparado com os quatro ou cinco anos necessários ao enxertar sobre plantas de maior desenvolvimento em solo. Entretanto, este método de propagação não é recomendado, já que os porta-enxertos de sementes podem proporcionar alguma heterogeneidade entre as plantas enxertadas obtidas, pelo menos quanto ao vigor (Caballero e del Rio, 1998).

2.2.2 A estaquia como método de propagação

A estaquia é um método de propagação muito utilizado. Sua viabilidade depende da capacidade de formação de raízes adventícias de cada espécie, da qualidade do sistema radicular formado e do desenvolvimento posterior da planta propagada por este método na área de produção (Fachinello et al., 1994). Explora a possibilidade de as plantas regenerarem raízes partindo de uma porção de ramos, ou de regenerarem ramos a partir de uma porção de raízes. A partir de um pequeno segmento, é possível formar-se uma nova planta (Pádua, 1983; Hartmann, Kester e Davies, 1990).

A estaquia é caracterizada pela separação da planta-matriz de uma parte multicelular, que produzirá uma nova planta independente e idêntica à originária, exceto quando ocorre algum tipo de mutação (Valio, 1986; Hidalgo, 1993; Regina et al., 1998).

Utilizada também na propagação de variedades oriundas do melhoramento genético e na produção de porta-enxertos clonais, a estaquia só apresenta desvantagens quando a espécie manifesta baixo potencial genético para enraizar (Aroeira, 1957), resultando em percentual pequeno de mudas obtidas ou com sistema radicular insatisfatório. Mesmo assim, a utilização de técnicas, como nebulização intermitente, aplicação de reguladores de crescimento, anelamento, estiolamento e dobra de ramos, pode aumentar o índice de emissão de raízes, tomando o processo viável e econômico (Fachinello et al., 1994; Hoffmann et al., 1998).

A escolha do tipo de estaca a ser utilizado para o enraizamento depende da espécie que está sendo trabalhada. Muitas vezes, para uma mesma espécie, mais de um tipo de estaca pode ser utilizado, com resultados igualmente satisfatórios (Hartmann, Kester e Davies 1990).

Outro aspecto importante na propagação por estaquia é a seleção de material partindo de plantas progenitoras sadias, com vigor moderado e de variedades conhecidas. Devem se evitar plantas que tenham sido desfolhadas por um ataque de pragas e doenças ou que tenham apresentado um desenvolvimento vegetativo vigoroso seguido de produção elevada (Winkler et al., 1974).

Algumas espécies de frutíferas podem ser propagadas comercialmente por este processo, permitindo, num curto período de tempo e pequeno espaço físico, obter muitas plantas de pequenas quantidades de ramos vegetativos, com baixo custo (Pádua, 1983; Silva, 1983; Chalfun e Hoffmann, 1997). Apresenta

ainda a vantagem adicional de não apresentar problemas de incompatibilidade ou má união de enxerto e porta-enxerto (Hartmann, Kester e Davies, 1990)

Para o enraizamento de estacas de figueira (*Ficus carica* L.), observa-se que a estratificação em até quinze dias não altera o potencial de enraizamento das estacas. Melhores resultados foram obtidos quando utilizou-se areia/solo como substrato e concentração de 100 mg.L⁻¹ do regulador de crescimento ácido indolbutírico (AIB) (Antunes, 1995).

Antunes (1999), em estudos sobre o potencial de enraizamento de estacas lenhosas de sete cultivares e uma seleção de amoreira-preta (*Rubus* spp), verificou efeito de cultivares sobre esta variável, sendo Brazos, Caingangue, Tupy, Guarani e Ébano apresentaram percentuais de enraizamento de estacas superiores a 85%.

Bueno (1995), avaliando diversos tipos de propagação de aceroleira (*Malpighia glabra* L.), concluiu que a melhor época para sobrevivência, calejamento e enraizamento de estacas desta espécie é o mês de novembro, utilizando-se de estacas lenhosas.

Estudos de Biasi (1996) com porta-enxertos de videira, avaliando efeito do diâmetro em estacas lenhosas, demonstraram que este fator não afeta o pegamento das mudas. Entretanto, as estacas mais grossas originaram mudas mais vigorosas. Este autor observou a viabilidade do uso de estacas semilenhosas preparadas com uma gema e uma folha, na ausência do regulador de crescimento para a obtenção de mudas.

2.2.3 Métodos tradicionais de enraizamento de estacas lenhosas de oliveira

A oliveira emite raízes adventícias em propágulos de diversos tamanhos, o que aliado à fácil regeneração de gemas latentes, confere boa capacidade de

multiplicação vegetativa. Na Espanha, o método tradicional mais usado até há poucos anos era o enraizamento direto, nas covas da área de plantio, de estacas lenhosas com aproximadamente 60 cm de comprimento e 5 a 10 cm de diâmetro. Normalmente as estacas eram provenientes de ramo cortado ao realizar-se a poda de renovação de plantações em produção. Também foram utilizadas estacas mais curtas, em torno de 20 cm, postas a enraizar em solos de viveiro ou, mais recentemente, em sacolas plásticas (Caballero, 1981).

Devido ao tamanho do propágulo, a obtenção de novas plantas, partindo de estacas com este padrão, requer grande quantidade de material vegetal. Na maioria das ocasiões, este fator não permite assegurar a identidade varietal nem sanitária da nova planta (Caballero e del Rio, 1998).

O arranquio das plantas de viveiro em raiz nua deixa na terra parte das raízes formadas, implicando em um desequilíbrio entre o sistema radicular e a parte aérea, nada favorável a seu rápido crescimento posterior. Ainda que estas mudas sejam obtidas em sacolas plásticas, o sistema radicular tampouco cresce muito, já que primeiro brotam gemas latentes da estaca e, depois, estas produzem raízes na base desta nova brotação (Caballero e del Rio, 1998).

Em algumas zonas de produção de oliveira no norte da África e Oriente Próximo, utilizam-se pedaços da base de velhos troncos, denominados “zuecas”, o que ocasiona um debilitamento da árvore de onde são extraídos (Caballero e del Rio, 1998).

2.2.4 Enraizamento de estacas semilenhosas sob nebulização e tratamento com regulador de crescimento

Os primeiros trabalhos de pesquisa para obtenção de plantas de oliveira auto-enraizadas foram realizados há mais de 30 anos (Hartman e Loreti, 1965). A

boa difusão do método e a melhor qualidade das plantas obtidas contribuíram de maneira eficaz para o desenvolvimento do setor de viveiros para produção de mudas, estratégico para o desenvolvimento da olivicultura em qualquer região (Caballero e del Rio, 1994; Caballero e del Rio, 1998; del Rio e Proubi, 1999).

A capacidade de enraizamento por estaquia semilenhosa é um carácter que mostra alta variabilidade entre cultivares. Algumas enraizam com facilidade e outras com dificuldade ou não enraizam. Diversos fatores, tanto intrínsecos como extrínsecos ao material vegetal, são os responsáveis por este comportamento, o que, às vezes, dificulta a coincidência dos resultados obtidos por diferentes autores, inclusive em ensaios realizados com uma mesma cultivar.

2.2.4.1 Fatores que afetam o enraizamento

2.2.4.1.1 Anatômicos

As raízes adventícias têm sua origem em certos grupos de células já diferenciadas, que adquirem novamente características meristemáticas após um processo de desdiferenciação. Em alguns gêneros, estas raízes iniciais se formam durante os primeiros períodos de desenvolvimento do talo (*Salix*, *Jasminum*, *Pópulus*, *Ribes* e outros). Contudo na maioria das plantas, incluindo a oliveira, se formam uma vez que a estaca seja submetida a condições de umidade e temperatura favoráveis. Hartmann, Kester e Davies (1990) dividem o processo de desenvolvimento de raízes adventícias em três etapas: a) desdiferenciação celular, necessária para a formação de raízes iniciais; normalmente estas se originam no floema secundário jovem, no câmbio ou na medula; b) diferenciação destes grupos de células em primórdios radiculares e c) crescimento e emergência das novas raízes, seguidos do estabelecimento de conexões vasculares entre a raiz e a

estaca. A primeira fase depende fundamentalmente de fatores genéticos, sobre os quais influem auxinas e cofatores de enraizamento. As outras duas, de fatores nutricionais, entre eles hidratos de carbono e componentes nitrogenados.

Durante alguns anos, tratou-se de relacionar a dificuldade de enraizamento de algumas cultivares de oliveira com a continuidade do anel esclerenquimático lignificado presente no talo desta espécie (Ciampi e Gellini, 1963). Entretanto, foi mostrado que, em algumas variedades que apresentam dificuldade de enraizar, este anel era descontínuo ou inexistente e que outras com um anel contínuo eram de fácil enraizamento (Sachs, Loreti e Bie, 1964). Na realidade uma vez que a estaca é submetida a condições adequadas, em bancadas de casa de nebulização, produz em sua base um ativo crescimento celular de zonas parenquimáticas do floema e do córtex. Este crescimento, denominado calo, exerce uma forte pressão sobre o anel esclerenquimático, rompendo sua continuidade, sem que isto assegure a formação de raízes, se não houver diferenciação em primórdios de raiz (Troncoso et al., 1975; Avidan e Lavee, 1978; Fabri, 1980; del Rio, Caballero e Rallo, 1988).

2.2.4.1.2 Fisiológicos

2.2.4.1.2.1 Reguladores de crescimento

A auxina é um fator limitante para o enraizamento de estacas semilenhosas de oliveira (del Rio, Caballero e Rallo, 1988; Caballero e del Rio, 1994), sendo o AIB a auxina sintética mais utilizada. O tratamento auxínico é realizado normalmente por imersão rápida (5 segundos) da base da estaca em uma solução hidroalcoólica (50% etanol e água) preparada com auxina nas

concentrações de 2000 a 4000 mg.L⁻¹ (Nahlawi et al.,1975; Bartolini, Fiorino e Bouzar, 1977; Daoud et al., 1989; Canozar e Ozahçi, 1994).

É conveniente considerar que a eficácia dos produtos auxínicos é distinta para cada espécie e está influenciada também pela concentração e o veículo que se utiliza para aplicá-los. Ademais, existem dificuldades relativas à preparação dos produtos auxínicos, devido à sua escassa solubilidade em água e os efeitos negativos que os solventes empregados para sua solubilização podem ocasionar às plantas. O solvente mais utilizado para a oliveira é o etanol, embora uma solução hidroalcoólica com mais de 50% de álcool possa ocasionar fitotoxidez, limitando a concentração máxima de auxina a aplicar.

Algumas alternativas eficazes para superar estas dificuldades consistem no emprego de pó de talco ou de argila com a auxina, ou o uso de sais de potássio de AIB solúveis em água (Caballero, 1981). Recentemente, foi demonstrada a possibilidade de melhorar a solubilidade em água e a absorção da estaca, mesclando a auxina com ciclodextrinas (Murai et al., 1995 citado por Cimato, 1999). Outros tratamentos combinados com AIB favorecem também o enraizamento. A putrescina, junto com AIB, aumentou o número de estacas enraizadas da cultivar Frangivento, acelerando a emissão de raízes e reduzindo sua desfolha (Rugini, Jacobini e Luppino, 1993). Tratamentos combinando AIB, PB (palcobutrazol) e UP (uréia fosfatada) melhoraram o enraizamento e mostraram um efeito positivo sobre a sobrevivência das plantas após o transplante (Wiesman e Lavee, 1993).

Alguns pesquisadores indicam que não é totalmente necessária a aplicação de auxina na base das estacas, já que se podem obter bons resultados de enraizamento aplicando duas vezes por semana AIB mediante pulverização foliar. Não obstante, os resultados são contraditórios (Panelli, Filipucci e Daddi, 1980).

As citocininas estão relacionadas com o desenvolvimento e a diferenciação celular, sendo as principais a zeatina, a cinetina, e a 6-benzil-adenina. Geralmente, essas substâncias inibem o enraizamento de estacas de algumas espécies (Humpries, 1960). Entretanto, às vezes, em pequenas concentrações, as citocininas estimulam o efeito do AIA na formação de raízes (Beck e Caponeti, 1983).

As giberelinas são conhecidas, principalmente, por seu efeito promotor de alongamento de ramos. Há evidências de que a aplicação de giberelinas em estacas bloqueia a atividade da auxina na diferenciação dos primórdios de raízes, possivelmente por interferência nos processos de síntese de ácidos nucleicos e proteínas (Key, 1969). Por isso, baixos níveis de giberelinas nos tecidos poderiam estimular a formação de raízes. De fato, várias substâncias químicas que interferem na atividade giberélica melhoram o enraizamento: SADH (Read e Hoysler, 1969; Wylie, Ryugo e Sachs, 1970), ácido abscísico (Chin, Meyer e Breevers, 1969; Basu, Roy e Bose, 1970) e gonadotropinas (Lesham e Lunenfield, 1968).

Na literatura especializada são encontradas informações contraditórias sobre o efeito do ácido abscísico (ABA) na formação de raízes adventícias (Basu, Roy e Bose, 1970; Rasmusen e Andersen, 1980). Sua influência depende aparentemente da concentração e do estado nutricional da planta-mãe de onde se obtiveram as estacas.

O etileno é outro regulador de crescimento que influi no enraizamento de estacas, embora a informação disponível sobre o assunto seja contraditória. Sabe-se que a auxina induz a produção de etileno, assim como o enraizamento, mas nem sempre foi possível estimular a rizogênese aumentando nas estacas a concentração deste gás e isto não implica sua exclusão do fenômeno. Não se observaram diferenças significativas na produção de raízes em estacas de oliveira

tratadas ou não com ethephon, um composto gerador de etileno. Entretanto, as tratadas somente com AIB desprenderam quantidades de etileno similares às tratadas com ethephon, observando-se, em ambos casos, as 24 horas do tratamento. Na testemunha, isto também foi observado, entretanto, em um momento mais avançado, duas semanas mais tarde (Bartolini, Briccoli-Bati e Vitagliano, 1973).

Também o pacobutrazol combinado com AIB melhorou o enraizamento das variedades Chalkidiki, mas não o de Kalamata (Kaukourikou-Petridou, Voyiatzis e Porlingis, 1999).

2.2.4.1.2.2 Hidratos de carbono

Aproximadamente 95% do peso da matéria seca de uma planta de oliveira é constituído por carbono, hidrogênio e oxigênio. Estes elementos combinam-se durante a fotossíntese, com participação de CO₂ atmosférico e água do solo, formando hidratos de carbono que, em geral, influenciam no enraizamento. Os restantes são formados principalmente por elementos classificados em macronutrientes como, N (nitrogênio), P (fósforo), K (potássio), Mg (magnésio), Ca (cálcio) e S (enxofre) (Fernandez-Escobar, 1998).

Como produtores de assimilados e de outras substâncias para o enraizamento, a presença de folhas e gemas nas estacas tem um papel chave na formação do novo sistema radicular. Para oliveira em experimentos de desfoliação e extração de gemas, verificou-se que as folhas e gemas são imprescindíveis para a iniciação de raízes e o posterior crescimento e emergência das raízes formadas (Fontanazza e Rugini, 1977; Avidan e Lavee, 1978; Caballero e Nahlawi, 1979; Suarez et al. 1979).

Existe uma relação entre o enraizamento e o conteúdo de hidratos de carbono presente nas estacas de ameixeira (Breen e Muraoka, 1974), palmeira (Reuveni e Adato, 1974), macieira (Doud e Carlson, 1977), cerejeira (Marangoni, Cristoferi e Rossi, 1982) e oliveira (Rallo e del Rio, 1990; del Rio e Caballero, 1991). Diversos estudos mostram a necessidade de um determinado equilíbrio entre a auxina e hidratos de carbono para a ótima produção de raízes, já que, durante o processo de enraizamento, ocorrem contínuas perdas de amido e açúcares solúveis na base da estaca, que comporta um forte dreno de assimilados (Davis, 1983; Bhattacharia, Strain e Bhattacharia, 1985; del Rio e Caballero, 1991).

A auxina endógena ou exógena dirige o transporte de açúcares até os locais de diferenciação dos primórdios de raízes, embora não esteja claro se isto responde a uma ação direta do hormônio na disponibilidade de assimilados que requer o dito processo. Do que não se tem dúvida, é de que a competição por estes compostos diminui a capacidade de enraizar. Assim, uma elevada atividade vegetativa reduz o enraizamento (Ali e Westwood, 1986) sendo uma prática habitual eliminar os novos brotos ou as gemas de flores para obter o máximo percentual de estacas enraizadas. Em geral, o enraizamento é ótimo se as estacas são coletadas em oliveiras em crescimento vegetativo; é menor se elas forem preparadas de ramos de árvores após a colheita; diminui ainda mais se utilizam-se árvores com produção, devido à presença de inflorescências ou frutos, chegando a ser nulo se os tais órgãos permanecem nas estacas durante o processo de enraizamento. A diferente disponibilidade de hidratos de carbono em estacas vegetativas e frutíferas até o momento da preparação e durante o processo de enraizamento explica estes resultados (del Rio e Caballero, 1991).

Por outro lado, a aplicação de açúcares aumenta a porcentagem de enraizamento de estacas de lúpulo, pessegueiro, abacateiro, macieira, roseira e

oliveira (Howard e Sykes, 1966; Bartolini e Fabri, 1982; Kossuth et al., 1982; Farina e Veruggio, 1985; del Rio, Caballero e Rallo, 1988). Uma atmosfera enriquecida em CO₂ durante o processo, tem uma influência favorável sobre a porcentagem, número e comprimento de raízes de estacas de ervilha (Davis, 1983) e batata (Bhattacharya, Strain e Bhattacharya, 1985), diminuindo o período de formação de raízes em pessegueiro (Kossuth et al., 1982).

A manutenção de estacas sem e com frutos em uma atmosfera enriquecida com CO₂ permitiu comprovar que, durante o período de enraizamento, se estabelece entre os frutos e a base da estaca uma competição por assimilados disponíveis, ocasionando um empobrecimento em hidratos de carbono que anula sua capacidade de enraizar (Rallo e del Rio, 1990). Esta influência do fruto é tão drástica que mesmo se aumentar a concentração normal de auxina de 3.000 mg.L⁻¹ para 10.000 mg.L⁻¹ ou 20.000 mg.L⁻¹ consegue-se estabelecer na base da estaca um dreno forte que possa competir com os órgãos frutíferos pelos assimilados disponíveis (del Rio, 1988).

2.2.4.1.3 Idade da planta-matriz

Em todas as espécies arbóreas, as estacas obtidas de plantas em estado juvenil enraizam melhor do que aquelas obtidas na fase adulta. Em oliveira não é diferente. Em trabalho de seleção de porta-enxertos até o terceiro ano, obtiveram-se porcentagens de enraizamento superiores a 90% (Cimato, 1999). Entretanto, em Israel, comprovou-se que a F₁ derivada de livre polinização da cultivar Manzanilla mostrou baixo enraizamento, sempre inferior ao da própria planta-mãe (Wiesman e Lavee, 1993). Também observou-se um decréscimo da capacidade de enraizar com a idade, ao utilizar estacas procedentes de plantas improdutivas de um a dez anos (Porlingis e Therios, 1976; Avidan e Lavee,

1978). Outros autores (Bartolini, Troncoso e Fiorino, 1979) não confirmaram tais resultados.

Não obstante, independente da idade, os melhores resultados foram obtidos sempre com estacas tomadas de planta-mãe com bom desenvolvimento vegetativo e os piores em coincidência com boa frutificação (Bartolini, Troncoso e Fiorino, 1979).

2.2.4.1.4 Época de preparo das estacas

Hartman e Loreti (1965) foram os primeiros pesquisadores a demonstrar que o enraizamento era melhor em estacas preparadas na primavera-verão do que no outono-inverno. Mais tarde, a maioria dos autores concordaram que as épocas definidas pelo final de cada um dos períodos de crescimento vegetativo da oliveira, final de primavera e início de outono, são os mais convenientes para a propagação (Filipucci, 1974; Porlingis e Therios, 1976). Entretanto, foram os resultados dos trabalhos mais recentes que permitiram definir uma melhor época de preparo das estacas, referindo-se não a uma data mas sim a um estágio fenológico da planta-mãe (Fontanazza e Rugini, 1981; Pannelli, Filipucci e Casano, 1983; del Rio e Caballero, 1991; Abousalim, Walali e Slaoui, 1993).

A opinião dos autores coincide com relação à importância da posição da estaca no ramo, embora os resultados obtidos com estacas apicais, médias e basais são, às vezes, contraditórios. Em geral, consideram-se as estacas médias ou apicais as mais convenientes (Troncoso, Prieto e Troncoso, 1972; Filipucci, 1974; Fontanazza e Rugini, 1978). Entretanto, del Rio, Caballero e Rallo (1986) obtiveram um melhor enraizamento com estacas basais, mostrando uma forte interação entre época, tipo de estacas e respostas ao AIB.

Em qualquer caso, as estacas tomadas de plantas de oliveira com um bom desenvolvimento vegetativo asseguram o êxito do enraizamento em qualquer época do ano, evitando a necessidade de eliminar as inflorescências ou frutos que estariam presentes se fossem tomadas de árvores em produção (del Rio e Caballero, 1991).

2.2.4.1.5 Fatores ambientais

2.2.4.1.5.1 Substratos para enraizamento

Os substratos para o enraizamento mais adequado são aqueles que tenham as condições necessárias para que os processos de iniciação e desenvolvimento das raízes adventícias das estacas ocorram com eficiência (Proubi, 1998). Além de livre de sementes, plantas daninhas, nematóides e qualquer outro organismo nocivo, devem ser suficientemente densos e firmes para manterem as estacas em seu lugar durante o enraizamento. Também devem reter suficiente umidade para não precisarem de irrigação freqüente e, ao mesmo tempo, serem bastante porosos para evitar possíveis encharcamentos acidentais (Proubi, 1998).

Vários substratos foram provados: turfa, perlita, vermiculita ou misturas dos mesmos (Nahlawi, Humanes e Philippe, 1975; Caballero, 1981). Também é possível usar areia lavada, embora tenha o inconveniente de produzir um sistema radicular de maior comprimento, não ramificado e mais frágil (Hartmann e Kester, 1980).

As estacas são colocadas no meio que se utiliza, a uma profundidade de 5 cm, procedendo previamente uma irrigação abundante para que o mesmo obtenha uma compactação adequada. A drenagem das mesas de propagação se consegue

com a colocação, sob o substrato, de camadas de areia fina e brita grossa intercaladas, até uma espessura total de 8 a 10 cm (Caballero, 1981).

2.2.4.1.5.2 Aquecimento do substrato

A temperatura do substrato, na profundidade em que se colocam as bases das estacas, deve manter-se entre 20°C e 24 °C, para o quê necessita-se de um sistema de aquecimento. Os sistemas mais comuns são os que utilizam passagem de água quente por tubos colocados sob o substrato, mantendo o intervalo de temperatura mediante um termostato. Também se pode fornecer calor por meio de cabos elétricos dispostos e regulados da mesma forma (Caballero, 1981). Outra possibilidade é aquecer o substrato pela passagem de corrente de ar quente, o que obriga que o mesmo saia através do substrato (Porras et al., 1992).

2.2.4.1.5.3 Nebulização

O ambiente em torno das estacas deve ser úmido (80% a 90%) e algo mais fresco, o que se consegue mediante uso de nebulização intermitente (Hartmann e Kester, 1980).

A nebulização se consegue com saída de água sob pressão por microaspersores de diversos tipos. A elevada umidade obtida mantém vivas as estacas até que enraizem, já que faz baixar a temperatura e a transpiração da folha devido à formação de uma película de água em torno da mesma. Isto determina um menor ritmo de respiração, uma diminuição da pressão de vapor interna da folha e, por conseguinte, de seu ritmo de transpiração. A nebulização não interfere na fotossíntese, o que origina um saldo positivo de assimilados,

imprescindíveis para a formação de raízes (Hartmann e Kester, 1980; Rallo e del Rio, 1990).

A nebulização deve ser intermitente para não molhar demasiado o substrato, nem baixar muito a temperatura das estacas e do substrato de enraizamento. Deve-se evitar possíveis perdas, por lavagem das folhas, de nutrientes ou compostos necessários para a iniciação radicular (Hartmann e Kester, 1980). Para isto é necessário um mecanismo que regule a frequência e duração da irrigação.

São vários os métodos que se utilizam para conseguir, de forma automática, o funcionamento intermitente do sistema de irrigação por microaspersores. O sistema de controle mais usado consiste em uma pequena placa de circuito impresso que atua como sensor de umidade, o qual deixa passar água por uma eletroválvula que, por sua vez, alimenta os microaspersores (Porrás et al., 1992; Porrás, Martín e Maldonado, 1998).

Em climas quentes e de forte radiação solar, a temperatura pode subir no interior da casa de nebulização, sendo aconselhável a instalação de um sistema de refrigeração. O mais empregado é o *cooling-system*, que substitui o ar quente por outro com alto conteúdo de umidade (Proubi, 1998).

Dentro da casa de nebulização, a temperatura não deve subir mais de 30°C, nem baixar de 20°C. Por isso, durante o inverno, é necessário um sistema de aquecimento do ambiente (Caballero, 1981).

2.2.5 Cultivo *in vitro* de embriões e micropropagação

Em cultura de tecidos, o cultivo *in vitro* de embriões e a micropropagação são dois métodos de propagação muito utilizados para muitas

culturas de interesse econômico, como suporte a programas de melhoramento genético e para propagação comercial.

A cultura de embriões *in vitro* teve início em 1904, para a obtenção de plântulas de embriões maduros de crucíferas. Tratando-se de uma técnica que permite estudar as necessidades nutricionais e físicas para o desenvolvimento do embrião, superar a dormência, testar viabilidade de sementes e salvar embriões híbridos imaturos oriundos de cruzamentos incompatíveis (Pasqual et al., 1997). Além disso para muitos vegetais, diminuir o tempo necessário para a germinação e obtenção de uma plântula, que é muito importante em programas de melhoramento genético de algumas culturas (Pierik, 1990).

De acordo com Illg (1986), o embrião originado de um processo normal de fecundação pode ser facilmente separado e cultivado sob condições assépticas em meio de cultura adequado, mantendo-se geneticamente estável e produzindo descendentes. Para a remoção do embrião, basta desinfestar a superfície externa da semente, visto que o embrião está alojado em ambiente estéril, protegido do ataque de microorganismos. Assim, o índice de contaminação *in vitro* é muito baixo quando é utilizado o embrião como explante.

Uma vantagem adicional do uso de embriões e de folhas jovens, como explantes para cultura de tecidos vegetais, é a não destruição de plantas-matrizes e a eficiência na micropropagação de algumas espécies (Pierik, 1990).

O meio de cultura adequado, tanto para propagação quanto para a cultura de embriões, deve ser adaptado para cada espécie. Segundo Andreoli (1986), diferentes meios são capazes de manter as culturas de embriões, mas o mais frequentemente utilizado é o MS (Murashige e Skoog, 1962) que, originalmente, foi desenvolvido para o cultivo de calos em tabaco (*Nicotiana tabacum* L.).

Muitas espécies, ao serem cultivadas *in vitro*, liberam exsudatos derivados da oxidação de compostos fenólicos, sendo necessária a utilização no meio de cultura de antioxidantes tais como: polivinilpirrolidona (PVP), ácido ascórbico, ácido cítrico e carvão ativado, sendo este o mais utilizado (Pasqual et al., 1997).

De acordo com Pierik (1990), os reguladores de crescimento não são requeridos na cultura de embriões maduros. Entretanto, para embriões muito jovens de algumas espécies, os reguladores são adicionados para suprir a germinação precoce ou estimular o seu crescimento.

Para alguns autores, as concentrações dos nutrientes do meio MS são geralmente consideradas elevadas. Por isso, muitas modificações têm sido avaliadas com a finalidade de reduzir os níveis de nutrientes, permitindo, desta maneira, maior adaptação de culturas *in vitro* (Pierik, 1990)

Segundo Caldas, Haridasan e Ferreira (1990), os carboidratos contidos no meio de cultura, fornecem energia metabólica e esqueletos de carbono para a biossíntese de aminoácidos e proteínas, polissacarídeos estruturais e demais compostos orgânicos necessários ao crescimento das células. Nas concentrações efetivas do meio de cultura, podem estimular determinado processo, inibir outro e, muitas vezes, as concentrações utilizadas para promover o crescimento dos explantes são inibitórias para a síntese de clorofila.

De acordo com Hoffmann (1999), o açúcar mais utilizado como fonte de energia e carbono em meio de cultura de tecidos vegetais é a sacarose, devido ao baixo custo e a facilidade de obtenção. Entretanto, é um componente que influi na perda de plantas por contaminação e na redução do pegamento por ocasião da aclimatização. Ainda segundo este autor, a concentração mais utilizada no preparo do meio de cultura é de 30g.L^{-1} , mas modificações desta concentração convencional podem beneficiar o cultivo *in vitro* e a aclimatização

Os trabalhos de micropropagação em oliveira iniciaram há algumas décadas, sendo a primeira área da cultura de tecidos a ser estudada (Rugini, 1991).

Em geral, as espécies que apresentam dificuldades de enraizamento de estacas *ex vitro* também manifestam esta dificuldade quando cultivadas *in vitro*. Algumas variedades de oliveira apresentam esta característica, mas, quando submetidas às condições de cultivo *in vitro*, sempre apresentam alto percentual de enraizamento (Rugini e Fontanazza, 1981). Estes autores observaram uma ou duas brotações em microestacas de oliveira, quando cultivadas em meio de cultura OM (olive medium), adicionado de zeatina ribosídeo.

Para o enraizamento *in vitro* são utilizadas brotações vigorosas, com aproximadamente 5 cm de comprimento, cultivadas em meio com baixas concentrações de sais minerais e açúcares, e as auxinas (ácido 3-indolacético-AIA, ácido indolbutírico-AIB, ácido α -naftalenoacético-ANA) substituem as citocininas. Melhores resultados têm sido observados com ANA (Jacoboni, 1989). Este mesmo autor estabelece as seguintes fases para o cultivo *in vitro* desta espécie: coleta de material, cultivo dos explantes, multiplicação, enraizamento e aclimatização.

Rugini e Fontanazza (1981), em trabalhos de propagação *in vitro* e aclimatização de oliveira, cultivar Dolce Agogia, observaram melhores resultados para proliferação de brotações, com metade dos componentes do meio MS suplementado com 10 mgL^{-1} de zeatina ribosídeo, $0,5 \text{ mgL}^{-1}$ de IBA e $0,5 \text{ mgL}^{-1}$ de giberelina- GA_3 e, para indução e diferenciação de raízes, 2 a 4 mgL^{-1} de ANA. Para a aclimatização de plantas, estes mesmos autores observaram melhores resultados com substratos constituídos de mistura de areia e turfa, obtendo sobrevivência de plantas de aproximadamente 60%.

Na Turquia, com a propagação de microestacas *in vitro* de duas cultivares de oliveira ('Memecik' e 'Domat') foi observado efeito de BAP (6-benzilaminopurina) e ANA no meio de cultura OM (olive medium) (Seyhan e Ozzambak, 1994).

Leitão, Duque e Fevereiro (1997), realizaram trabalhos experimentais na estação de pesquisa em Oeiras, Portugal, com o objetivo de adaptar técnicas de cultivo *in vitro* para a cultura da oliveira. Com vistas à multiplicação de clones selecionados e para induzir, por variação somaclonal, mutação gênica ou engenharia genética e resistência a doenças, os autores obtiveram resultados bastante promissores com as cultivares portuguesas Cordovil de Serpa, Verdeal Alentejana e Galega Vulgar.

2.2.5.1 Cultivo de embriões em oliveira

A finalidade do cultivo de embriões em oliveira é reduzir o ciclo de melhoramento genético desta espécie (Rugini e Fideli, 1990). As sementes de oliveira apresentam dormência devido a fatores endógenos localizados no endosperma e, por isto, o cultivo de embriões possibilita a germinação imediata (Cañas, Carramolino e Vicente, 1987; Rugini, 1991).

Foram utilizados diferentes meios para o cultivo de embriões de oliveira com altas porcentagens de germinação. Istambouli e Neville (1977) constataram que a presença de elementos minerais no meio de cultura não era essencial para a germinação de embriões. Nesta linha de investigação, Cañas, Carramolino e Vicente (1987) também observaram que a germinação era possível em um meio que continha somente ágar, embora tenham constatado também que as plântulas paralizavam seu crescimento depois de trinta dias de cultivo.

Clavero (1994), estudando a germinação de embriões *in vitro* de oliveira cv. Manzanillo, observou que reduções do nível de sais componentes do meio de cultura MS melhora significativamente o crescimento de plântulas de oliveira. Concluiu também que, no intervalo de 10 a 40 mg.L⁻¹ de sacarose, não há diferença para esta variável.

Estudos de Rugini (1984, 1990) possibilitaram a obtenção de germinação de embriões da cultivar Giarraffa, em um meio que incluía a formulação mineral do meio MS (Murashige e Skoog, 1962), com uma fonte adicional de Ca, zeatina ou 2ip (2mg.L⁻¹) e sacarose a 1%.

Istambouli e Neville (1977) observaram que a germinação de embriões desta espécie era inibida por hexoses (glicose, galactose e levulose) e manitol, a concentrações de 2% a 5%, contrariamente, iguais ou mais altas molaridades de sacarose e lactose não mostravam este efeito.

Para a cultivar Manzanillo, Cañas, Carramolino e Vicente (1987) obtiveram bons resultados cultivando embriões em meio de cultura proposto por Rugini (1984) para a multiplicação de explantes de oliveira, meio OM (olive medium), no qual eliminava-se a zeatina e adicionava-se BAP e ANA.

Todas as experiências realizadas com cultivo de embriões de oliveira foram realizadas a uma temperatura de 25°C. Sob estas condições, a germinação é estritamente dependente do tempo de coleta do fruto. Assim os embriões menos maduros sempre germinam mais lentamente (Rugini e Fideli, 1990).

Os primeiros sinais visíveis de germinação se manifestam com o enverdecimento dos cotilédones, quase simultaneamente com o alongamento da radícula (Rugini e Fideli, 1990). Depois de um período de quatro semanas pode-se conseguir plântulas com um ou dois nós e um bom sistema radicular (Rugini, 1990).

É importante assinalar que Cañas, Carramolino e Vicente (1987) observaram que as plântulas obtidas da germinação de embriões apresentavam folhas com características similares às de plantas adultas (cor verde-escuro e consistência firme), entretanto, com baixa produção e pobre viabilidade de protoplastos a partir deste tipo de folhas. Entretanto, os brotos obtidos depois da poda da gema apical apresentavam folhas com características juvenis, que constituíam uma boa fonte para o isolamento de protoplastos.

As plântulas obtidas do cultivo de embriões, quando são transplantadas para o solo, são muito sensíveis à desidratação, comparativamente com outras espécies lenhosas. Rugini (1991) recomenda um substrato de turfa/perlita (1:1) e um elevado nível de umidade durante quatro semanas. Posteriormente, reduz-se a umidade e pode-se transferir a vasos que contenham uma mistura de areia, terra e turfa (1:1:1). É possível que apareça uma dormência inicial, que é eliminada com aplicações de GA₃ (300 mg.L⁻¹).

3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABOUSALIM, A., WALALI, L.D.M. ; SLAOU, K. Efecto de la fase fenológica sobre el enraizamiento de las estaquillas semileñosas del olivo en tablillas termógenas. *Olivae*, Madrid, v. 46, p. 30-37, abr. 1993.
- ALI, N.; WESTWOOD, M. N. Rotting of pear cuttings as related to carbohydrates, nitrogen and rest perid. *Proceedings of the American Society Horticultural Science*, College park, v. 88, p. 145-150, 1986.
- ANDREOLI, C. Cultura de Embrião. In: SIMPÓSIO DE CULTURA DE TECIDOS VEGETAIS, 1., 1985, Brasília. Anais... Brasília: ABCTP/EMBRAPA, 1986. p.25-28.
- ANTUNES, L. E. C. Influência de diferentes períodos de estratificação, concentrações de ácido indolbutírico e substratos no enraizamento de estacas de figueira (*Ficus carica* L.). Lavras: ESAL, 1995. 53p. (Dissertação – Mestrado em Fitotecnia).
- ANTUNES, L. E. C. Aspectos fenológicos, propagação e conservação Pós-colheita de frutas de amoreira-preta (*Rubus spp*) no sul de Minas Gerais. Lavras: UFLA, 1999. 129 p. (Tese – Doutorado em Fitotecnia).
- AROEIRA, J. S. Da estaquia: princípios gerais e aplicações em horticultura. *Revista Ceres*, Viçosa, v. 10, n. 57, p. 211-233, 1957.
- AVIDAN, B.; LAVEE, S. Physiological aspects of the rooting ability of olive cultivars. *Acta horticulturae*, Wageningen, v. 79 p.93-101, 1978.
- BARRANCO, D.; CIMATO, A.; FIORINO, P.; RALLO, L.; TOUSANI, A.; CASTAÑEDA, C.; SERAFINI, F.; NAVAS, I. T. *Catalogo Mundial de Variedades de Olivo*. Madrid: Consejo Oleícola Internacional. 2000. 360p.
- BARTOLINI, G.; FABRI, A. Una doppia bagnatura per aumentare la sopravvivenza delle barbatelle di pesco. *Rivista Ortoflorofruitticoltura Italiana*, Firenze, v. 66, n.4, p.323-329, 1982.

- BARTOLINI, G., BRICCOLI-BATI, C.; VITAGLIANO, G.** Prime osservazioni sull'influenza dello sviluppo di etilene nella radicazione di talee di olivo propagate con la tecnica de nebulizzazione. *Rivista Ortoflorofruitticoltura Italiana*, Firenze, v.57, n.3, p.217-223, 1973.
- BARTOLINI, G., TRONCOSO, A.; FIORINO, P.** Radicazione di talle di olivo cv. "Frangivento" provenienti da piante madre allevate in ambienti diversi. *Rivista Ortoflorofruitticoltura Italiana*, Firenze, v. 63, p.269-278, 1979.
- BARTOLINI, G.; FIORINO, P. ; BOUZAR, M.** Research on the influence of steeping in water of cuttings. 3. effect of steeping in water with different pH [hydrogen-ion concentration] on the rooting of olive cuttings cv. "Frantoio". *Rivista Ortoflorofruitticoltura Italiana*, Firenze, v. 61, n. 6, p.409-417. nov/dic. 1977.
- BASU, R. N., ROY, B. N.; BOSE, T. K.** Interaction of abscisic acid and auxins in rooting of cutings. *Plant and Cell Physiology*, Tokyo, v. 11 p.681-684, 1970.
- BECK, M. J.; CAPONETTI, J. D.** The effects of kinetin and naphthaleneacetic on in vitro shoot multiplication and rooting in the fishtail fern. *American Journal of Botany*, Columbus, v. 70, n.1, p. 1-7, 1983.
- BELTRÁN, G. M.** Influência del proceso de maduración del fruto de *Olea europaea* L. sobre las características fisico-químicas de los aceites. Jaén: Universidad de Jaén, 2000. 343p. (Tesis Doctoral).
- BHATACHARYA, S; STRAIN, B. R.; BHATACHARYA, N. C.** Rooting of sweet potato stem cuttings under CO2 enriched environment and with IAA treatment. *HortScience*, Alexandria, v.20, n.6, p.1109-1110, 1985.
- BIASI, L. A.** Avaliação de desenvolvimento inicial de porta enxertos e de mudas de videira obtidos através de diferentes métodos de propagação. Piracicaba: ESALQ, 1996. 177p. (Tese - Doutorado em Fitotecnia).
- BREEN, P. J.; MURAOKA, T.** Effect of leaves on carbohydrate content and movement of 14C-assimilate in plum cuttings. *Journal America Horticultural Science*, Geneve, v. 99, n.4, p.326-332, 1974.

- BUENO, S. C. S. Estudo de diversos tipos de propagação da aceroleira (*Malpighia glabra L.*) Piracicaba: ESALQ, 1995. 76p. (Dissertação – Mestrado em Fitotecnia).**
- CABALLERO, J. M. Multiplicación del olivo por estaquillado semileñoso bajo nebulización. Madrid, Instituto Nacional de Investigaciones Agrarias, 1981. 39p. (Comunicaciones INIA, Serie Producción Vegetal, 31).**
- CABALLERO, J. M.; del RIO, C. Métodos de multiplicación, 89-113. In: BARRANCO, D. FÉRNANDEZ-ESCOBAR, R. RALLO, L. (Eds). El cultivo de olivo. 2. ed. Madrid: Junta de Andalucía/Mundi-Prensa, 1998. 651p.**
- CABALLERO, J. M.; del RIO, C. Propagación del olivo por enraizamiento de estaquillas semileñosas bajo nebulización. Sevilla: Consejería de Agricultura, Junta de Andalucía, 1994. 23p. (Comunicación I+D Agroalimentaria, 7/1994).**
- CABALLERO, J. M.; del RIO, C. Relaciones Recíprocas patrón-injerto en olivo. Fruticultura Profesional, Barcelona, n. 88, p.6-13, 1997. (Especial olivicultura,2).**
- CABALLERO, J.M.; NAHLAWI, N. Influence of carbohydrates and washing with water on the rooting of the Gordal cultivar of the olive (*Olea europaea L.*). Anais Instituto Nacional de Investigaciones Agrarias, Serie Producción Vegetal. Madrid, v.11, p. 219-230. 1979.**
- CALDAS, L. S.; HARIDASAN, P.; FERREIRA, M. E. Meios nutritivos. In: TORRES, A C.; CALDAS, L.S. Técnicas e aplicações da cultura de tecidos de plantas. Brasília: EMBRAPA-CNPQ/ABCTP, 1990. p. 37-70.**
- CAÑAS, L. A.; CARRAMOLINO, L.; VICENTE, M. Vegetative propagation of the olive tree from in vitro cultured embryos. Plant Science. Limerick, v.50, p.85-90, 1987.**
- CANÖZER, Ö.; ÖZAHÇI, E. Capacidad rizógena de cultivares de olivo de Turquía por estaquillado herbáceo bajo nebulización. Olivae, Madrid, v. 51, p. 29-33, abr. 1994.**

- CASTRO, C.; GUERREIRO, M.; CALDEIRA, F.; PINTO, P. Aspectos generales del sector oleícola en Portugal. **Fruticultura Profesional**, Barcelona, n. 88, p. 28-35, 1997. (Especial Olivicultura, 2)
- CHALFUN, N. N. J.; HOFFMANN, A. Propagação da Figueira. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 18, n.188, p. 9-13, 1997.
- CHIN, T. Y., MEYER, M. M.; BREEVERS, L. Abscisic acid stimulated rooting of stem cuttings. **Planta**, New York, v. 88, p.192-196, 1969.
- CIAMPI, A.; GELLINI, R. Insorgenza e sviluppo delle radici adventizie in *Olea europaea* L; Importanza della struttura anatomica agli dello sviluppo delle radichete. **Giornale Botanico Italiana**, Florence, v.70, p.62-64, 1963.
- CIMATO, A. El vivero olivícola. In: SEMINARIO INTERNACIONAL SOBRE INOVACIONES CIENTIFICAS Y SU APLICACIÓN EN LA OLIVICULTURA Y ELAIOTECNIA., 1999 Florencia. Anais... Florencia : 1999.
- CIVANTOS, L. La olivicultura en el mundo y en España. In: BARRANCO, D. FÉRNANDEZ-ESCOBAR, R. RALLO, L. (Eds.) **El cultivo de olivo**. 2.ed. Junta de Andalucía/Mundi-Prensa, 1998. p.17-33.
- CLAVERO, I. Acortamiento del periodo juvenil en olivo (*Olea europaea* L.). I. Cultivo in vitro de embriones. II. Efecto del fotoperiodo en el crecimiento de plantulas. Málaga: Universidad de Málaga, 1994. 163p. (Tesis Doctoral).
- COBO, J. M. A. P. Comparação de diversos métodos de enxertia na propagação da macadamia *Macadamia integrifolia* Maiden & Betche em São Paulo. Piracicaba: ESALQ, 1981. 47p. (Dissertação - Mestrado em Fitotecnia).
- CUEVAS, J. Incompatibilidad polen-pistilo, procesos gaméticos y frutificación de cultivares de olivo (*Olea europaea* L.). Córdoba: Facultad de Ciencias. Sec. Biológicas. Universidad de Córdoba, 1992. 132 p.(Tesis doctoral).

- CUEVAS, J.; RAPOPORT, H. P.; RALLO, L. Relationships among reproductive processes and fruitlet abscission in "Arbequina" olive. *Advances in Horticultural Science*, New York, v.2, p.92-96, 1995.
- DAOUD, D.A., AGHA, J.T., ABU-LEBDA, K.H.; AL-KAIAT, M.S. Efecto del AIB sobre el enraizamiento de estacas herbáceas de olivo. *Olivae*, Madrid, p. 27, n.6, p. 28-30, jun. 1989.
- DAVIS, T. D. Influence of photosyntheses and carbohydrates on adventitious root formation by leafy cuttings. *Dissertation Abstracts Internacional*, Ann Arbor, v.43, n.10, p.3090-3091, 1983.
- del RIO, C.; PROUBLI, A. Training Date Affects Height of Nursery Olive (*Olea europaea* L) Trees. *HortTechnology*, Alexandria, v.9, n.3, p.482-485, 1999.
- del RIO, C. Influencia de los hidratos de carbono y de la presencia del fruto en el enraizamiento de olivo por estaquillado semileñoso. Córdoba: Universidad de Córdoba, 1988. 148 p. (Tesis doctoral).
- del RIO, C.; CABALLERO, J. M. A new bag for olive pollination studies. *Acta Horticulturae*, Wageningen, v. 474, p.233, 1999.
- del RIO, C., CABALLERO, J. M. Effects of carbohydrate content on the seasonal rooting of vegetative and reproductive cuttings of olive. *Journal of Horticultural Science*, Ashford, v. 66, n.3, p.301-309, 1991.
- del RIO, C., CABALLERO, J. M.; RALLO, L. Influencia de la sacarosa sobre el enraizamiento de estaquillas vegetativas y fructíferas de variedad "Picual". *Olea*, Cordoba, v.19, p. 103, dic. 1988.
- del RIO, C., CABALLERO, J. M. RALLO, L. Influencia de las incisiones basales sobre la variación estacional del enraizamiento de estaquillas de "Picual" y Gordal sevillana". *Olea*, Cordoba, v.17, p.27-29, 1986.
- DOUD, S. L.; CARLSON, R. F. Effects of etiolation stem anatomy and starch reserves on root initiation of layered Malus clones. *Journal of the American Society Horticultural Science*, Geneva, v.102, n.4, p.487-491, 1977.

- DRIESSEN, A. C.; SOUZA FILHO, J.J.C. de. Produção de Mudas. In: EMPRESA CATARINENSE DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Manual da cultura da Macieira, Florianópolis: EMPASC, 1986. p. 202-223.
- FABRI, A. Influence of some anatomical characters on rooting of "Frangivento" olive cuttings. Influenza di alcuni caratteri anatomici sulla radicazione di talee di olivo cv. "Frangivento". *Rivista Ortoflorofruitticoltura Italiana*, Firenze, v. 64, n.4, p. 325-335. july/aug. 1980.
- FACHINELLO, J. C.; HOFFMANN, A.; NACHTIGAL, J. C.; KERSTEN, E.; FORTES, G.R. Propagação de plantas frutíferas de clima temperado. Pelotas: UFPEL, 1994. 179 p.
- FARINA, E.; VERUGGIO, R. Carbohydrate levels and rooting potential of rose cuttings (*Rosa hybrida*). The effect of glucose treatment. *Annali dell' Instituto Sperimentale per la Floricoltura*, Italy, v.14, n.1, p.47-66, 1985.
- FERNÁNDEZ-ESCOBAR, R.; BENLLOCH, M.; NAVARRO, C.; MARTIN, G. C. The time of floral induction in the olive. *Journal American Society Horticultural Science*, Geneve, v.117, p.303-304, 1992.
- FERNÁNDEZ, M. J.; CASTRO, R. de.; GARRIDO, A.; GONZALEZ, F.; NOSTI, M.; HEREDIA, A.; REJANO, C.; MINGUEZ, M. I.; DURÁN, M. C.; SÁNCHEZ, F.; GARCIA, P.; CASTRO, A. *Biotecnología de la aceituna de mesa*. Madrid: Servicio de Publicaciones del CSIC, 1985, 475p.
- FERNANDEZ-ESCOBAR, R. Fertilización. In: BARRANCO, D.; FERNANDEZ-ESCOBAR, R.; RALLO, L. (eds.) *El Cultivo de olivo*. 2.ed. Madri: Junta de Andalucía/Mundi-Prensa, 1998. p.237-257
- FERNÁNDEZ-ESCOBAR, R. Técnicas culturales para el control de la frutificación en el olivo. *Olivae*, Madrid, v.46, p.38. 1993.
- FERNÁNDEZ-ESCOBAR, R.; GÓMEZ-VELLEDOR, G.; RALLO, L. Influence of pistil extract and temperature on in vitro pollen germination and pollen tube growth of olive cultivars. *Journal Horticultural Science*, Ashford v. 58. p219-227, 1983.

- FERRI, M. G.** Botânica – Morfologia Externa das Plantas (Organografia). São Paulo: Melhoramentos, 1964, 149p.
- FILIPUCI, B.** La multiplicazione dell'olivo. 1) Ricerche su alcune fattori che influenzano la radiazione delle talee di olivo con la tecnica della nebulizzazione. *Annali dell' Istituto Sperimentale per l'Olivicoltura*. Cosenza, v.2, p.47-55, 1974.
- FONTANAZZA, G.; JACOBONI, N.** Il riscaldamento basale nella propagazione dell'olivo. *Frutticoltura*, Bologna, v.37, n.12 p. 9-15, 1976.
- FONTANAZZA, G.; RUGINI, E.** Effect of leaves and buds removal on rooting ability of olive tree cuttings. *Olea*, Cordoba, v.2, p.9-28, 1977.
- FONTANAZZA, G.; RUGINI, E.** Radicazione delle cultivar di olivo con il metodo dell "cassone riscaldato". *Revista delle colture Legnose da Frutta e della Ortofloricoltura*, Italy, v.43,n.2, p.39-44, 1981.
- FONTANAZZA, G.; RUGINI, E.** Sull'attitude di talee di olivo proveniente de plante madre trattate con GA3 e SADH. *Scienza e Tecnica Agraria*, Bari, v.18, n.3, p.75-85, 1978.
- FONTANAZZA, G.; RUGINI, E.** The rooting of olive cultivar in heated boxes. *Frutticoltura*, Bologna, v.43, p.39-44, 1981.
- GAMA, A. M. P. da.** Produção de mudas cítricas. *Informe Agropecuário*. Belo Horizonte, v. 9, n. 102, p. 20-27, 1983.
- GOBBATO, C.** Cultura da oliveira e noções sobre a industrialização das azeitonas. Porto Alegre: Editora Gráfica e Tipografia do Centro, S.A., 1945. 118p.
- GOMES, P.** A olivicultura no Brasil. 2. Ed. São Paulo: Nobel, 1979. 236p.
- HARTMANN, H. T.; KESTER, D. E.** Propagacion de plantas, principios y practicas. México: CECSA, 1980. 814 p.
- HARTMANN, H. T.; LORETI, F.** Seasonal variation in the rooting of olive cuttings. *Proceedings of the American Society Horticultural Science*, College Park, v.87, p.194-198, 1965.

- HARTMANN, H. T.; KESTER, E. D.; DAVIES, F. T. **Plant propagation: Principles and practices**. 5. ed. New Jersey: Prentice-Hall, 1990. 647p.
- HARTMANN, H.T.; OPITE, K.W.; BENTEL, J.A. La producción oleícola en Califórnia. *Olivae*, Madrid, v.8, n.11, p 24-65, 1986.
- HERMOSO, M.; UCEDA, M.; FRÍAS, L e BELTRAN, G. Maduración. In: BARRANCO, D.; FERNANDEZ-ESCOBAR, R.; RALLO, L "El cultivo del Olivo". 2.ed. . Madri: Mundi-Prensa, Junta de Andalucía, 1998, 651 p.
- HIDALGO, L. **Tratado de viticultura general**. Madrid: Mundi-Prensa, 1993. 983p.
- HOFFMANN, A. **Enraizamento e aclimação de mudas micropropagadas de porta-enxertos de macieira 'marubakaido' e 'M-26'**. Lavras: UFLA, 1999. 240 p. (Tese – Doutorado em Fitotecnia).
- HOFMANN, A ; CHALFUN, N. N. J.; ANTUNES, L. E. C.; RAMOS, J. D.; PASQUAL, M.; SILVA, C.R.de R e; **Fruticultura comercial - Propagação de Plantas frutíferas**. Lavras: UFLA-FAEPE, 1998. 282 p.
- HOWARD, B. H.; SYKES, J. Y. Regeneration of the hop plant (*Humulus lupulus*, L) from softwood cuttings. II Modification of the carbohydrate resouces within the cuting. *Journal Horticultural Science*, Ashford, v.41, p.155-163, 1966.
- HUMPRIES, E. C. Inhibition of root development of petioles and hypocotilos of dwarf bean (*Phaseolus vulgaris*) by kinetin. *Physiologia Plantarum*, Copenhagen, v.13, p.659-663, 1960.
- ILLG, R. D. Metodologia de seleção in vitro para resistência a fatores causadores de estresse. In: SIMPÓSIO NACIONAL DE CULTURA DE TECIDOS VEGETAIS, 1, Brasília, 1985. *Anais...*, Brasília: ABCTP/EMBRAPA, 1986. p.45-47.
- ISTAMBOULI, A.; NEVILLE, P. Influences de quelques glucides sur la germination de l'olivier. *Revue Generale Botanique*, Paris, v.84, p.305-317, 1977.
- JACOBONI, A. Cultivo In Vitro. *Olivae*, Madrid, v.6, n.25, p.31-34, 1989.

- JACOBONI, N.; BATTAGLINI, M.; PERZIOSI, P. Propagación del olivo. In: *Olivicultura Moderna*. Madrid: FAO-INIA, Editora Agrícola Española, 1976. cap. 6, p.150-169.
- KAUKORIKOU-PETRIDOU, M., VOYIATZIS, P.; PORLINGIS, Y. The effect of inorganic nutrients and etiolation on the propagation of olive with an improved method of mound layering. *Acta Horticulturae*, Wageningen, v.474, 47-50, 1999.
- KEY, J. L. Hormones and nucleic acid metabolism. *Annal Review Plant Physiology*, New York, v.20 p.449-474, 1969.
- KOSSUTH, S. V., BIGGS, R. H., VEBB, P. G.; PORTIER, K. M. Rapid propagation techniques for fruit crops. *Proceedings of the Florida State Journal Horticultural Science*, Ashford, v.94 p.323-328, 1982.
- LEDO, A. da S. Resposta de três gravioleiras *Annona muricat L* a dois métodos de enxertia. Viçosa: UFV, 1991. 52 p. (Dissertação – Mestrado em agronomia).
- LEITÃO, L.; DUQUE, A.S.; FEVEREIRO, P. Cultivo in vitro de variedades portuguesas de *Olea europae L*. objetivos y resultados. *Olivae*, Madrid, V.66, p. 54-55, 1997.
- LESHAM, Y.; LUNENFILD, B. Gonadotropin in promotion of adventitious root production on cuttings of begonia *Semperflorens* and *Vitis vinifera*. *Plant Physiology*, Bethesda, v.43, p.313-317, 1968.
- LOUSSERT, R.; BROUSSE, G. *El olivo*, Madrid: Ediciones Mundi Prensa, 1980. 533p.
- MARANGONI, B.; CRISTOFERI, G.; ROSSI, F. Rooting ability and carbohydrate metabolism in hardwood cherry cuttings. *Rivista Ortoflorofruttcultura Italiana*, Firenze, v.66, p.437-444, 1982.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and biossays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, Copenhagen, v. 15, p. 473-479, 1962.

- NAHLAWI, N.; HUMANES, J.; PHILIPPE, J.M. Factors affecting the rooting of olive tree cuttings [Beta indolebutyric acid, growth substances]. *Anais del Instituto Nacional de Investigación Agraria, Serie Producción Vegetal*, 5, P:147-166. 1975.
- NAHLAWI, N.; RALLO, L. CABALLERO, J.M.; EGUREN, J. The capacity of olive cultivars to root by cuttings under mist [Beta indolebutyric acid, growth substances]. *Anais del Instituto Nacional de Investigación Agraria, Serie Producción Vegetal*, 5, P:167-182. 1975.
- PÁDUA, T. Propagação de árvores frutíferas. *Informe Agropecuário, Belo Horizonte*, v.9, n.101, p. 11-19, 1983.
- PANELLI, G., FILIPUCCI, B.; DADDI, P. Rizogenesi e ciclo vegetativo in *Olea europaea* L cv. 'Frantoio', 'Leccino' e 'Morailo'. Influenza di trattamenti con fitoregolatori basali e fogliari a diverse concentrazioni. *Annali dell'Istituto Sperimentale per l'Olivicoltura*. Consenza, v.6, p.135-150, 1980.
- PANNELLI, G.; FILIPPUCI, B.; CASANO, F. Plant regulators and rooting environments for olive cuttings [Cultivars, Italy]. *Fitoregolatori ed ambienti per la radicazione di talee semilegnose di olivo*. *Frutticoltura*. Bologna: Edagricole. v. 45, n.6/7 p.51-56, june/july 1983.
- PASQUAL, M.; CARVALHO, G. R.; HOFFMANN, A.; RAMOS, J. D. *Cultura de tecidos, Tecnologia e Aplicações: Aplicações no melhoramento genético de plantas*. Lavras: UFLA. FAEPE, 1997. 117 p. (Curso de especialização - Pós-graduação "Latu sensu" por tutoria a distância).
- PIERIK, R. L. *Cultivo in vitro de las plantas superiores*. Madrid: Ediciones Mundi-Prensa, 1990. 326 p.
- PORLINGIS, Y. C.; THERIOS, Y. Rooting response of juvenile and adult leafy olive cuttings to various factors. *Journal Horticultural Science*, Ashford, v.51, p.31-39, 1976.
- PORRAS, A.; MARTIN, M. L. S.; MALDONADO, P. S. Mejora técnicas de la propagación del olivo bajo nebulización. *Olivae*, Madrid, v.74, 58-61, 1998.

- PORRAS, A.; SORIANO, M. C.; PEREZ, F.; FERNANDEZ, E.** Nueva tecnología para sistemas de control de propagación de plantas bajo nebulización. *Olivae*, Madrid, v.41, p.16-23, 1992.
- PROUBI, A.** Factores que influyen en el enraizamiento y crianza de plantas de olivo. Córdoba: Universidad de Córdoba, 1998. 86 p. (Tesis – Master of science).
- RALLO, L.** Fructificación y producción. In: **BARRANCO, D.; FERNÁNDEZ-ESCOBAR, R.; RALLO, L.** El cultivo del olivo. (eds) 2.ed. Madrid: Mundi-Prensa- Junta de Andalucía, 1998, 651 p.
- RALLO, L.; del RIO, C.** Effect of a CO₂ enriched enviroment on the rooting ability and carbohydrate level of olive cuttings. *Advances in Horticultural Science*, New York, v.4, n.2, p.129-130, 1990.
- RALLO, L.; FERNÁNDEZ-ESCOLBAR, R.** Influence of cultivar and flower thinning within the inflorescence on competitin among olive fruit. *Journal American Society Horticultural Science*, College park, v.110, n.2, p.303-308, 1985.
- RAMOS, V. H. V.** Produção de mudas de abacateiro. *Informe Agropecuário*, Belo Horizonte, v. 9, n. 102, p. 18-20, 1983.
- RAPOPORT, H. F.** Botánica y Morfología. In: **BARRANCO, D.; FERNÁNDEZ-ESCOBAR, R.; RALLO, L.** El cultivo del olivo. 2.ed. Madri: Mundi-Prensa- Junta de Andalucía, 1998. 651p.
- RASMUSEN, S.; ANDERSEN, A. S.** Water stress root formation in pea cuttings, II. Efect of abcsic acid treatment of cuttings from stock plants grown under two levels of irriadiance. *Physiologia Plantarum*, Copenhagen, v.48, p.150-154, 1980.
- READ, P. E.; HOYSLER, V. C.** Stimulation and retardation of adventitious root formation by application of B-Nine and Cycocel. *Journal of the American Society Horticultural Science*, College Park, v.94, p.314-316, 1969.
- REGINA, M. de A.; SOUZA, C. R. de; SILVA, T. das G.; PEREIRA, A. F.** A propagação da videira. *Informe Agropecuário*, Belo Horizonte, v. 19, n. 194, p. 20-27, 1998.

- REIS, J. M. R. **Uso de estiolamento e do ácido indolbutírico no enraizamento de estacas de *Pyrus calleryana* Dcne.** Lavras: UFLA, 1999. 64p. (Dissertação – Mestrado em Fitotecnia).
- REUVENI, O.; ADATO, Y. Endogenous carbohydrates, root-promoters, and root-inhibitors in easy and difficult to root Date palm (*Phoenix actylifera*, L.) offshoots. **Journal of the American Society Horticultural Science**, College Park, v.94, n.4, p.361-363, 1974.
- ROSSELOT, E. **Olivicultura: Caracterización del Sector Olivicultura.** Mendoza: Fundación Instituto de Desarrollo Rural, [199?]. 129 p.
- RUGINI, E. **In vitro culture of the olive. An overview of the present scientific status.** *Acta Horticulturae*, Wageningen, v.286, p.93-96, 1990.
- RUGINI, E. **Olive (*Olea europaea* L.).** In: BAJAJ, Y. P. S. (ed.). **Biotechnology in Agriculture and Forestry. Legumes and oilseed.** Berlin: Springer Verlag, 1991. p. 253-267.
- RUGINI, E. **In vitro propagation of some olive (*Olea europaea* L.) cultivars with different root ability and medium development using analysis data from developing shoots and embryos.** *Scientia Horticulturae*, Wageningen, v.24, p.123-134, 1984.
- RUGINI, E.; FEDELI, E. O. (*Olea europaea* L.) as an oil seed crop. In: BAJAJ, Y. P. S. (ed.). **Biotechnology in Agriculture and Forestry. Legumes and oilseed.** Berlin: Springer Verlag,, 1990. v.10, p.593-641.
- RUGINI, E.; FONTANAZZA, G. **In vitro propagation of “Dolce Agogia” Olive.** *HortiScience*, Alexandria, v.16, n.4, p. 492-493, 1981.
- RUGINI, E.; JACOBINI, A.; LUPPINO, M. **Role basal shoot darkening and exogenous putrescine treatment on in vitro rooting and on endogenous polyamine changes in difficult to root woody species.** *Scientia Horticulturae*, Amsterdam, v.53, p.63-72, 1993.
- SACHS, R., LORETI, F.; BIE, J. **Plant rooting studies indicate schlerenchyma tissue is not a restricting factor.** *California Agriculture*, Berkley, v.18, n.9, p.4-5, 1964.

- SALVARREDI, E.M. La olivicultura en la República Argentina. *Olivae*, Madrid, v. 4, n.18, p.20-27, 1987.
- SEYHAN, S.; ÖZZAMBAK, E. Cultivo de tejidos de dos variedades de olivo turcas. *Olivae*, Madrid, v. 52, p. 28-29, jun. 1994.
- SILVA, C. R. de R. Produção de mudas de marmeleiro. *Informe Agropecuario*, Belo horizonte, v. 9, n. 102, p. 31, 1983.
- SOTOMAYOR-LEON, E. M.; CABALLERO, J. M. Propagation of "Gorrdal Sevillana" olive by grafting onto rooted cuttings or seedlings under plastic-closed frames without mis. *Acta Horticulture*, Wageningen, v.356, p.39-42, 1994.
- SOTOMAYOR-LEON, E. M. Evaluación de distintos sistemas de propagación vegetativa del cultivar Gordal Sevillana (*Olea europaea* L.). Madrid: Universidad Politecnica de Madrid, 1989. 100 p. (Tesis doctoral).
- SUAREZ, M. P., LOPEZ-RIVAREZ, E. P., LAVEE, S.; TRONCOSO, A. Rooting ability of olive cuttings, cv. Gordal. Influence of presence o leaves and buds. *Acta Horticulturae*, Wageningen, v.474, p.39-41, 1979.
- TRONCOSO, A. VALDERREY, L., PRIETO, J.; LIÑAN, J. Algunas obsevaciones sobre la capacidad de enraizamiento de variedades de *Olea europaea*, L. bajo nebulización. *Anales Edafologia y Agrobiologia*, Madrid, v.34, p.7-8, 1975.
- TRONCOSO, A.; PRIETO, J.; TRONCOSO, C. Algunas observaciones sobre la multiplicación del olivo mediante nebulización. *Anales Edafologia y Agrobiologia*, Madrid., v.31, p.7-8, 1972.
- UBOLDI, A. *Tratado de olivicultura y extracción del aceite*. Buenos Aires: Suelo Argentino, 1945. 379p.
- VALIO, I. F. M.; Auxinas. In: FERRI, M.G. *Fisiologia Vegetal*. São Paulo: USP, 1986, v2, p.39-72.
- WIESMAN, Z.; LAVEE, S. Rooting ability of olive cutting from cv. Manzanillo F1 progeny plant in relation to their mother cultivars. *Acta Horticulturae*, Wageningen, v.356, p.28-30, 1993.

WINKLER, A.J.; COOK, J.A.; KLIEWER, W.M.; LIDER, L.A. **General viticulture**. 2. ed. Berkeley: University of California, 1974. 710p.

WYLIE, A. W., RYUGO, K.; SACHS, R. M. Effects of growth retardants on biosynthesis of gibberellin precursors in root tips of peas, *Pisum sativum*, L **Journal American Society Horticultural Science**. College Park, v.95, n.5, p.627-630, 1970.

CAPÍTULO II INFLUÊNCIA DA ÉPOCA DE COLETA, DO SUBSTRATO E DE CONCENTRAÇÕES DE AIB, SOBRE O ENRAIZAMENTO DE ESTACAS SEMILENHOSAS DE OLIVEIRA (*Olea europaea* L).

1 RESUMO

OLIVEIRA, A. F. de. Influência da época de coleta, do substrato e de concentrações de AIB, sobre o enraizamento de estacas semilenhosas de oliveira (*Olea europaea* L.). Lavras: UFLA, 2001. 122 p. (Tese - Doutorado em Agronomia/Fitotecnia).¹

Com o objetivo de avaliar o enraizamento de estacas semilenhosas de oliveira (*Olea europaea* L.), em combinações de diferentes épocas, substratos e concentrações de AIB-ácido Indolbutírico, foram conduzidos, na Fazenda Experimental da EPAMIG em Maria da Fé, MG, dois experimentos, sob condições de casa de vegetação rústica. As estacas foram coletadas da cultivar Ascolano 315, no mesmo dia da instalação dos experimentos, 09/02/2000 e 27/04/2000. O delineamento experimental utilizado nos dois experimentos foi o de blocos casualizados em esquema fatorial 4 x 4, compreendendo respectivamente quatro substratos: areia, vermiculita, areia/terra 1/1(v/v) e terra, e quatro concentrações: 0, 1.000, 3.000 e 5.000 mg.L⁻¹ de AIB, com quatro repetições. As parcelas experimentais foram constituídas de três vasos de cor preta, com capacidade de 1,2 litro de substrato, sendo utilizadas quatro estacas em cada vaso, que foram preparadas com aproximadamente doze centímetros de comprimento, cinco nós, mantendo em cada estaca quatro folhas. O tratamento com o regulador de crescimento foi realizado antes da instalação dos experimentos, por imersão de 2,5cm da base de cada estaca, durante o tempo de cinco segundos. Aos 75 dias, foram realizadas as seguintes avaliações: porcentagem de estacas enraizadas, número médio de raízes por estaca e maior comprimento de raízes. A análise estatística conjunta mostrou haver efeito para épocas, substratos e concentrações, em todas variáveis estudadas. Os resultados indicam ser possível o enraizamento de estacas desta espécie em instalações rústicas, obtendo-se 48,44% de enraizamento para o substrato areia/terra 1:1(v/v), e 44,28% quando utilizou-se o tratamento com AIB na concentração de 3.000 mg.L⁻¹, de estacas coletadas em 09/02/2000.

¹Comitê orientador: Moucir Pasqual – UFLA (Orientador), Nilton Nagib Jorge Chalfun – UFLA, Murillo de Albuquerque Regina – EPAMIG, Carmen del Rio Rincón – CIFA.

2 ABSTRACT

OLIVEIRA, A. F. de. Influence of the collection time, substrate and concentrations of IBA, on the rooting of semi-woody cuttings of olive tree (*Olea europaea* L.). Lavras: UFLA, 2001. 122 p. (Thesis - Doctorate in Agronomy/Crop Science).¹

With the objective of evaluating the rooting of semi-woody cuttings of olive tree (*Olea europaea* L.), in combinations of different times, substrates and concentrations (IBA) indolbutiric acid, two experiments, under rustic greenhouse conditions, were carried out on the EPAMIG experimental farm at Maria da Fé. The cuttings were collected from the cultivar 'Ascolano 315', on the same day of the experiments installation, March 2nd, 2000 and April 27th, 2000. The experimental design used in the two experiments was that of randomized blocks in 4 x 4 factorial scheme, comprehending, respectively, four substrates: sand, vermiculite, sand /earth 1/1 (v/v), earth, and four concentrations: 0, 1000, 3000 and 5000 mg.L⁻¹ of IBA, with four replicates. The experimental plots were constituted of three black-colored pots with a capacity of 1.2 liters of substrate, four cuttings being utilized in each pot, which were prepared about 12 cm long, five nodes, maintaining on each cutting four leaves. The treatment with the growth regulator was accomplished before the installation of the experiments, by immersion of 2.5 cm of the base of each cutting for five seconds. At seventy-five days, the following evaluations were accomplished: percentage of rooted cutting, average number of roots per cutting and larger length of roots. The joint statistical analysis showed there to be effect for times, substrates and concentrations in all studied variables. The results indicate the rooting of this species to be possible in rustic facilities, obtaining 48.44% of rooting for the substrate sand/earth 1:1(v/v), and 44.28% when the treatment with IBA at the concentration of 3000mg.L⁻¹ was utilized, of cuttings collected on February 9th, 2000.

¹ Guidance committee: Moacir Pasqual – UFLA (Major Professor), Nilton Nagib Jorge Chalfun – UFLA, Murillo de Albuquerque Regina – EPAMIG, Carmen del Rio Rincón – CIFA.

3 INTRODUÇÃO

Para a propagação da oliveira, a estaquia é o método mais vantajoso. Entretanto, o sistema tradicional de propagação, utilizando-se estacas lenhosas de 60 cm de comprimento, enraizadas diretamente na área de plantio, apresenta, além de outros inconvenientes, a necessidade de grande quantidade de material vegetal e a impossibilidade de garantir a identidade varietal.

Buscando alternativas para melhorar este sistema, estudos realizados em câmara de nebulização intermitente e com uso de reguladores de crescimento permitiram a utilização de estacas semilenhosas, possibilitando, assim, com pequenas quantidades de ramos vegetativos, obter grande número de estacas para enraizamento.

Esta metodologia possibilitou notáveis avanços na propagação de muitas espécies vegetais e também para oliveira. Entretanto, um inconveniente é o alto custo financeiro para construção das instalações e também a necessidade de pessoal com algum treinamento, para manejo e condução da câmara de nebulização e manutenção inicial das plantas.

Com vistas a diminuir investimentos financeiros em casa de nebulização, alguns pesquisadores têm proposto alternativas. Fontanazza e Rugini (1981) sugerem a adoção de camas quentes, ou seja, o ambiente de enraizamento protegido, com alta umidade, obtendo-se assim percentuais de enraizamento muito próximos aos observados em câmara de nebulização intermitente. Porras et al. (1992) desenvolveram tecnologia para sistema de controle de propagação de plantas sob nebulização, por meio de túnel plástico, de custo bastante inferior, para permitir a propagação de plantas de forma fácil e econômica, possibilitando o enraizamento de estacas com percentuais de 50% a 100% de várias espécies, inclusive da oliveira.

É importante, pois, a realização de mais estudos, principalmente com vistas a diminuir custos deste sistema de propagação.

O presente trabalho foi conduzido com o objetivo de avaliar o enraizamento de estacas semilenhosas de 'Ascolano 315', em diferentes substratos e com uso de regulador de crescimento ácido indol-butírico (AIB), em duas épocas distintas, acondicionadas em casa de vegetação rústica, sem um sistema convencional de nebulização ou qualquer outro controle do ambiente interno.

4 MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi conduzido no sul do Estado de Minas Gerais, na Fazenda Experimental da EPAMIG, localizada no município de Maria da Fé, microrregião da serra da Mantiqueira.

Foram instalados dois ensaios. O primeiro, em 09/02/2000 e o segundo, em 27/04/2000, em casa de vegetação construída de maneira rústica, nas dimensões de 4m x 4m x 2,5m de altura. Suas laterais foram protegidas com filme plástico transparente e internamente com irrigação por aspersores, durante um minuto, uma vez à noite e duas vezes ao dia.

Foram coletadas estacas semilenhosas medianas, de plantas da cultivar Ascolano 315, com aproximadamente dez anos de idade, da coleção de cultivares mantida na unidade da EPAMIG em Maria da Fé. Foram colhidas no terço médio da copa da árvore em torno de toda planta e preparadas no mesmo dia da instalação dos experimentos.

Em cada época, utilizou-se o delineamento experimental em blocos casualizados no esquema fatorial 4 x 4, compreendendo, respectivamente, quatro substratos: areia, vermiculita, areia/terra 1/1(v/v) e terra, e quatro concentrações de ácido indolbutírico (AIB): 0, 1.000, 3.000 e 5.000 mg.L⁻¹.

Utilizaram-se quatro repetições, sendo as parcelas experimentais constituídas de três vasos plásticos com capacidade de 1,2 litro de substrato cada um, acondicionados em bancadas de concreto, suspensas a 1,0 metro do piso. Em cada vaso, foram plantadas quatro estacas preparadas com 12 cm de comprimento, mantendo, na região apical de cada estaca, quatro folhas.

O tratamento com o AIB foi realizado antes da instalação dos experimentos, submergindo durante cinco segundos a base das respectivas estacas, aproximadamente 2,5cm, em solução hidro-alcoólica contendo o produto.

As avaliações do primeiro e do segundo experimento foram realizadas 75 dias após instalação, sendo anotadas as seguintes características: porcentagem de estacas enraizadas, número médio de raízes por estaca e maior comprimento de raízes.

Para avaliação do enraizamento, retirou-se cuidadosamente o substrato contido nos vasos plástico e procedeu-se à lavagem do torrão, obtendo o sistema radicular perfeito e intacto. A porcentagem de estacas enraizadas foi obtida contando-se as que apresentavam raízes e estabelecendo o percentual. O número médio de raízes por estaca foi obtido pela contagem de todas raízes observadas dividindo o resultado pelo número de estacas enraizadas. Maior comprimento de raízes foi medido com régua graduada da inserção da raiz mais longa até o seu ápice.

Os dados coletados, após tabulados, foram transformados para raiz quadrada de $X+0,5$, a exceção de porcentagem de estacas enraizadas, que foi transformada para arco seno raiz de $X/100$ (Banzatto e Kronka, 1989). Analisou-se estatisticamente cada experimento, individualmente e em conjunto, utilizando-se o Sistema de Análise de Variância para Dados Balanceados (Ferreira, 2000), sendo a comparação das médias pelo teste Scott e Knott (1974) a 5% de probabilidade.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resumos das análises de variância (quadrado médio) dos experimentos instalados em 09/02/2000 e 27/04/2000 estão apresentados em anexo, com a identificação 1 A, 1 B e 1 C. A discussão dos resultados foi realizada pela análise estatística conjunta, (Anexo 1 A).

De acordo com os dados obtidos (Anexo 1 A), foi observada diferença significativa, nas três variáveis, para a interação época x substratos e época x concentrações; para interação substratos x concentrações somente na variável número de raízes por estacas e para épocas de instalação dos experimentos, para as três variáveis estudadas.

5.1 Porcentagem de estacas enraizadas, número de raízes por estaca e maior comprimento de raízes.

Nas Figuras 1 e 2 estão apresentados os resultados para porcentagem de estacas enraizadas, número de raízes por estacas e maior comprimento de raízes, para o efeito da interação época x substratos e época x concentrações de AIB.

Observou-se que, no experimento instalado em 09/02/2000, o substrato constituído de areia/terra 1:1 possibilitou melhores rendimentos, para todas variáveis consideradas, com 48,44% de estacas enraizadas, 8,83 unidades de raízes por estaca e comprimento médio de raízes de 9,69 cm. Quando utilizou-se somente terra como substrato, o rendimento foi estatisticamente semelhante à mistura de areia/terra. Já no experimento instalado em 27/04/2000, os substratos utilizados, à exceção da vermiculita, apresentaram rendimentos estatisticamente semelhantes para porcentagem de estacas enraizadas e maior comprimento de raízes. Para número de raízes por estaca, a areia possibilitou melhor rendimento, 6,24 ud (Figura 1).

1 - areia 2 - vermiculita 3 - areia/terra (1/1) 4 - terra

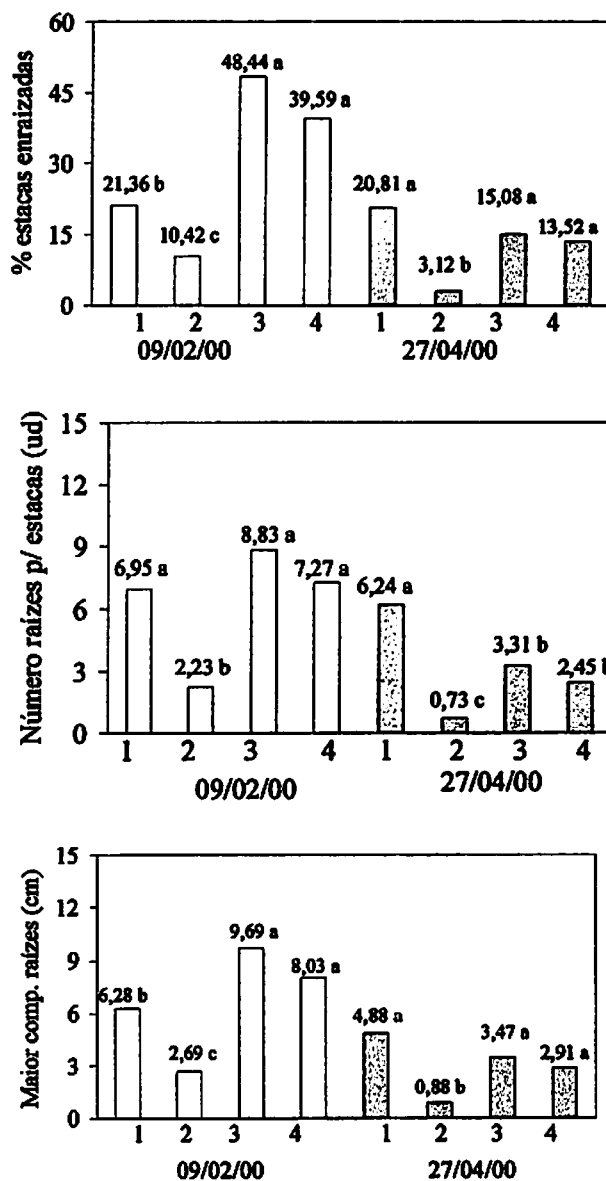


FIGURA 1. Efeito de substratos de enraizamento em porcentagem de estacas enraizadas, número de raízes por estaca e maior comprimento de raízes de oliveira cv. 'Ascolano 315', para duas épocas de instalação de ensaios. Maria da Fé, MG. UFLA, Lavras, MG, 2001.

Observa-se também, na Figura 1, que nas duas épocas de instalação dos ensaios, a vermiculita possibilitou os menores rendimentos, 10,42% e 3,12% para porcentagem de estacas enraizadas; 2,23 e 0,73 unidades de raízes por estaca e 2,69 e 0,88 cm para o comprimento de raízes.

Além da sustentação das estacas, o substrato influencia na disponibilidade de água e oxigênio no meio para enraizamento, exercendo efeito positivo no processo fisiológico do enraizamento. Esta condição ficou evidenciada, pois melhores resultados foram verificados quando utilizou-se o substrato com maior capacidade de retenção d'água, mas também com suficiente porosidade para ocorrência de uma boa drenagem.

Quanto ao efeito de concentrações de AIB observou-se, na Figura 2 que, no ensaio instalado em 09/02/2000, não foram detectadas diferenças estatísticas para as médias obtidas com 1.000, 3.000 e 5.000 mg.L⁻¹ do regulador de crescimento, com 34,39%, 44,28% e 38,03% de estacas enraizadas e 8,00 cm, 9,56 cm e 7,69 cm para maior comprimento de raízes, respectivamente. Neste ensaio, para número de raízes por estaca, observou-se que doses maiores de AIB proporcionaram maior número de raízes, 4,96 ud para 1.000 mg.L⁻¹, 8,12 ud para 3.000 mg.L⁻¹ e 11,68 ud para 5.000 mg.L⁻¹.

Já para o segundo ensaio instalado em 27/04/2000, melhor porcentagem de enraizamento foi obtido com as doses de 3.000 e 5.000 mg.L⁻¹ de AIB, 16,64% e 23,93%, respectivamente, sendo estas médias estatisticamente semelhantes. Resultados semelhantes foram observados para maior comprimento de raízes, com 2,94 cm, 3,75 cm e 4,88 cm para 1.000, 3.000 e 5.000 mg.L⁻¹ de AIB, respectivamente. Para número de raízes por estacas, doses de 0 e 1.000 mg.L⁻¹ apresentaram resultados semelhantes, com 0,63 e 2,41 unidades (Figura 2).

Nos dois ensaios, a testemunha (ausência de tratamento com AIB) foi a que menor rendimento proporcionou para as três variáveis estudadas (Figura 2).

1 – 0 mg.L⁻¹ AIB 2 – 1000 mg.L⁻¹ AIB 3 – 3000 mg.L⁻¹ AIB 4 – 5000 mg.L⁻¹

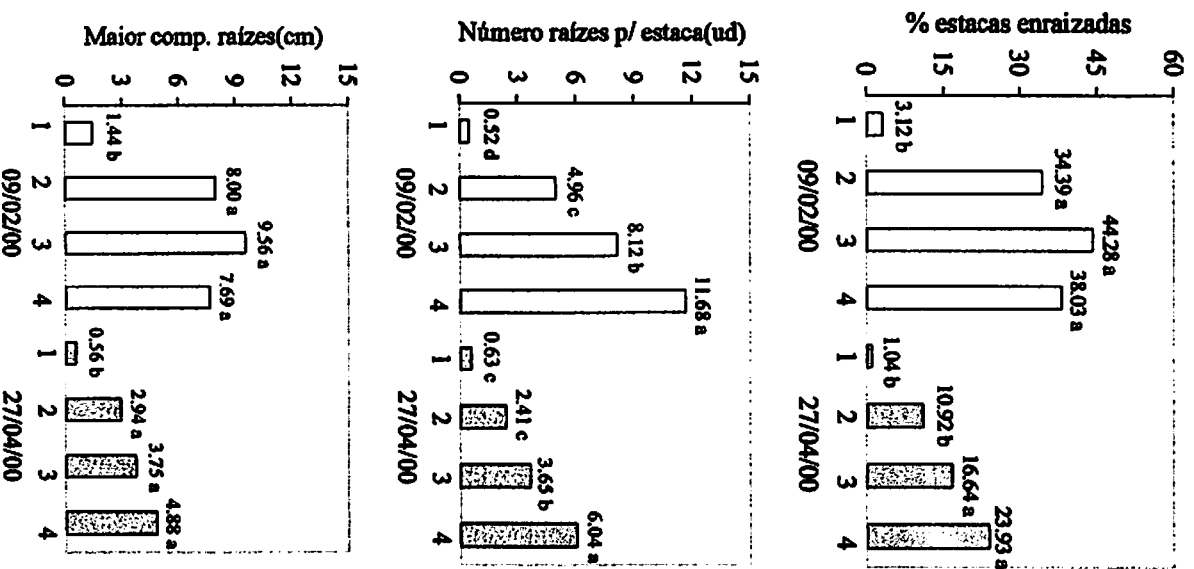


FIGURA 2. Concentrações de AIB em porcentagem de estacas enraizadas, número de raízes por estaca e maior comprimento de raízes de oliveira cv. 'Ascolano 315', para duas épocas de instalação de ensaios. Maria da Fé, MG. UFPA, Lavras, MG, 2001.

5.2 Número de raízes por estaca (interação substratos x concentrações)

Na Figura 3, estão apresentados os resultados para número de raízes por estaca, efeito da interação substratos x concentrações de AIB. Observou-se que a concentração de 5.000 mg.L⁻¹ proporcionou maiores médias: 11,11 ud para areia, 11,84 ud para areia/terra 1:1 (v/v) e 8,76 ud para terra e, quando não realizou-se tratamento com AIB, as médias mais baixas: 1,13 ud para areia, 1,04 ud para areia/terra 1:1 (v/v) e 0,13 ud para terra (Figura3).

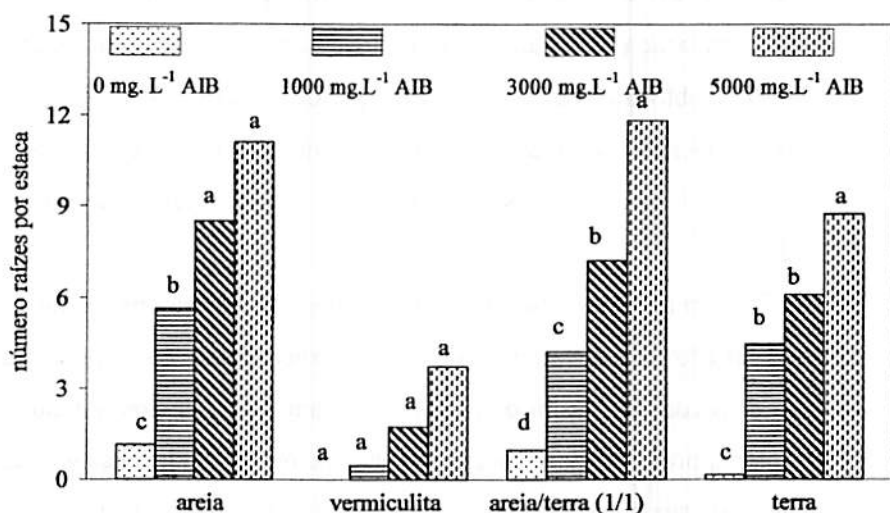


FIGURA 3. Efeito da interação substratos x concentrações no número de raízes por estaca. Maria da Fé, MG. UFLA, Lavras, MG, 2001.

É importante ressaltar que, no substrato areia/terra 1:1 (v/v), observou-se que o número de raízes por estaca aumentou, à medida que foram utilizadas concentrações maiores de AIB: 1,04 ud para 0 ppm, 4,18 ud para 1.000 mg.L⁻¹, 7,21 ud para 3.000 mg.L⁻¹ e 11,84 ud para 5.000 mg.L⁻¹ (Figura 3).

Quando utilizou-se a vermiculita, não foi observado efeito de doses de AIB no número de raízes por estaca, pois as médias foram estatisticamente iguais: 0,0 ud para 0 mg.L⁻¹, 0,46 ud para 1.000 mg.L⁻¹, 1,73 ud para 3.000 mg.L⁻¹ e 3,73 ud para 5.000 mg.L⁻¹, respectivamente (Figura 3).

5.3 Época de instalação dos experimentos

Na Tabela 1 estão apresentados os resultados médios para as variáveis estudadas, obtidos para cada experimento, correspondendo ao fator de variação época de instalação dos ensaios. Observou-se que, no experimento instalado em 09/02/2000, obtiveram-se resultados superiores para todas características estudadas, indicando que esta época foi mais favorável para o enraizamento de estacas semilenhosas desta espécie, comparada com o experimento instalado em 27/04/2000.

Embora não haja estudos sobre a fenologia da oliveira na região de Maria da Fé, o período em que foram instalados os experimentos correspondia ao final do ciclo de produção. Assim os frutos já haviam sido colhidos, estando pois, a planta matriz, provavelmente com baixo nível de reservas nutricionais, que foram utilizadas para sua produção, contribuindo para a obtenção de baixos percentuais de enraizamento.

Este estado fenológico, de acordo com estudos de diversos pesquisadores (Fontanazza e Rugini, 1981; Pannelli, Filipucci e Casano, 1983; del Rio, Caballero e Rallo, 1988; del Rio, 1988), não corresponde à época mais favorável para a coleta e preparo de estacas para o enraizamento. Provavelmente, este fato explica o baixo rendimento observado nos dois ensaios.

Mesmo assim, é provável que o primeiro experimento apresentou melhores resultados devido ao fato de que as estacas utilizadas para sua

instalação foram coletadas de plantas que apresentavam algum fluxo de brotação. Segundo Caballero (1981), as melhores épocas para o enraizamento de estacas de oliveira são aquelas que coincidem com o final do fluxo de crescimento anual. Isto porque as folhas estão com o máximo de sua expansão, são mais eficientes na utilização da luz e também no aporte de compostos necessários para o início da emissão de raízes.

TABELA 1. Média de porcentagens de estacas enraizadas, número de raízes por estacas e maior comprimento de raízes estudadas em dois experimentos de avaliação de substratos e concentrações de AIB, no enraizamento de estacas semilenhosas de oliveira (*Olea europaea* L.), Maria da Fé, MG. UFLA, Lavras, MG, 2001.

Variáveis	Experimento 1 09/02/2000	Experimento 2 27/04/2000
Porcentagem estacas enraizadas	29,85 A	13,13 B
Número raízes por estacas (ud)	6,32 A	3,18 B
Maior comprimento de raízes (cm)	6,67 A	3,03 B

Médias seguidas pela mesma letra na horizontal não diferem entre si, pelo teste Scott e Knott (1974), a 5% de probabilidade.

O segundo experimento foi instalado em finais do mês de abril, período em que observa ocorrência de baixas temperaturas e também de escassez de chuvas na região. Portanto seu baixo rendimento pode ser devido ao estado de repouso vegetativo em que já se encontravam as plantas, de onde foram coletadas as estacas. Dessa forma seu conteúdo interno, relacionado com promotores e inibidores da iniciação de raízes, era desfavorável para o enraizamento de estacas.

De acordo com os resultados obtidos no presente trabalho, observou-se que o substrato constituído de areia/terra 1:1(v/v) foi o que melhores condições ofereceu para o enraizamento desta espécie. A vermiculita, no entanto, não

permitiu resultados satisfatórios, o que difere de informações obtidas de outras pesquisas.

Outros autores, trabalhando com enraizamento de estacas de oliveira sob condições de câmara de nebulização intermitente e com manutenção de temperatura ambiente e de substrato controladas, verificaram melhores resultados quando utilizou-se perlita ou mistura de perlita com vermiculita como meios de enraizamento (Nahlawi, Humanes e Philippe, 1975; Caballero, 1981).

Também de acordo com os resultados do presente trabalho e, conforme já comprovado por alguns autores (del Rio, Caballero e Rallo, 1986; Caballero e del Rio, 1994), observou-se que o efeito do tratamento basal das estacas com AIB foi um fator determinante no processo de enraizamento, uma vez que a testemunha, estacas que não receberam tratamento, praticamente não enraizaram. Para concentração de AIB, os resultados observados são concordantes com os apresentados por alguns autores (Nahlawi et al., 1975 ; Bartolini, Fiorino e Bouzar, 1977; Panelli, Filipucci e Daddi, 1980; Daoud et al., 1989; Canozer e Ozahçi 1994), que indicam ser 3.000-4.000 mg.L⁻¹ a concentração em que se obtém melhores resultados.

Ressalta-se que a média geral para porcentagem de estacas enraizadas, 29,85% no primeiro ensaio e 13,13% no segundo, são valores relativamente baixos comparados com 80% a 90% que obtêm-se quando utiliza-se câmara de nebulização com controles internos de ambiente (Caballero, 1981; Caballero e del Rio, 1998). Por outro lado, é importante considerar que as instalações rústicas onde foram conduzidos os experimentos podem não ter permitido a maximização dos efeitos do tratamento com o regulador de crescimento e do melhor substrato, para o momento fenológico em que se encontrava a planta matriz, embora ainda assim seja vantajoso, considerando seu baixo custo

6 CONCLUSÕES

Para as condições em que foi realizado o presente trabalho, conclui-se que:

- é possível o enraizamento de estacas semilenhosas da cv. Ascolano 315 utilizando instalações sem qualquer controle ambiental, podendo obter-se 29,85% de estacas enraizadas;

- a primeira época de coleta de estacas para enraizamento (09/02/2000), possibilitou melhores rendimentos em todas as variáveis, comparada com a segunda época (27/04/2000);

- o substrato areia/terra 1:1 (v/v) permitiu maior porcentagem de estacas enraizadas, 48,44%;

- concentrações de 3.000 e 5.000 mg.L⁻¹ de AIB permitiram o incremento na porcentagem de estacas enraizadas, no número de raízes por estaca e no maior comprimento de raízes, podendo ser recomendada a concentração de 3.000 mg.L⁻¹ de AIB, por ser mais econômico.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BANZATTO, D. A.; KRONKA, S. N. Experimentação agrícola. Jaboticabal: FUNEP, 1989, 247p.
- BARTOLINI, G.; FIORINO, P.; BOUZAR, M. Research on the influence of steeping in water of cuttings. 3. effect of steeping in water with different pH [hydrogen-ion concentration] on the rooting of olive cuttings cv. "Frantoio". *Rivista Ortoflorofruttcultura Italiana*, Firenze, v.61, n.6, p. 409-417. nov/dic. 1977.
- CABALLERO, J. M. Multiplicación del olivo por estaquillado semileñoso bajo nebulización. Madrid, Instituto Nacional de Investigaciones Agrarias, 1981. 39p. (Comunicaciones INIA, Serie Producción Vegetal, 31).
- CABALLERO, J. M.; del RIO, C. Propagación del olivo por enraizamiento de estaquillas semileñosas bajo nebulización. Sevilla: Consejería de Agricultura, Junta de Andalucía, 1994. 23p. (Comunicación I+D Agroalimentaria, 7/1994).
- CANÖZER, Ö.; ÖZAHÇI, E. Capacidad rizógena de cultivares de olivo de Turquía por estaquillado herbáceo bajo nebulización. *Olivae*, Madrid, v. 51, p. 29-33, abr. 1994.
- DAOUD, D.A., AGHA, J.T., ABU-LEBDA, K.H. & AL-KAIAT, M.S. Efecto del AIB sobre el enraizamiento de estacas herbáceas de olivo. *Olivae*, Madrid, p. 27, n.6, p. 28-30, jun. 1989.
- del RIO, C. Influencia de los hidratos de carbono y de la presencia del fruto en el enraizamiento de olivo por estaquillado semileñoso. Córdoba: Universidad de Córdoba, 1988. 148 p.(Tesis doctoral)
- del RIO, C., CABALLERO, J. M.; RALLO, L. Influencia de la sacarosa sobre el enraizamiento de estaquillas vegetativas y fructíferas de variedad "Picual". *Olea*, Córdoba, v.19, p. 103, dic. 1988.

- FERREIRA, D. F.** Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4.0. In. REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA. UFSCar, 45, 2000, São Carlos. Anais... São Carlos, SP: SIB, 2000. p. 255-258.
- FONTANAZZA, G.; RUGINI, E.** The rooting of olive cultivar in heated boxes. *Frutticoltura*, Bologna, v.43, p.39-44, 1981.
- NAHLAWI, N.; HUMANES, J.; PHILIPPE, J.M.** Factors affecting the rooting of olive tree cuttings [Beta indolebutyric acid, growth substances]. *Anais del Instituto Nacional de Investigación Agraria, Serie Producción Vegetal*, 5, p:147-166. 1975.
- NAHLAWI, N.; RALLO, L. CABALLERO, J.M.; EGUREN, J.** The capacity of olive cultivars to root by cuttings under mist [Beta indolebutyric acid, growth substances]. *Anais del Instituto Nacional de Investigación Agraria, Serie Producción Vegetal*, 5, p:167-182. 1975.
- PANELLI, G.; FILIPUCCI, B.; DADDI, P.** Rizogenesi e ciclo vegetativo in *Olea europaea* L cv. 'Frantoio', 'Leccino' e 'Morailo'. Influenza di trattamenti con fitoregulatori basali e fogliari a diverse concentrazioni. *Annali dell'Istituto Sperimentale per l'Olivicoltura*. Consenza, v.6, p.135-150, 1980.
- PANNELLI, G.; FILIPPUCI, B.; CASANO, F.** Plant regulators and rooting environments for olive cuttings [Cultivars, Italy]. *Fitoregulatori ed ambienti per la radicazione di talee semilegnose di olivo*. *Frutticoltura*. Bologna: Edagricole. v. 45, n.6/7 p.51-56, june/july 1983.
- PORRAS, A.; SORIANO, M. C.; PEREZ, F.; FERNANDEZ, E.** Nueva tecnología para sistemas de control de propagación de plantas bajo nebulización. *Olivae*, Madrid, v.41, p.16-23, 1992.
- SCOTT, A. J.; KNOTT, M.** A cluster analysis method for grouping means in the analysis of variance. *Biometrics*, Washington, v. 30, p. 507-512, Sept. 1974.

**CAPÍTULO III INFLUÊNCIA DO NÚMERO DE NÓS EM ESTACAS
SEMILENHOSAS DE OLIVEIRA (*Olea europaea* L.),
DAS VARIEDADES PICUAL E ARBEQUINA, NO
ENRAIZAMENTO SOB CÂMARA DE
NEBULIZAÇÃO.**

1 RESUMO

OLIVEIRA, A. F. de. Influência do número de nós em estacas semilenhosas de oliveira (*Olea europaea* L), das variedades Picual e Arbequina, no enraizamento sob câmara de nebulização. Lavras: UFLA, 2001. 122 p. (Tese - Doutorado em Agronomia/Fitotecnia).¹

Com o objetivo de avaliar o enraizamento de estacas semilenhosas de oliveira (*Olea europaea* L.), com diferentes tamanhos, foi conduzido, no Centro de Investigación y Formación Agraria – CIFA “Alameda del Obispo” de Córdoba - Espanha, um experimento sob condições de câmara de nebulização intermitente e com uso de AIB na concentração de 3.000 mg.L⁻¹. As estacas foram tratadas antes da instalação do ensaio, submergindo durante cinco segundos as suas bases, aproximadamente 2,5 centímetros, em solução contendo o produto. Utilizaram-se estacas medianas, que foram coletadas de plantas em desenvolvimento vegetativo contínuo. O delineamento experimental utilizado foi o de blocos casualizados em fatorial 2 x 5, sendo respectivamente duas variedades, Picual e Arbequina, e tamanhos de estacas: dois nós com duas folhas, três nós com duas folhas, três nós com quatro folhas, quatro nós com quatro folhas e cinco nós com quatro folhas. Utilizaram-se quatro repetições, com parcelas experimentais constituídas por trinta estacas, plantadas em substrato de perlita, em mesas suspensas, com aquecimento controlado. Avaliou-se aos 75 dias, porcentagem de estacas enraizadas, mortas e número e comprimento médio de raízes. Observou-se que, entre estacas de quatro nós e cinco nós, com quatro folhas, não houve diferença nos parâmetros considerados; estacas com três nós, com duas e quatro folhas também não diferenciaram. Estacas com dois nós e duas folhas, de ambas as variedades, apresentaram maior mortalidade.

¹ Comitê orientador: Moacir Pasqual – UFLA (Orientador), Nilton Nagib Jorge Chalfun – UFLA, Murillo de Albuquerque Regina – EPAMIG, Carmen del Río Rincón – CIFA.

2 ABSTRACT

OLIVEIRA, A. F. de. Influence of the number of nodes on semi-woody cuttings of olive tree (*Olea europaea* L.) cvs. 'Picual' and 'Arbequina' on the rooting under misty room. Lavras: UFLA, 2001. 122 p. (Thesis - Doctorate in Agronomy/Crop Science).¹

With the objective of assessing the rooting of semi-woody cuttings of olive tree (*Olea europaea* L.), with different sizes, an experiment under intermittent misty room conditions and with the use of IBA at the concentration of 3000mg.L⁻¹ was conducted in the Centro de Investigación y Formación Agraria – CIFA 'Alameda del Obispo' of Cordoba - Spain the cuttings being treated before the establishment of the trial, by soaking for five minutes their bases, about 2,5 cm, in a solution containing the product. Median cuttings, which were collected from plants in continuous vegetative development, were utilized. The experimental design utilized was that of randomized blocks in 2 x 5 factorial, its being respectively two cultivars 'Picual' and 'Arbequina', and five sizes of cuttings: two nodes with two leaves, three nodes with two leaves, three nodes with four leaves, four nodes with four leaves and five nodes with four leaves. Four replicates were utilized, with experimental plots made up of thirty cuttings, planted in perlite substrate, on raised tables, with controlled heating. At seventy five days, percentage of rooted, dead cuttings and number and average length of roots were evaluated. It was found that between cuttings of four and five nodes, with four leaves, there were no differences in the considered parameters; cuttings with three nodes, with two and four leaves also did not distinguish. Cuttings with two nodes and two leaves from both varieties presented greater mortality.

¹ Guidance committee: Moacir Pasqual – UFLA (Major Professor), Nilton Nagib Jorge Chalfun – UFLA, Murillo de Albuquerque Regina – EPAMIG, Carmen del Rio Rincón – CIFA

3 INTRODUÇÃO

Aproveitar ao máximo a planta-matriz fornecedora de material vegetal para a multiplicação de oliveira é fundamental para qualquer viveiro. Sobretudo em coleções onde existem poucas árvores de uma mesma variedade ou somente uma, quando esta foi obtida de programas de melhoramento genético, por cruzamentos interespecíficos.

Para o enraizamento de estacas semilenhosas de oliveira, normalmente estas são utilizadas no tamanho de 14 a 16 cm de comprimento, com 4 ou 6 folhas. Entretanto, seria conveniente diminuir seu tamanho para maximizar o número de plantas possível de obter partindo de um determinado número de ramos. Dessa forma, menos danos seriam causados às plantas-matrizes, sobretudo quando se necessita obter um elevado número de plantas.

Por outro lado, para a produção de assimilados e de outras substâncias necessárias ao enraizamento, a presença de folhas e gemas nas estacas tem um papel chave para a formação do novo sistema radicular. Foi comprovado que a eliminação de folhas e gemas é prejudicial para a iniciação de raízes e para o crescimento daquelas já formadas (Fontanazza e Rugini, 1977; Avidan e Lavee, 1978; Caballero e Nahlawi, 1979). Neste sentido, ainda que a diminuição no tamanho da estaca proporcione uma diminuição do número de folhas e de gemas, deve existir um tamanho mínimo que permita seu enraizamento.

Dessa forma, o objetivo do presente trabalho foi avaliar a propagação de oliveira por enraizamento de estacas semilenhosas, com diferentes números de nós e folhas, sob condições de câmara de nebulização e com uso de AIB.

4 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em casa de nebulização intermitente, com condições de temperatura e umidade controladas (23°C e 80% a 90% de umidade), do Centro de Investigación y Formación Agraria “Alameda del Obispo” em Córdoba, Espanha, instalado em 05/12/2000.

As estacas foram coletadas de plantas em desenvolvimento vegetativo contínuo, das variedades Picual e Arbequina e preparadas com a região mediana do ramo, no mesmo dia da instalação do experimento.

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos casualizados em esquema fatorial 2 x 5, compreendendo duas variedades: Picual e Arbequina e cinco tamanhos de estacas semilenhosas: dois nós com duas folhas, três nós com duas folhas, três nós com quatro folhas, quatro nós com quatro folhas e cinco nós com quatro folhas, considerado tratamento testemunha.

As parcelas experimentais, com quatro repetições, foram constituídas por trinta estacas, tratadas com o AIB na concentração de 3.000 mg.L⁻¹, antes da instalação do ensaio submergindo durante cinco segundos a base das respectivas estacas, (aproximadamente 2,5cm), em solução contendo o produto. Foram plantadas em substrato de perlita, em mesas suspensas, com aquecimento controlado, com calor de fundo de 23 a 25°C.

As avaliações foram realizadas no dia 19/02/2001, sendo anotadas as seguintes características: porcentagem de estacas enraizadas, número e comprimento médio de raízes e porcentagem de estacas mortas.

Os dados coletados, após tabulados, foram analisados estatisticamente pelo Sistema de Análise de Variância para Dados Balanceados (Ferreira, 2000). A comparação das médias foi feita pelo teste Scott e Knott (1974), a 5% de probabilidade.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resumos das análises de variância encontram-se no Anexo 2A. Observou-se diferença significativa para o fator variedades em todas variáveis estudadas, exceto comprimento médio de raízes. Para tamanho de estacas, todas as variáveis apresentaram diferenças estatísticas. A interação variedade x tamanho de estaca foi significativa somente para comprimento médio de raízes.

Na Figura 4 estão os resultados para porcentagem de estacas enraizadas, número médio de raízes por estaca e porcentagem de estacas mortas, em função das variedades e tamanho de estacas.

De acordo com os dados, observou-se que a variedade Picual enraíza melhor (38%) que a Arbequina (27,50%) e também apresenta maior número de raízes por estaca (5,92 ud para Picual e 4,47 ud para Arbequina, respectivamente). Por outro lado observou-se um percentual maior de estacas mortas para a variedade Arbequina (38,33%), em comparação com a Picual (29,50%) (Figura 4).

Não houve diferença estatística entre as médias quando utilizaram-se estacas com quatro nós e quatro folhas (41,25% de enraizamento e 6,19 ud de raízes por estaca), comparadas com estacas com cinco nós e quatro folhas (43,75% de enraizamento e 7,38 ud de raízes por estaca). Também em estacas com três nós a presença de duas folhas a mais não possibilitou melhor enraizamento, pois não foi observada diferença entre médias obtidas para estacas com três nós e duas folhas (32,50% de enraizamento e 4,19 ud de raízes por estaca), comparada com estacas com três nós e quatro folhas (33,75% e 4,74 ud) (Figura 4).

Variedades: 1 - Picual

2 - Arbequina

Tamanho estacas: 1- (2 nós, 2 folhas); 2- (3 nós, 2 folhas); 3- (3 nós, 4 folhas);
4- (4 nós, 4 folhas); 5- (5 nós, 4 folhas).

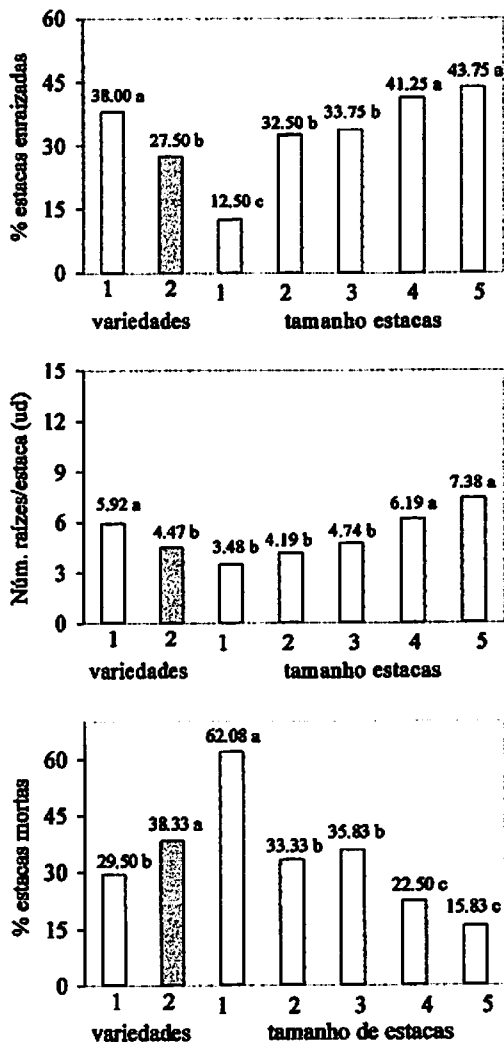


FIGURA 4. Resultados médios para porcentagem de estacas enraizadas, número de raízes por estaca e porcentagem de estacas mortas, para variedades e tamanho de estacas. Córdoba, Espanha. UFLA, Lavras, MG, 2001.

Também na Figura 4 observa-se que estacas com dois nós e duas folhas apresentaram menor porcentagem de enraizamento (12,50%), e menor número de raízes por estaca (3,48 ud).

De acordo com os dados da Figura 4, observa-se uma maior porcentagem de mortalidade quando utilizaram-se estacas com dois nós e duas folhas (62,08%). À medida que aumentou seu tamanho diminuiu o percentual de morte.

Na Figura 5 estão os resultados para comprimento médio de raízes, efeito da interação variedades x tamanho de estacas.

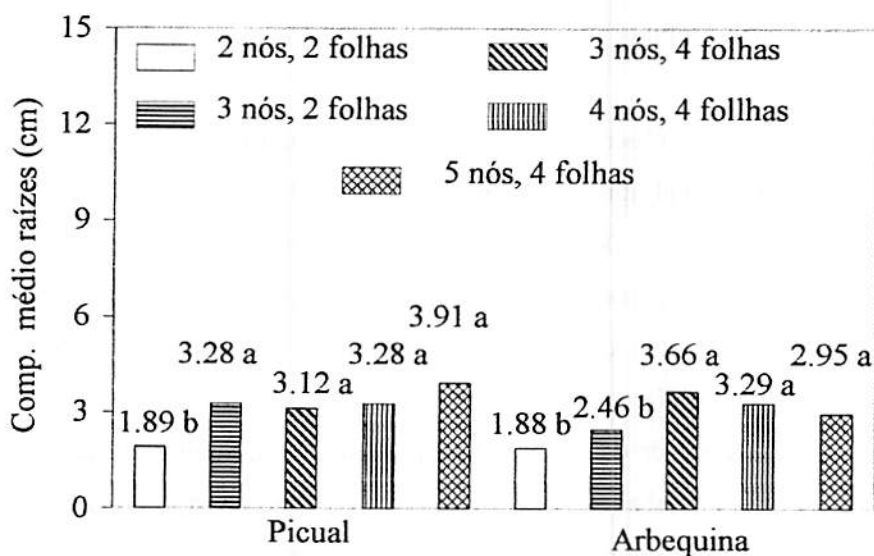


FIGURA 5. Efeito da interação variedades x tamanho de estacas no comprimento médio de raízes. Córdoba, Espanha. UFLA, Lavras, MG, 2001.

Para a variedade Picual, observou-se que o comprimento médio de raízes não variou quando utilizaram-se estacas com três nós e duas folhas (3,28 cm), três nós e quatro folhas (3,12 cm), quatro nós e quatro folhas (3,28 cm) e cinco

nós e quatro folhas (3,91 cm), pois estas médias foram estatisticamente iguais (Figura 5).

Já para variedade Arbequina, observou-se tendência de as estacas maiores apresentarem menor comprimento de raízes, com 2,95cm para estacas com cinco nós e quatro folhas, 3,29cm para quatro nós e quatro folhas e 3,66cm para três nós e quatro folhas, embora estas médias tenham sido consideradas estatisticamente iguais (Figura 5).

Por outro lado, tanto para a variedade Picual como para Arbequina, estacas menores apresentaram menores médias de comprimento de raízes: 1,89cm para Picual com dois nós e duas folhas, e 1,88 cm e 2,46 cm para Arbequina com dois nós e duas folhas e três nós e duas folhas, respectivamente (Figura 5).

Assim, observou-se que, indiferente do tamanho das estacas utilizadas, a variedade Picual apresentou maior facilidade de emissão de raízes, comparada com Arbequina. Tal resultado já foi comprovado por outros autores, trabalhando com estacas semilenhosas desta espécie com tamanho padrão, ou seja cinco nós e quatro folhas, aproximadamente 12 cm de comprimento (Nahlawi et al., 1975; Caballero, 1981).

De acordo com Davis (1983); Bhattacharya, Strain e Bhattacharya (1985) e del Rio e Caballero (1991), durante o enraizamento, a base das estacas apresenta um forte dreno de hidratos de carbono. Dessa forma, o tamanho de estacas reflete a quantidade de reservas a serem utilizadas durante o processo de enraizamento. Estacas pequenas, com dois nós, além de não apresentarem um sistema radicular satisfatório, morreram em maior número do que estacas maiores, com cinco nós.

Em câmara de nebulização, a presença de folhas pode favorecer a emissão de raízes em estacas semilenhosas de oliveira. Isto porque durante o

processo de enraizamento, é possível que apresente um saldo positivo de hidratos de carbono produzidos pela fotossíntese e utilizados para o enraizamento (Hartmann e Kester, 1980; Rallo e del Rio, 1990). Entretanto, no presente experimento, quando utilizaram-se estacas com três nós, não verificou-se efeito favorável do número de folhas, pois observou-se igual porcentagem de enraizamento entre estacas com duas e quatro folhas.

Pannelli, Fippucci e Daddi (1980), trabalhando com estacas de diferentes tamanhos das cvs. 'Frantoio' e 'Leccino', observaram que, durante o ano, o enraizamento destas cultivares apresentam melhores resultados nos meses de fevereiro-março e agosto-setembro. Observaram também que, entre estacas com um e dois nós, houve diferença de enraizamento durante todo o período de avaliação. Não dispondo de material vegetativo em quantidade suficiente, é possível a propagação da oliveira partindo de estacas com estas características.

Resultados semelhantes foram obtidos com o presente trabalho, sendo que estacas com dois e três nós diferiram em todas as características consideradas. Entre estacas com quatro nós e cinco nós e quatro folhas não foram observadas diferenças estatísticas para os parâmetros considerados.

6 CONCLUSÕES

Para as condições em que foi realizado o presente trabalho, conclui-se que:

- **o enraizamento de estacas semilenhosas de oliveira é afetado pelo tamanho das estacas:**

- **estacas com tamanhos de quatro nós e quatro folhas e cinco nós e quatro folhas possibilitaram maior porcentagem de enraizamento: 41,25% e 43,75 %;**

- **estacas com três nós e duas folhas e três nós e quatro folhas apresentaram porcentagem de enraizamento estatisticamente iguais: 32,50% e 33,75 %;**

- **estacas com dois nós e duas folhas apresentaram menor porcentagem enraizamento (12,50%) e maior porcentagem de mortalidade (62,08 %);**

- **para o mesmo tamanho de estacas, a variedade Picual apresentou melhor enraizamento que a variedade Arbequina.**

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AVIDAN, B.; LAVEE, S. Physiological aspects of the rooting ability of olive cultivars. *Acta horticulturae*, Wageningen, v.79 p.93-101, 1978.
- BHATACHARYA, S; STRAIN, B. R.; BHATACHARYA, N. C. Rooting of sweet potato stem cuttings under CO₂ enriched environment and with IAA treatment. *HortScience*, Alexandria, v.20, n.6, p.1109-1110, 1985.
- CABALLERO, J. M. **Multiplicación del olivo por etaquillado semileñoso bajo nebulización.** Madrid, Instituto Nacional de Investigaciones Agrarias, 1981. 39p. (Comunicaciones INIA, Serie Producción Vegetal, 31).
- CABALLERO, J.M.; NAHLAWI, N. Influence of carbohydrates and washing with water on the rooting of the Gordal cultivar of the olive (*Olea europaea* L.). *Anais del Instituto Nacional de Investigación Agrarias, Serie Producción Vegetal*. Madrid, (11) p. 219-230. 1979.
- DAVIS, T. D. Influence of photosyntheseis and carbohydrates on adventitious root formation by leafy cuttings. *Dissertation Abstracts Internacional, Ann Arbor*, v.43, n.10, p.3090-3091, 1983.
- del RIO, C., CABALLERO, J. M. Effects of carbohydrate content on the seasonal rooting of vegetive and reproductive cuttings of olive. *Journal of Horticultural Science*, Ashford, v. 66, n.3, p.301-309, 1991.
- FONTANAZZA, G.; RUGINI, E. Effect of laeves and buds removal on rooting ability of olive tree cuttings. *Olea*, Cordoba, v.2, p.9-28, 1977.
- FERREIRA, D. F. Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4.0. In. REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA. UFSCar, 45, 2000, São Carlos. *Anais...* São Carlos, SP: SIB, 2000. p. 255-258.
- HARTMANN, H. T.; KESTER, D. E. **Propagacion de plantas, principios y practicas.** México: CECSA, 1980. 814 p.

- NAHLAWI, N.; RALLO, L. CABALLERO, J.M.; EGUREN, J. The capacity of olive cultivars to root by cuttings under mist [Beta indolebutyric acid, growth substances]. *Anais Instituto Nacional de Investigación Agraria, Serie Producción Vegetal*, 5, P:167-182. 1975.
- PANELLI, G., FILIPUCCI, B.; DADDI, P. Rizogenesi e ciclo vegetativo in *Olea europaea* L cv. 'Frantoio', 'Leccino' e 'Morailo'. Influenza di trattamenti con fitoregoladori basali e fogliari a diverse concentrazioni. *Annali dell'Istituto Sperimentale per l'Olivicoltura*. Consenza, v.6, p.135-150, 1980.
- RALLO, L.; del RIO, C. Effect of a CO2 enriched enviroment on the rooting ability and carbohydrate level of olive cuttings. *Advances in Horticultural Science*, New York, v.4, n.2, p.129-130, 1990.
- SCOTT, A. J.; KNOTT, M. A cluster analysis method for grouping means in the analysis of variance. *Biometrics*, Washington, v. 30, p. 507-512, Sept. 1974.

CAPÍTULO IV INFLUÊNCIA DE ADUBAÇÃO FOLIAR DURANTE O ENRAIZAMENTO DE ESTACAS SEMILENOSAS, VEGETATIVAS E FRUTÍFERAS, DE OLIVEIRA (*Olea europaea* L), SOB NEBULIZAÇÃO.

1 RESUMO

OLIVEIRA, A. F. de. Influência de adubação foliar durante o enraizamento de estacas semilenhosas, vegetativas e frutíferas, de oliveira (*Olea europaea* L.), sob nebulização. Lavras: UFLA, 2001. 122 p. (Tese - Doutorado em Agronomia/Fitotecnia).¹

Com o objetivo de avaliar a influência da adubação foliar durante o enraizamento de estacas semilenhosas de oliveira (*Olea europaea* L.), variedade Picual, preparadas de plantas em crescimento vegetativo contínuo (estacas vegetativas) e de plantas com frutos (estacas frutíferas), foi conduzido no Centro de Investigación y Formación Agraria – CIFA “Alameda del Obispo” de Córdoba, Espanha, um experimento, sob condições de câmara de nebulização intermitente e com uso de AIB na concentração de 3000 mg.L⁻¹, sendo as estacas tratadas antes da instalação do ensaio, submergindo durante cinco segundos as suas bases, aproximadamente 2,5 centímetros, em solução contendo o produto. O delineamento experimental utilizado foi o de blocos casualizados em fatorial 2 x 2, compreendendo, respectivamente, com e sem a aplicação semanal de hakafos (formulado comercial com 14% de N, 4% de P, 28% de K, 2% de Mg, 2% de B e 0,05% de Mn) 2,5 g.L⁻¹ e estacas vegetativas e frutíferas. Utilizaram-se quatro repetições, com parcelas experimentais constituídas por trinta estacas, plantadas em substrato de perlita, em mesas suspensas, com aquecimento controlado. Avaliou-se aos 75 dias, porcentagem de estacas enraizadas, número e comprimento médio de raízes por estacas e porcentagem de estacas com calo e mortas. Observou-se que a aplicação de hakafos em estacas de ramos vegetativos não afetou a porcentagem de estacas enraizadas, diminuiu a porcentagem de formação de calos e exerceu efeito fitotóxico, pois aumentou seu índice de mortalidade. Em estacas de ramos frutíferos, aumentou a porcentagem de enraizamento e não afetou outros parâmetros.

Comitê orientador: Moacir Pasqual – UFLA (Orientador), Nilton Nagib Jorge Chalfun – UFLA, Murillo de Albuquerque Regina – EPAMIG, Carmen del Rio Rincón – CIFA.

2 ABSTRACT

OLIVEIRA, A. F. de. Influence of the foliar fertilization during the rooting of semi-woody, vegetative and fruit-bearing cuttings of olive tree under misty (*Olea europaea* L.). Lavras: UFLA, 2001. 122 p. (Thesis – doctorate in Agronomy/Crop Science)¹

With the view to evaluating the influence of foliar fertilization during the rooting of semi-woody cuttings of olive trees (*Olea europaea* L.), variety 'Picual', prepared from plants in continuous vegetative growth (vegetative cuttings) and from plants with fruits (fruit-bearing cuttings), an experiment under intermittent misty chamber conditions and with the use of AIB at the concentration of 3.000 mg.L⁻¹ was conducted in the Centro de Investigación y Formación Agraria - CIFA 'Alameda del Obispo' of Cordoba – Spain, the cuttings being treated before the establishment of the trial, by soaking for five seconds their bases, about 2,5 centimeters, in a solution containing the product. The experimental design utilized was that of randomized blocks in a 2 x 2 factorial scheme, comprehending, respectively, with and without the weekly application (2.5g.L⁻¹ of water) of hakafos (commercial formulation with 14% of N, 4% of P, 28% of K, 25 of Mg, 2% of B and 0.05% of Mn) 2.5 g.L⁻¹ and vegetative and fruit-bearing cuttings. Four replicates were utilized with experimental plots made up of thirty cuttings planted in perlite substrate in suspended tables with controlled heating. At 75 days, percentages of rooted cuttings, number and average length of roots per cuttings and percentages of cuttings with callus and dead were evaluated. It was noticed that the application of hakafos on cuttings with vegetative branches did not affect the percentage of rooted cuttings, decreased the percentage of callus formation and exercised a phytotoxic effect, for it increased its mortality index. On cuttings with fruit-bearing branches, it increased the percentage of rooting and did not effect other parameters.

¹ Comité orientador: Moacir Pasqual – UFLA (Major Professor), Nilton Nagib Jorge Chalfum – UFLA, Murillo de Albuquerque Regina – EPAMIG, Carmen del Rio Rincón – CIFA.

3 INTRODUÇÃO

Foi demonstrado que o enraizamento de estacas semilenhosas de oliveira é muito baixo, quando preparadas de ramos de plantas com frutos (del Rio, Caballero e Rallo, 1988). Isto ocorre porque o fruto comporta-se como um forte dreno de assimilados disponíveis no ramo até o momento da preparação das estacas, causando um empobrecimento de seu estado nutritivo geral, que é negativo para a sua rizogênese.

Diversas tentativas foram realizadas para melhorar o estado nutritivo das estacas, favorecendo, assim, o enraizamento. De acordo com os estudos de Rallo e del Rio (1990), manter as estacas frutíferas de plantas de oliveira em uma atmosfera enriquecida em CO₂, durante o período de enraizamento, melhora sua capacidade de enraizar, assim como todo o sistema radicular formado. Entretanto, o procedimento é sofisticado e pode encarecer o processo de enraizamento de estacas.

Também foi comprovado que a aplicação de açúcares na base das estacas antes do tratamento com AIB melhora o enraizamento de algumas espécies, incluindo a oliveira em certas épocas.

Em viveiros comerciais de mudas de oliveira é prática habitual manter plantas em crescimento vegetativo contínuo, evitando, mediante podas severas, que entrem em produção. Não obstante, a sua manutenção em ativo crescimento vegetativo nem sempre é possível, sobretudo em bancos de germoplasma ou em programas de melhoramento genético quando a variedade que se deseja propagar apresenta frutos em seus ramos.

Assim, é importante a realização de mais estudos para melhorar os índices de enraizamento desta espécie a custos mais baixos, principalmente

quando se preparam estacas semilenhosas partindo de plantas-matrizes com a presença de frutos.

Dessa forma, o presente trabalho objetivou avaliar o efeito da aplicação de adubo foliar comercial hakafos, recomendado para a cultura da oliveira, durante o período de enraizamento de estacas semilenhosas em câmara de nebulização intermitente e com uso de AIB, obtidas de plantas em crescimento vegetativo contínuo e de plantas com presença de frutos.

4 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em casa de nebulização intermitente, do Centro de Investigación y Formación Agraria "Alameda del Obispo"- CIFA de Córdoba, Espanha, instalado em 18/12/2000. As estacas vegetativas foram coletadas de plantas em crescimento vegetativo contínuo e as frutíferas em plantas com frutos, da variedade Picual e preparadas a partir da região mediana do ramo, no mesmo dia da instalação do experimento.

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos casualizados em esquema fatorial 2 x 2, com quatro repetições, compreendendo, respectivamente, adubação foliar com e sem aplicação de fertilizante foliar hakafos (2,5 g.L⁻¹ de água) e dois tipos de ramos, vegetativos e frutíferos.

Foram realizadas nove pulverizações foliares, semanalmente, utilizando pulverizador manual, com o fertilizante hakafos, recomendado para aplicação via pulverização foliar para a cultura de oliveira e que apresenta as seguintes concentrações de macro e microelementos: 14% de N (amoniacoal 0,7%, nítrico 8% e uréico 5,3%), 4% de P (P₂O₅), 28% de K (K₂O), 2% de Mg, 2% de B e 0,05% de Mn.

As parcelas experimentais, com quatro repetições, foram constituídas por trinta estacas, tratadas com o AIB na concentração de 3.000 mg.L⁻¹, antes da instalação do ensaio, submergindo durante cinco segundos a base das respectivas estacas, aproximadamente 2,5 centímetros, em solução contendo o produto. Em seguida, foram plantadas em substrato de perlita com temperatura em torno de 23°C a 25°C, em mesas suspensas, com aquecimento controlado.

As avaliações foram realizadas no dia 03/03/2001, 75 dias após a instalação, sendo anotadas as seguintes características: porcentagem de estacas

enraizadas, número e comprimento médio de raízes e porcentagem de estacas com calos e mortas.

Os dados coletados foram analisados estatisticamente utilizando-se o Sistema de Análise de Variância para Dados Balanceados (Ferreira, 2000). A comparação das médias foi feita pelo teste Scottt e Knott (1974), a 5% de probabilidade.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resumos das análises de variância estão apresentados no Anexo 3A. Observou-se diferença significativa para a interação tipo de ramos x adubação foliar para porcentagem de estacas enraizadas, com calo e mortas. Para o fator de variação tipo de ramos, somente comprimento médio de raízes apresentou diferença estatística.

Na Figura 6 estão apresentados os resultados para porcentagem de estacas enraizadas, com calo e mortas, que foram preparadas a partir de ramos vegetativos e frutíferos, efeito da interação tipos de ramos x adubação foliar.

Em estacas obtidas de ramos vegetativos, a aplicação de adubação foliar durante o período de enraizamento não favoreceu a emissão de raízes, pois as médias observadas para porcentagem de estacas enraizadas foram estatisticamente iguais: 23,34% com aplicação de adubação foliar, contra 32,50% quando não realizou-se adubação, inclusive com uma tendência para este tratamento apresentar uma maior porcentagem (Figura 6).

Por outro lado, em estacas obtidas de ramos frutíferos, a aplicação de hakafo promoveu aumento de cerca de 11% no enraizamento, pois as médias observadas diferiram estatisticamente, sendo de 31,67% para estacas que receberam adubação e de 20,83% para as que não receberam o adubo via foliar (Figura 6).

Para a formação de calos, a adubação foliar teve um efeito negativo sobre estacas preparadas de ramos vegetativos, 8,34% com hakafo e 32,51% sem o adubo foliar. Para estacas de ramos frutíferos, não verificou-se diferença significativa entre as médias: 25,00% e 27,50%, com e sem o tratamento, respectivamente (Figura 6).

1 – Com adubação foliar (Hakafos)

2 – Sem adubação foliar

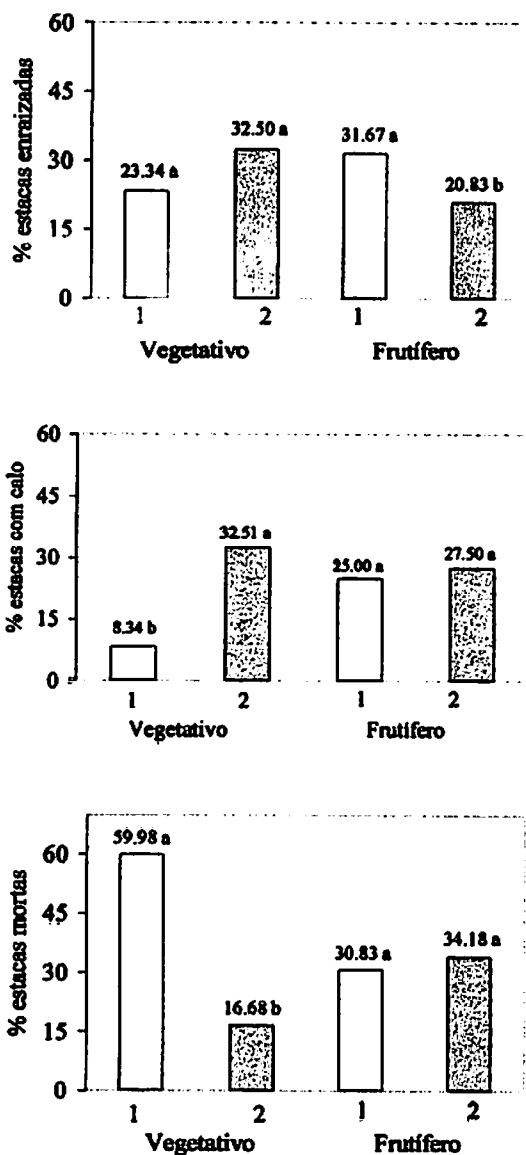


FIGURA 6. Médias para porcentagem de estacas enraizadas, com calo e mortas, efeito da interação tipos de ramos x adubação foliar. Córdoba, Espanha. UFLA, Lavras, MG, 2001.

Outro aspecto que merece consideração é a porcentagem de estacas que morreram durante o período de enraizamento. As estacas que foram preparadas de ramos vegetativos e que receberam adubação foliar tiveram porcentagem de mortalidade bem superior (59,98%), comparadas com as que não receberam o tratamento (16,68%). Para ramos frutíferos não houve diferença no percentual de estacas mortas que receberam ou não adubação foliar: 30,83 e 34,18%, respectivamente (Figura 6).

Na Figura 7 estão apresentados os resultados para comprimento médio de raízes para tipos de ramos, vegetativos e frutíferos.

Observou-se que o tipo de ramo utilizado para o preparo das estacas influenciou no comprimento médio de raízes. A partir de ramos vegetativos, as estacas apresentaram comprimento médio de raízes de 3,23 cm, estatisticamente superior ao de ramos frutíferos, 2,66 cm (Figura 7).

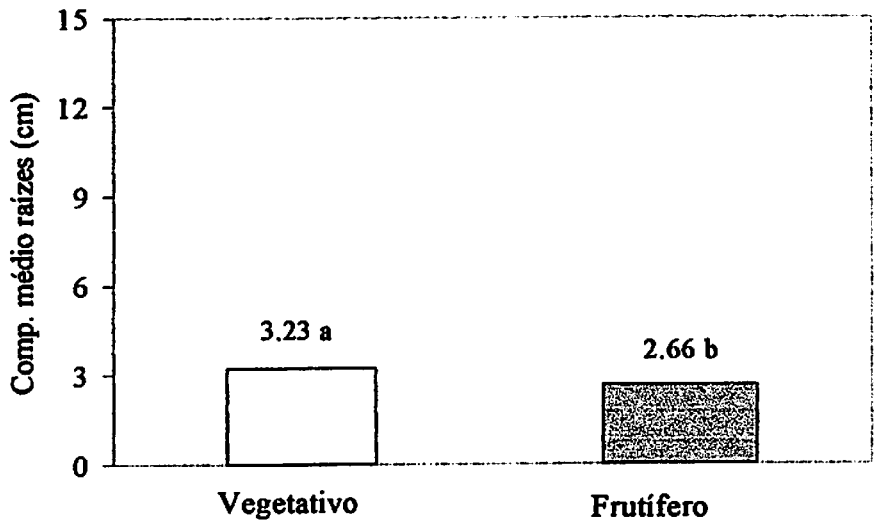


FIGURA 7. Resultados para comprimento médio de raízes em tipos de ramos, vegetativos e frutíferos. Córdoba, Espanha. UFLA, Lavras, MG, 2001.

Quando se prepara uma estaca para o enraizamento, esta leva consigo uma certa quantidade de reservas nutritivas, tanto em hidratos de carbono como em macro e microelementos. A quantidade será maior ou menor em função do tipo de ramo ecolhido para sua preparação, vegetativo ou frutífero, respectivamente (del Rio, Caballero e Rallo, 1988; del Rio e Caballero, 1991).

Assim, em estacas obtidas de plantas em crescimento vegetativo contínuo o hakafos, na concentração de 2,5 g do produto por litro de água, aplicado semanalmente, não resultou em melhoria do enraizamento. Como este tipo de ramo apresenta estado improdutivo, conseqüentemente, seu conteúdo em hidratos de carbono não possibilitou o efeito do fertilizante foliar. Ao contrário, é provável que o produto tenha causado um efeito fitotóxico sobre as estacas postas a enraizar, o que sugere a realização de novos ensaios, mas utilizando-se concentrações distintas.

Em estacas obtidas de ramos frutíferos, isto é, coletadas em plantas-matrizes que apresentavam frutos, observou-se efeito favorável da aplicação via foliar do fertilizante hakafos durante o período de enraizamento. Provavelmente nesta fase, as estacas apresentavam baixo conteúdo de hidratos de carbono que foram utilizados para a produção de frutos, e a adubação foliar possibilitou o incremento destas substâncias internamente às estacas, favorecendo assim o enraizamento.

Por outro lado, neste tipo de ramo não foi observada morte excessiva de estacas, supondo que não ocorreu fitotoxicidade decorrente da aplicação de hakafos, na concentração utilizada no presente trabalho. Como estas estacas foram preparadas a partir de ramos com idade superior a vinte meses coletados de plantas em produção, pode-se supor que esta condição possibilitou que resistissem mais aos tratamentos.

6 CONCLUSÕES

Para as condições em que foi realizado o presente trabalho, conclui-se que:

- em estacas preparadas de ramos frutíferos, a adubação foliar durante o período de enraizamento possibilitou aumento no percentual de enraizamento e não exerceu influência sobre a porcentagem de formação de calo e de mortalidade de estacas;**
- em estacas preparadas a partir de plantas em crescimento vegetativo contínuo, a adubação não influenciou na porcentagem de estacas enraizadas e diminuiu a porcentagem de formação de calos;**
- também em estacas preparadas de ramos vegetativos a adubação foliar aumentou a porcentagem de mortalidade das respectivas estacas durante o período de enraizamento.**

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- del RIO, C., CABALLERO, J. M. Effects of carbohydrate content on the seasonal rooting of vegetative and reproductive cuttings of olive. **Journal of Horticultural Science**, Ashford, v. 66, n.3, p.301-309, 1991.
- del RIO, C., CABALLERO, J. M.; RALLO, L. Influencia de la sacarosa sobre el enraizamiento de estaquillas vegetativas y fructíferas de variedad "Picual". **Olea**, Cordoba, v.19, p. 103, dic. 1988.
- FERREIRA, D. F. Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4.0. In. REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA. UFSCar, 45, 2000, São Carlos. **Anais...** São Carlos, SP: SIB, 2000. p. 255-258.
- RALLO, L.; del RIO, C. Effect of a CO₂ enriched environment on the rooting ability and carbohydrate level of olive cuttings. **Advances in Horticultural Science**, New York, v.4, n.2, p.129-130, 1990.
- SCOTT, A. J.; KNOTT, M. A cluster analysis method for grouping means in the analysis of variance. **Biometrics**, Washington, v. 30, p. 507-512, Sept. 1974.

**CAPÍTULO V EFEITO DE DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE MS
E SACAROSE NO DESENVOLVIMENTO DE
EMBRIÕES *IN VITRO* DE OLIVEIRA (*Olea europaea* L).**

1 RESUMO

OLIVEIRA, A. F. de. Efeito de diferentes concentrações de MS e sacarose no desenvolvimento de embriões *in vitro* de oliveira (*Olea europaea* L.). Lavras: UFLA, 2001. 122 p. (Tese - Doutorado em Agronomia/Fitotecnia) ¹

Com o objetivo de avaliar os efeitos de diferentes concentrações de MS e de sacarose no desenvolvimento de embriões *in vitro* de oliveira (*Olea europaea* L.), foi conduzido um experimento no laboratório de cultura de tecidos vegetais da Universidade Federal de Lavras-MG (UFLA). Os embriões foram obtidos de sementes da cultivar Ascolano 315, da coleção de germoplasmas da EPAMIG em Maria da Fé. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, em esquema fatorial 3 x 5, com três repetições, compreendendo três proporções dos sais componentes do meio de cultura MS (0, 0,5 e 1) e cinco concentrações de sacarose (0, 15, 30, 45 e 60 g.L⁻¹), utilizando para cada parcela experimental quatro tubos de ensaio, um embrião/tubo, que após inoculação, foram transferidos para sala de crescimento com temperatura de 26 +/-1C^o e fotoperíodo de 16 horas. Foram avaliadas, aos 60 dias, altura de plântulas, número médio de folhas/plântula, peso de matéria seca e porcentagem de germinação de embriões. Concluiu-se que a germinação de embriões não é afetada por níveis de sais componentes de MS, com maior germinação (78,33%) na concentração de 0,5 do conteúdo de seus sais. A concentração de sacarose no meio influencia na germinação, sendo que 30 a 35 g.L⁻¹ permite melhores resultados. Há maior acúmulo de matéria seca, tanto com o aumento dos níveis de sais componentes do meio MS, como também da concentração de sacarose no respectivo meio. O cultivo de embriões de oliveira *in vitro*, por 6 a 8 semanas, permite obter plântulas com 3 a 4 nós e em condições de serem aclimatizadas.

¹ Comitê orientador: Moacir Pasqual – UFLA (Orientador), Nilton Nagib Jorge Chalfun – UFLA, Murillo de Albuquerque Regina – EPAMIG, Carmen del Rio Rincón – CIFA.

2 ABSTRACT

OLIVEIRA, A. F. de. Effect of different concentrations of MS and sucrose on the development of *in vitro* olive tree (*Olea europaea* L.) embryos. Lavras: UFLA, 2001. 122 p. (Thesis-Doctorate in Agronomy/Crop Science).¹

With a view to evaluating the effects of different concentrations of MS and sucrose on the *in vitro* development of olive tree embryos (*Olea europaea* L.), an experiment was conducted in the plant tissue culture laboratory of the Universidade Federal de Lavras - MG (UFLA). The embryos were obtained from seeds of the cultivar 'Ascolano 315' of the EPAMIG germplasm collection at Maria da Fé. The experimental design utilized was the completely randomized in 3 x 5 factorial scheme, with three replicates, comprehending three ratios of the component salts of the MS culture medium (0, 0.5 and 1) and five concentrations of sucrose (0, 15, 30, 45 and 60 g.L⁻¹), by utilizing for each experimental plot, four test tubes, one embryo/tube, which after inoculation, were transferred to the growth room with temperature of 26±1°C and 16 hour photoperiod. At 60 days, seedling height, average number of leaves/seedling, dry matter weight and percentage of embryo germination were evaluated. It follows that germination of embryos is not affected by levels of component salts of MS, with increased germination (78.33%) at the concentration of 0.5 of the content of its salts. The concentration of sucrose in the medium influences germination, 30 to 35 g.L⁻¹ enabling the best results. There is a greater accumulation of dry matter both with increasing levels of component salts of the MS medium and also of the concentration of sucrose in the respective medium. The *in vitro* cultivation of olive tree embryos, for 6-8 weeks, allows to obtain seedlings with 3-4 nodes and in conditions to be acclimatized.

¹ Guidance Committee: Moacir Pasqual – UFLA (Major Professor), Nilton Nagib Jorge Chalfun – UFLA, Murillo de Albuquerque Regina – EPAMIG, Carmen del Rio Rincón – CIFA.

3 INTRODUÇÃO

No melhoramento genético, a propagação sexuada de muitas frutíferas, e em particular da oliveira, apresenta uma vantagem, que é a possibilidade de obtenção de uma nova variedade. Tratando-se de uma planta alógama, a germinação de sementes oriundas de cruzamentos, por polinização livre ou controlada, origina híbridos que, numa população de plantas, apresentam variabilidade genética, na qual pode atuar a seleção.

Entretanto, em muitas frutíferas e também em oliveira, um dos entraves dos programas de melhoramento genético, em que são utilizados métodos que envolvem cruzamentos entre plantas, é a avaliação das populações segregantes, devido ao demorado tempo de germinação das sementes, que pode atingir meses, ou até mesmo não germinarem e também dada a desuniformidade de sua germinação. Estas dificuldades tomam os resultados dos projetos de melhoramento demorados e não estimulam pesquisadores e entidades financiadoras a trabalharem nesta linha de pesquisa.

Desse modo, uma forma de amenizar este problema seria a utilização de técnicas de cultura de tecidos.

Assim, a cultura de embriões *in vitro*, além de reduzir o tempo para obtenção de um novo indivíduo, permite também boa uniformidade e alto percentual de germinação.

É importante considerar também que as plântulas obtidas dessa forma poderão ser testadas ainda *in vitro*, quanto à sua resistência a pragas e doenças, estresse nutricional, condições de temperatura e necessidade de luz para o seu desenvolvimento.

O cultivo de embriões *in vitro* é também importante para a recuperação de plantas oriundas de outros países, quando introduzidas por sementes e trocas

de germoplasmas, com outras instituições do mundo. Como a cultura de tecidos baseia-se na total isenção de microorganismos, ficam eliminadas barreiras sanitárias impostas por muitos países, dado ao risco de transferência de pragas e doenças, de uma região para outra.

Dessa forma, o objetivo do presente trabalho foi verificar o efeito de diferentes proporções de sais componentes do meio de cultura MS e concentrações de sacarose, na germinação de embriões maduros de oliveira.

4 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais do Departamento de Agricultura da Universidade Federal de Lavras (UFLA), em Lavras, Minas Gerais, no período de dezembro de 1999 a maio de 2000.

As sementes, de onde foram extraídos os embriões, foram coletadas da cultivar Ascolano 315, com aproximadamente 10 anos de idade, mantidas no banco de germoplasma, localizado na Fazenda Experimental da EPAMIG, em Maria da Fé, Minas Gerais. Foram coletadas quando atingiram maturação, determinada visualmente pela coloração escura externa do fruto.

Imediatamente após a coleta dos frutos foi eliminada a polpa e a semente, ou caroço (endocarpo esclerificado), foi lavada com água e seco a sombra.

Em seguida, foi realizada uma assepsia superficial com álcool 70% por quinze minutos e novamente seco à sombra. Antes da instalação do experimento em laboratório, as sementes foram submetidas às condições de baixas temperaturas, entre 3°C a 5°C, por cinco dias.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, em esquema fatorial (3x5) com três repetições, compreendendo três proporções dos sais componentes do meio de cultura MS (Murashige & Skoog-1962): 0, 0,5 e 1; acrescidos de 1g.L⁻¹ de carvão ativado, pH ajustado para 5,8 e solidificado com ágar na proporção de 6 g.L⁻¹; e cinco quantidades de sacarose (0, 15, 30, 45 e 60 g.L⁻¹), utilizando-se para cada parcela experimental, quatro tubos de ensaio, nas dimensões de 2,5 x 15 cm com 15 ml de meio por tubo, fechados com tampa plástica e esterilizados à temperatura de 121°C⁰, durante 20 minutos e 1,2 atmosfera de pressão.

Para a extração do embrião foi quebrado o caroço (endocarpo esclerificado), com auxílio de um torno e retirado o albúmen. Neste foi realizada uma assepsia superficial em solução de álcool etílico 70%, por trinta segundos. Posteriormente, com hipoclorito de sódio 2% por vinte minutos e, depois em câmara asséptica de fluxo laminar horizontal, lavado por três vezes em água destilada e autoclavada.

Na câmara de fluxo laminar foi retirado o embrião, realizando um corte no albúmen, no sentido longitudinal, com auxílio de bisturi e pinça, utilizando lupa com aumento de 20x, evitando qualquer dano nas folhas cotiledonares ou no próprio embrião. Em seguida foi inoculado um embrião em cada tubo de ensaio, sendo a borda vedada com filme plástico.

Posteriormente, foram transferidos para sala de crescimento com temperatura de $26 \pm 1\text{C}^{\circ}$, fotoperíodo de 16 horas e intensidade luminosa de $35 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$, suprida por lâmpadas grow-lux e branca-fria.

As avaliações foram realizadas aos 70 dias, por meio de: altura de plântulas, número médio de folhas/plântula, peso de matéria seca de toda a plântula e porcentagem de germinação de embriões.

Os dados coletados, com exceção da variável porcentagem de embriões germinados, foram transformados para raiz quadrada de $X+0,5$ (Banzatto e Kronka, 1989) e analisados estatisticamente utilizando-se o Sistema de Análise de Variância para Dados Balanceados (Ferreira, 2000). A comparação das médias foi feita pelo teste Scott e Knott (1974), a 5% de probabilidade.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Observou-se efeito significativo para as causas de variação níveis de componentes do meio de cultura MS (Murashig e Skoog, 1962) e concentração de sacarose, para as características número médio de folhas/plântula e peso de matéria seca de plântulas. O efeito da interação níveis de MS x sacarose foi significativo somente para as variáveis altura de plântulas e porcentagem de germinação (Anexo 4 A).

5.1 Altura média de plântulas

Observou-se efeito da interação de níveis de sais componentes do meio MS x sacarose. No seu desdobramento, não observou-se efeito significativo em qualquer modelo de regressão polinomial para concentração de sacarose, dentro do nível zero de componentes do meio MS. Contudo foi verificada uma tendência das plântulas apresentarem menor tamanho a medida em que aumentou a concentração de sacarose, variando de 1,59 cm para zero de sacarose, a 0,95 cm para 60 g.L⁻¹ de sacarose (Figura 8).

Para o meio MS, completo e com metade dos componentes, observou-se efeito quadrático significativo a 1% de probabilidade para diferentes concentrações de sacarose (Figura 8).

Cañas, Carramolino e Vicente (1987), observaram que o cultivo *in vitro* de embriões desta espécie somente no ágar é possível. Estes resultados são concordantes com os verificados no presente trabalho. Entretanto, estes autores constataram que as plântulas paralisavam seu crescimento após trinta dias de sua germinação. É possível que este fato explique o comportamento da altura de plântulas observado no presente trabalho, quando utilizou-se zero de sais do MS,

plântulas observado no presente trabalho, quando utilizou-se zero de sais do MS, possibilitando maior altura também com zero de sacarose, sendo que nestas condições, o crescimento ocorreu utilizando-se de reservas contidas no embrião.

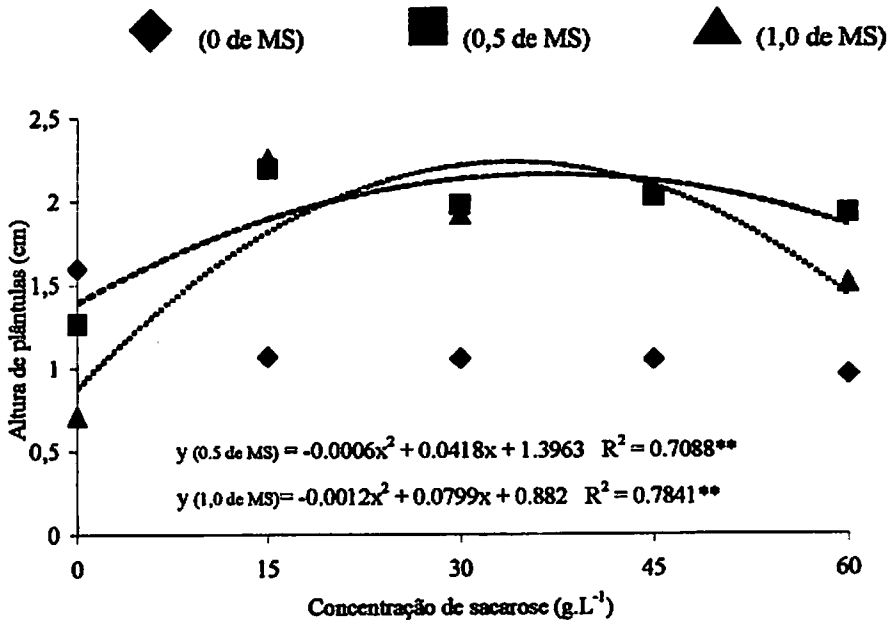


FIGURA 8. Altura de plântulas (cm) em diferentes concentrações de sacarose no meio de cultura MS com zero, 0,5 (metade) e 1,0 (completo) dos seus componentes. UFLA, Lavras, MG, 2001.

Tanto para MS completo como para metade de sua concentração, observou-se um aumento na altura de plântulas, à medida que aumentou a concentração de sacarose, com posterior decréscimo. Entretanto, no meio MS, com metade da concentração, a altura máxima de plântulas foi obtida com aproximadamente 40 g.L⁻¹ de sacarose e, no MS com concentração completa, 35g.L⁻¹ de sacarose, aproximadamente (Figura 8).

Observou-se que o meio MS completo permitiu à planta uma maior eficiência na utilização da sacarose, sendo que menor quantidade de energia possibilitou uma maior altura.

5.2 Número médio de folhas/plântula

Observou-se efeito quadrático significativo a 1% de probabilidade, indicando que o número de folhas/plântula tende a aumentar com o incremento da concentração dos componentes do meio de cultura, atingindo um máximo com o nível aproximado de 0,65 (Figura 9).

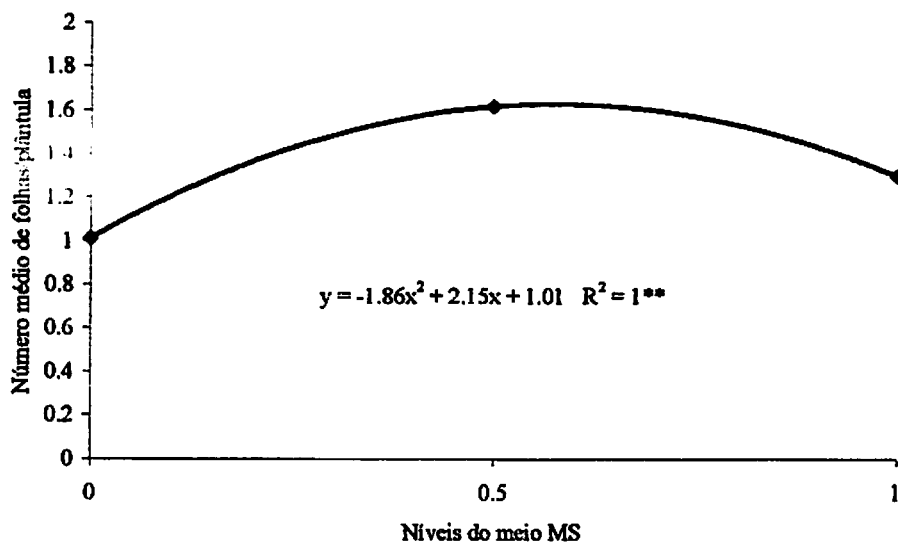


FIGURA 9. Número médio de folhas/plântula em diferentes níveis de componentes do meio de cultura MS. UFLA, Lavras - MG, 2001.

Esta variável foi influenciada também pela concentração de sacarose (Figura 10). Observou-se efeito quadrático significativo a 1% de probabilidade da concentração de sacarose sobre número de folhas, aumentando com o incremento da concentração e depois decrescendo. O número máximo de folhas/plântula foi obtido com sacarose entre 25 e 30 g.L⁻¹ de meio de cultura.

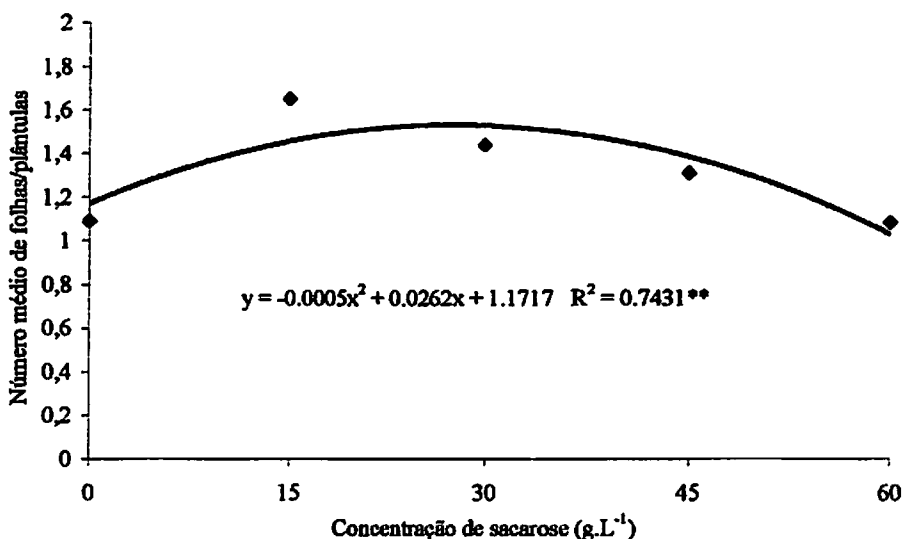


FIGURA 10. Número médio de folhas/plântula em diferentes concentrações de sacarose no meio de cultura. UFLA, Lavras, MG, 2001.

Estes resultados estão de acordo com os obtidos por Clavero (1994), que observou que reduções do nível de sais componentes do meio de cultura MS melhoram significativamente o crescimento de plântulas de oliveira cv. Manzanillo e também que, para o intervalo de 10 a 40 mg.L⁻¹ de sacarose, não há diferença para esta variável.

5.3 Peso de matéria seca

Observou-se efeito linear significativo, tanto para concentração de sais do meio de cultura MS (Figura 11), como para concentração de sacarose (Figura 12), sendo que nos dois fatores houve aumento da variável estudada.

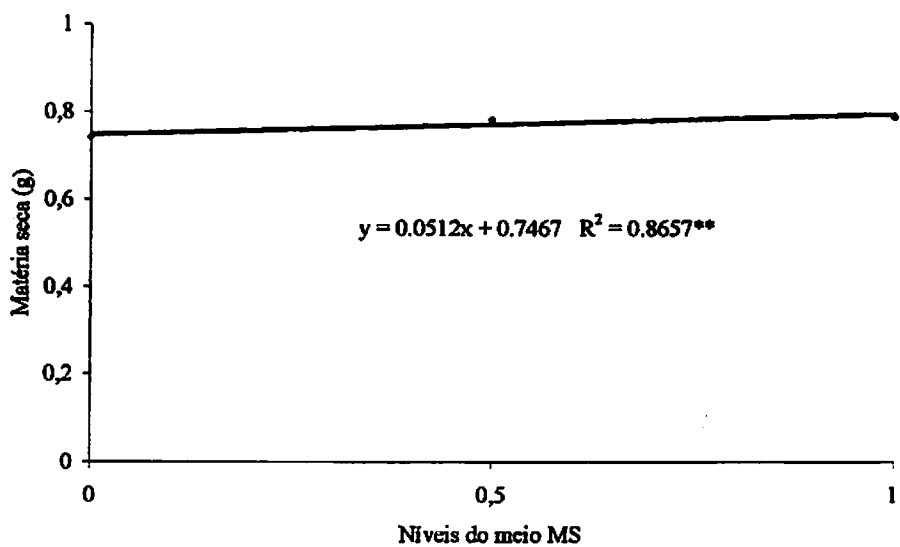


FIGURA 11. Peso de matéria seca de plântulas de oliveira em diferentes níveis de componentes do meio de cultura MS. UFLA, Lavras, MG. 2001.

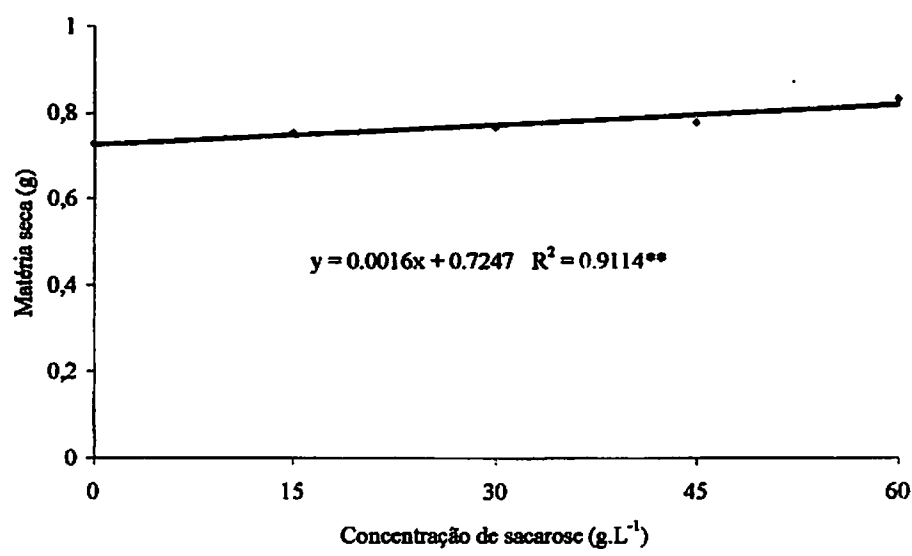


FIGURA 12. Peso de matéria seca de plântulas de oliveira em diferentes concentrações de sacarose no meio de cultura MS. UFLA, Lavras, MG. 2001.

Considerando a concentração de sacarose, Hoffmann (1999), trabalhando com multiplicação *in vitro* de mudas de macieira, porta enxerto 'Marubakaido', não verificou efeito significativo na produção de matéria seca. Por outro lado, em meio de cultura para enraizamento, foi observado efeito linear, aumentando a produção de matéria seca com o aumento da concentração de sacarose no meio de cultura. Segundo este mesmo autor, a matéria seca é constituída, principalmente, de carboidratos insolúveis presentes na parede celular (celulose, hemicelulose e lignina) sendo que a maior disponibilidade de carbono facilmente assimilável, como o disponível na sacarose, permitiu o aumento da síntese destes compostos.

5.4 Porcentagem de germinação de embriões

Observou-se efeito da interação níveis de sais componentes do meio MS x sacarose.

No desdobramento da interação níveis de MS x concentração de sacarose, para a variável porcentagem de germinação, observou-se efeito linear significativo para sacarose, dentro do nível zero, e do nível 0,5 (metade) dos sais componentes do meio MS (Figura 13). Entretanto, com tendências inversas, diminuindo a porcentagem de germinação na medida do aumento da concentração de sacarose para o meio MS com zero de seus componentes e aumentando esta porcentagem na medida do aumento da concentração de sacarose, no meio de cultura com metade dos sais.

É importante frisar que estas equações explicam apenas parte dos fatores dado ao baixo valor de R^2 0,37%.

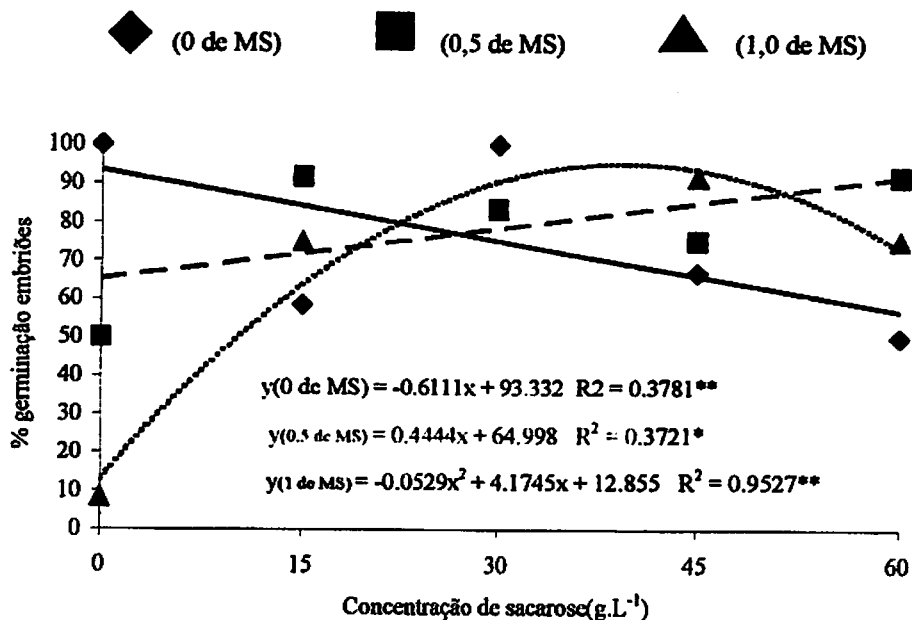


FIGURA 13. Porcentagem de germinação de embriões, em diferentes concentrações de sacarose no meio de cultura MS com zero, 0,5 (metade) e 1,0 (completo) dos seus componentes. UFLA, Lavras, MG, 2001.

No meio de cultura completo foi observado efeito quadrático significativo a 1% de probabilidade, com maior porcentagem de germinação com aproximadamente 40 g.L⁻¹ de sacarose. Concentrações maiores e menores tenderam a diminuir a germinação de embriões (Figura 13).

De acordo com os resultados, os níveis de sais do meio de cultura MS afetaram a germinação de embriões, mas não foi observada diferença estatística significativa entre porcentagem de germinação no nível zero de MS (75%), no nível 0,5 de MS (78,33%) e no nível 1 de MS (66,66%). Estes resultados são concordantes com os verificados por Istambouli e Neville (1977), trabalhando com diferentes meios de cultura para germinação de embriões de oliveira e por Pierik (1990) para embriões de outras espécies.

Como era esperado, os resultados observados indicam também que os reguladores de crescimento não são necessários para o cultivo de embriões de oliveira, pois sua a implantação *in vitro* ocorreu sem a exigência destas substâncias, conforme verificados por Pierik (1990), com outras espécies de lenhosas.

É importante assinalar que os primeiros sinais visíveis de germinação se manifestam com o enverdecimento dos cotilédones, quase simultaneamente com o alongamento da radícula. Estes resultados também foram observados por Rugini e Fideli (1990), sendo que, em um período de seis semanas, pôde-se conseguir plântulas com 1 ou 2 nós e um bom sistema radicular.

6 CONCLUSÕES

Para as condições em que foi realizado o presente trabalho, conclui-se que:

- **a germinação de embriões não é afetada por níveis de componentes do meio MS; maiores porcentagens (78,33%) são observadas com concentração 0,5 do conteúdo de seus sais;**

- **a concentração de sacarose no meio de cultura MS influencia na germinação de embriões, sendo que 30 a 35 g.L⁻¹ permite os melhores resultados;**

- **o aumento dos níveis de sais componentes do meio MS e da concentração de sacarose no respectivo meio, proporciona maior acúmulo de matéria seca de plântulas;**

- **o cultivo in vitro de embriões de oliveira por 6 a 8 semanas permite obter plântulas com 3 ou 4 nós, em condições de serem aclimatizadas.**

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BANZATTO, D. A.; KRONKA, S. N. Experimentação agrícola. Jaboticabal: FUNEP, 1989. 247p.
- CAÑAS, L. A.; CARRAMOLINO, L.; VICENTE, M. Vegetative propagation of the olive tree from in vitro cultured embryos. *Plant Science*. Limerick, v.50, p.85-90, 1987.
- CLAVERO, I. Acortamiento del periodo juvenil en olivo (*Olea europaea* L.). I. Cultivo in vitro de embriones. II. Efecto del fotoperiodo en el crecimiento de plantulas. Málaga: Universidad de Málaga, 1994. 163p. (Tesis Doctoral).
- FERREIRA, D. F. Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4.0. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA. UFSCar, 45, 2000, São Carlos. Anais... São Carlos, SP: SIB, 2000. p. 255-258.
- HOFFMANN, A. Enraizamento e aclimação de mudas micropropagadas de porta-enxertos de macieira 'marubakaido' e 'M-26'. Lavras: UFLA, 1999. 240 p. (Tese Doutorado em Fitotecnia).
- ISTAMBOULI, A.; NEVILLE, P. Influences de quelques glucides sur la germination de l'olivier. *Revue Generale Botanique*, Paris, v.84, p.305-317, 1977.
- MURASHIGE, T. ; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and biossays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, Copenhagen, v. 15, p. 473-479, 1962.
- PIERIK, R. L. Cultivo in vitro de las plantas superiores. Madrid: Ediciones Mundi-Prensa, 1990. 326 p.
- RUGINI, E.; FEDELI, E. O. (*Olea europaea* L.) as an oil seed crop. In: BAJAJ, Y. P. S. (ed.). *Biotechnology in Agriculture and Forestry. Legumes and oilseed*. Berlin: Springer Verlag,, 1990. v.10, p.593-641.

SCOTT, A. J.; KNOTT, M. A cluster analysis method for grouping means in the analysis of variance. *Biometrics*, Washington, v. 30, p. 507-512, Sept. 1974.

ANEXOS

	página
ANEXO 1A – Resumo das análises de variância conjunta para as características porcentagem de estacas enraizadas, número médio de raízes por estaca e maior comprimento de raízes, obtidas nos experimentos de avaliação de diferentes doses de AIB e substratos, no enraizamentos de estacas de oliveira (<i>Olea europaea</i> L.). Fazenda Experimental de Maria da Fé, EPAMIG, UFLA, Lavras, MG, 2001.....	117
ANEXO 1B – Resumo das análises de variância para porcentagem de estacas enraizadas, número médio de raízes por estaca e maior comprimento de raízes, obtidas no experimento de avaliação de diferentes doses de AIB e substratos, no enraizamento de estacas de oliveira (<i>Olea europaea</i> L.) 09/02/2000 (primeiro experimento). Fazenda Experimental de Maria da Fé – EPAMIG, UFLA, Lavras, MG, 2001.....	118
ANEXO 1C - Resumo das análises de variância para porcentagem de estacas enraizadas, número médio de raízes por estaca e maior comprimento de raízes obtidas no experimento de avaliação de diferentes doses de AIB e substratos, no enraizamento de estacas de oliveira (<i>Olea europaea</i> L.) 27/04/2000 (segundo experimento). Fazenda Experimental de Maria da Fé, EPAMIG, UFLA, Lavras, MG, 2001.....	119
ANEXO 2A – Resumo das análises de variância (Q.M.) para porcentagem de estacas enraizadas, número de raízes por estaca, comprimento médio de raízes e porcentagem de estacas mortas obtidas no experimento de enraizamento de estacas semilenhosas de oliveira (<i>Olea europaea</i> L.) com diferentes tamanhos. CIFA – Córdoba, Espanha. UFLA, Lavras, MG, 2001	120
ANEXO 3A – Resumo das análises de variância (Q. M.) para porcentagem de estacas enraizadas, número de raízes por estaca, comprimento médio de raízes e porcentagem de estacas com calo e mortas obtidas no experimento de enraizamento de estacas semilenhosas de oliveira (<i>Olea europaea</i> L.), preparadas a partir de ramos vegetativos e frutíferos, com e sem adubação foliar. CIFA – Córdoba, Espanha. UFLA, Lavras, MG, 2001.....	121
ANEXO 4A – Resumo das análises de variância para altura média de plântulas, número médio de folhas/plântula, matéria seca e porcentagem de germinação, obtidas no experimento de avaliação de diferentes níveis de MS e concentração de sacarose, na cultura <i>in vitro</i> de embriões de oliveira (<i>Olea europaea</i> L.). UFLA, Lavras, MG, 2001.....	122

Anexo 1A Resumo das análises de variância conjunta para as características percentagem de estacas enraizadas, número médio de raízes por estaca maior comprimento de raízes, obtidas nos experimentos de avaliação de diferentes doses de AIB e substratos, no enraizamento de estacas de oliveira (*Olea europaea* L.). Fazenda Experimental de Maria da Fé, MG, UFLA, Lavras, MG, 2001.

FV	GL	Quadrados		Médios e	significância
		% Estacas enraizadas	Número de raízes Por estaca		
Repetição (época)	6	0,13349	0,91874	0,67653	
Época-experimentos	1	1,64711**	13,20338**	18,52883**	
Substratos	3	0,89751**	10,84433**	9,74435**	
Doses AIB	3	1,54969**	20,86415**	14,45358**	
Subs. X doses	9	0,07145**	0,87729*	0,83802**	
Época X subst.	3	0,31226**	2,13607**	2,22222**	
Época X doses	3	0,15329*	1,49990*	1,55928*	
Época X sub X doses	9	0,02366**	0,67403**	0,63543**	
Erro	90	0,04760	0,42036	0,54760	
Média		21,54 %	4,75ud	4,85 cm	
C. V. %		57,09	32,95	36,84	

** ; * Significativo a 1% e 5% de probabilidade, respectivamente, pelo teste F.

Anexo 1B Resumo das análises de variância para porcentagem de estacas enraizadas, número médio de raízes por estaca e maior comprimento de raízes, obtidas no experimento de avaliação de diferentes doses de AIB e substratos, no enraizamento de estacas de oliveira (*Olea europaea* L.) 09/02/2000 (primeiro experimento). Fazenda Experimental de Maria da Fé, MG. UFLA, Lavras, MG, 2001.

FV	GL	Quadrados	Médios e	significância
		% Estacas enraizadas	Número de raízes Por estaca	Maior comprimento Raízes
Repetição	3	5,10857	0,83858	0,18196
Substratos	3	50,71852**	4,49739**	8,18789**
Doses AIB	3	77,33780**	7,12023**	11,45885**
Subs. X doses	9	2,18713 ^{ns}	0,50041*	0,63858 ^{ns}
Erro	45	3,24874	0,20233	0,63774
Média		29,95%	1,64ud	6,67
C. V. %		38,75	27,39	33,42

**; * Significativo a 1% e 5% de probabilidade, respectivamente, pelo teste F.

Anexo 1C Resumo das análises de variância para porcentagem de estacas enraizadas, número médio de raízes por estaca e maior comprimento de raízes, obtidas no experimento de avaliação de diferentes doses de AIB e substratos, no enraizamento de estacas de oliveira (*Olea europaea* L.) 27/04/2000 (segundo experimento). Fazenda Experimental de Maria da Fé, MG, UFLA, Lavras, MG, 2001.

FV	GL	Quadrados			Médios e significância
		% Estacas enraizadas	Número raízes		
			Por estaca	Maior comprimento raízes	
Repetição	3	11,74261	0,50744	1,17110	
Substratos	3	20,87508**	1,02429**	3,77867**	
Doses AIB	3	31,44284**	1,52348**	4,55401**	
Subs. X doses	9	3,46309 ^{n.s.}	0,23263 ^{n.s.}	0,83487*	
Erro	45	2,59431	0,11637	0,45746	
Média		13,13%	1,06ud	3,03cm	
C. V. %		55,82	32,02	41,54	

**; * Significativo a 1% e 5% de probabilidade, respectivamente, pelo teste F.

Anexo 2A Resumo das análises de variância (Q.M.) para porcentagem de estacas enraizadas, número de raízes por estaca, comprimento médio de raízes e porcentagem de estacas mortas obtidas no experimento de enraizamento de estacas semilenhosas de oliveira (*Olea europaea* L.) com diferentes tamanhos. CIFA – Córdoba, Espanha. UFLA, Lavras, MG, 2001.

F. V.	GL	Quadrados		médios e	significância
		% estacas enraizadas	Num. raízes/estaca	Comp. médio raízes	% estacas mortas
Repetição	3	258,7620	1,8372	0,5777	73,6072
Variedades	1	1.102,3950**	21,1848**	0,6052 ^{n.s.}	780,3072*
Tamanho estacas	4	1.208,7900**	19,8349**	3,3649**	2.509,4160**
Varied. X t. estacas	4	51,8020 ^{n.s.}	1,8057 ^{n.s.}	0,7910*	180,2260 ^{n.s.}
Erro	27	95,0172	1,3945	0,2746	122,3646
Média		32,75%	5,20 ud.	2,97 cm.	33,92%
C. V. %		29,76	22,72	17,64	32,62

**; * Significativo a 1% e 5% de probabilidade, respectivamente, pelo teste F.

Anexo 3A Resumo das análises de variância (Q. M.) para porcentagem de estacas enraizadas, número de raízes por estaca, comprimento médio de raízes e porcentagem de estacas com calo e mortas, obtidas no experimento de enraizamento de estacas semilenhosas de oliveira (*Olea europaea* L.), cv. "Picual", preparadas a partir de ramos vegetativos e frutíferos, com e sem adubação foliar. Córdoba, Espanha. UFLA, Lavras, MG, 2001.

F. V.	GL	Quadrados		Médios e	significância	
		% estacas enraizadas	Número raízes/estaca	Comprimento Médio raízes	% estacas calo	% estacas mortas
Repetição	3	286,0167	2,9982	0,2875	90,7038	69,1675
Tipo de ramo	1	11,1222 ^{ns}	2,0164 ^{ns}	1,3053*	136,0139 ^{ns}	135,7225 ^{ns}
Adubação foliar	1	2,7889 ^{ns}	0,3600 ^{ns}	0,0203 ^{ns}	711,1556**	1.596,0025**
T.ramo X ad. foliar	1	400,0000*	1,0506 ^{ns}	0,6440 ^{ns}	469,6973**	2.176,2225**
Erro	9	53,3790	2,7679	0,1884	45,6692	89,8342
Média		27,08%	6,41 ud.	2,95cm	23,34%	35,41%
C. V. %		26,98	25,94	14,73	28,96	26,76

**; * Significativo a 1% e 5% de probabilidade, respectivamente, pelo teste F.

Anexo 4A Resumo das análises de variância para altura média de plântulas, número médio de folhas/plântula, matéria seca e percentagem de germinação, obtidas no experimento de avaliação de diferentes níveis de MS e concentração de sacarose, na cultura *in vitro* de embriões de oliveira (*Olea europaea* L). UFLA, Lavras, MG, 2000.

F. V.	GL	Quadrados médios			
		Altura plântulas (cm)	Número Folhas/plântula (ud)	Matéria seca (g)	% de germinação
Níveis MS(A)	2	2,200**	1,400**	0,0113**	541,666 ^{ns}
Sacarose (B)	4	0,573*	0,527*	0,0139**	1.548,611**
A x B	8	0,568**	0,390 ^{ns}	0,0021 ^{ns}	2.173,611**
Resíduo	30	0,151	0,180	0,0012	277,777
C.V. (%)		27,72	32,34	4,58%	22,72
Média		1,57cm	1,31ud	0,77g	73,33%

** , * Significativo a 1% e 5% de probabilidade, respectivamente, pelo teste F.