

DESFOLHAMENTO E BAIXA TEMPERATURA EM PLANTAS MICROPROPAGADAS DE MACIEIRA COMO FORMA DE SUPERAR A PARADA DO CRESCIMENTO DURANTE A ACLIMATIZAÇÃO

JONNY EVERSON SCHERWINSKI PEREIRA¹, GERSON RENAN DE LUCES FORTES²

EMBRAPA/ Centro de Pesquisa de Clima Temperado, Caixa Postal 403, 96001-970, Pelotas – RS.

RESUMO - Este trabalho objetivou avaliar o efeito do desfolhamento e da temperatura sobre o crescimento de plantas micropropagadas de macieira, cv. Marubakaido, durante o processo de aclimatização. Brotações desse porta-enxerto foram enraizadas *in vitro* e transplantadas para casa-de-vegetação, onde permaneceram por quinze dias. Em seguida, dois lotes de plantas, desfolhadas e não desfolhadas, foram transferidas para câmaras de crescimento e submetidas à temperatura de $4\pm 1^{\circ}\text{C}$ e $10\pm 1^{\circ}\text{C}$ por 0, 360, 720, 1080 e 1440 horas, sob fotoperíodo de 16 horas e radiação de $5\mu\text{E}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$. Após os tratamentos, as plantas foram conduzidas para casa-de-vegetação, onde avaliou-se, a cada duas semanas, o crescimento por um período de dez semanas. Avaliaram-se ainda o comprimento dos entrenós e o peso da matéria seca das raízes e da parte aérea das plantas ao final do período estudado. O efeito dos tratamentos sobre a sobrevivência das plantas também foi avaliado após um mês de permanência das plantas em casa-de-vegetação. Verificou-se um decréscimo acentuado na sobrevivência das plantas quando essas foram desfolhadas e tratadas a $4\pm 1^{\circ}\text{C}$. Plantas inicialmente com folhas e mantidas à temperatura de $4\pm 1^{\circ}\text{C}$ apresentaram aumento na altura, no comprimento dos entrenós e na matéria seca das raízes, e parte aérea proporcional ao tempo de permanência nesta temperatura. Nas plantas tratadas com $10\pm 1^{\circ}\text{C}$, também verificou-se um efeito benéfico dos tratamentos sobre o crescimento e alongamento dos entrenós. Somente as plantas mantidas inicialmente com folhas apresentaram aumento de matéria seca na parte aérea neste tratamento. A temperatura de $10\pm 1^{\circ}\text{C}$ não afetou a matéria seca das raízes das plantas, desfolhadas e não desfolhadas.

TERMOS ADICIONAIS PARA INDEXAÇÃO: *Malus* sp., micropropagação, dormência, crescimento vegetativo, aclimação, baixa temperatura, inibição correlativa.

DEFOLIATION AND LOW TEMPERATURE IN MICROPROPAGATED APPLE PLANTS TO OVERCOMING THE GROWTH CESSATION DURING THE ACCLIMATIZATION

ABSTRACT - The present work aimed to evaluate the effect of the temperature and defoliation on the growth of micropropagated apple plants, cv. 'Marubakaido', during the acclimatization process. Apple shoots were rooted *in vitro* and transplanted to greenhouse where they remained for fifteen days. After

Recebido em 10/4/2000 – Aceito em 10/7/2000

1. Doutorando em Produção Vegetal na FAEM/UFPel, Caixa Postal 354, 96001-970, Pelotas - RS. Autor correspondente <e-mail: jscherwi@ufpel.tche.br>
2. Doutor, EMBRAPA Centro de Pesquisa de Clima Temperado, Caixa Postal 403, 96001-970, Pelotas – RS

this period, two lots of plants, defoliated and not defoliated, were transferred to growth room and kept under temperature of $4\pm 1^\circ\text{C}$ and $10\pm 1^\circ\text{C}$ by 0, 360, 720, 1.080 and 1.440 hours, under 16 hours photoperiod and radiation of $5\mu\text{E}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$. Then, the plants were transferred to greenhouse where their growth was evaluated every two weeks during ten weeks. The internode length and dry matter weight of the aerial part and roots as well were also evaluated at the end of the experiment. The percentage of plant survival was evaluated after a month in a greenhouse. A sharp decrease in the plants survival was verified when they were defoliated and treated at $4\pm 1^\circ\text{C}$. Plants with leaves maintained at $4\pm 1^\circ\text{C}$ presented an increase in the height, internode length and in the weight of the dry matter of the roots and aerial parts proportional to the time remained in this temperature. Plants treated with $10\pm 1^\circ\text{C}$ had a beneficial effect of the treatments which was also verified for the growth and internode lengthening. Only the plants maintained initially with leaves presented an increase in the dry matter of aerial part in this treatment. $10\pm 1^\circ\text{C}$ did not affect the weight of roots dry matter of the plants, defoliated and not defoliated.

ADDITIONAL INDEX TERMS: *Malus* sp., micropropagation, plant growth, dormancy, acclimatation, low temperature, correlative inhibition

INTRODUÇÃO

O sucesso na implantação de pomares depende, em grande parte, da qualidade das mudas utilizadas. A enxertia de cultivares comerciais sobre porta-enxertos é o método tradicional de produção de mudas de macieira. Entretanto, o processo de multiplicação de porta-enxertos, normalmente a mergulhia de cepa, pode ser de baixo rendimento e deficiente para atender à demanda de mudas. Além disso, a enxertia, quando efetuada com material de origem desconhecida, facilita a transmissão de viroses que podem reduzir a produção e afetar a qualidade dos frutos (Jones, 1979; Denardi e Leite, 1996). Porém, esses problemas podem ser superados por meio da propagação *in vitro*.

A propagação de plantas de macieira pelo cultivo *in vitro* tem sido descrita por diversos autores (Malavasi e Predieri 1990; Schuch e Peters, 1993; Pereira e Fortes, 1999). Além de proporcionar uma elevada taxa de multiplicação, o método possibilita a rápida propagação de material vegetal e sua manutenção para produção em qualquer época do ano (Sriskandarajah e Mullins, 1981; Zimmerman e Fordhan, 1985). Em condições *in vitro*, as plantas se desenvolvem sob condições controladas de crescimento, tornando-se heterotróficas com baixa ou nenhuma atividade fotossintética. Assim, no momento da aclimatização, estão sujeitas a um forte estresse

ambiental, podendo ocorrer a morte das mesmas (Wardle *et al.*, 1983; Van Huylenbroeck e Debergh, 1996). Além disso, para algumas variedades de macieira, entre elas a cultivar Marubakaido, quando transplantadas e conduzidas para casa-de-vegetação, apresentam uma parada de crescimento que pode perdurar por vários meses, normalmente até a estação seguinte de crescimento (Ribas e Zanette, 1992; Pereira et al., 1999b). Por se tratar de uma ausência aparente de crescimento, esse fato pode ser caracterizado como um tipo de dormência (Lang, 1987; Champagnat, 1992).

De acordo com Andrufeu (1987) e Rogers (1991), plantas provenientes do cultivo "*in vitro*" geralmente apresentam um atraso no crescimento quando são transferidas para casa-de-vegetação, resultante das mudanças abruptas de ambiente. Da mesma forma, Pereira et al. (1999b) citam que essa parada no crescimento, logo que as plantas são aclimatizadas, parece ser por causa de condições adversas que essas encontram no momento do transplante. Além disso, descreve que outros órgãos da planta, como por exemplo as folhas, também poderiam apresentar alguma influência sobre o crescimento das plantas durante as primeiras semanas de aclimatização. Para Crabbé e Barnola (1996), um rápido acúmulo de folhas jovens em plantas pode apresentar um efeito inibitório sobre o alongamento dos entrenós, anulando a organogênese e, conseqüentemente, o crescimento por completo das plantas. Esse

acúmulo de folhas, principalmente no ápice das plantas, formando uma estrutura tipo 'roseta de folhas', é rotineiramente observado em plantas de macieira, quando essas são aclimatizadas (Pereira et al., 1999b).

Outro fator a considerar são as baixas temperaturas. Na natureza, essas se apresentam como o principal agente envolvido na quebra da dormência das plantas. A temperatura ótima pode variar de acordo com a espécie e cultivar, e períodos abaixo de 7,2°C têm sido considerados como um valor referencial (Petri et al., 1996). Entretanto, trabalhos têm mostrado que temperaturas amenas, acima de 7,2°C, também apresentam influência, principalmente em espécies e cultivares de menor exigência em frio (Erez e Curvillon, 1987; Ribas e Zanette, 1992).

Este trabalho tem como principal objetivo avaliar a influência da temperatura e do desfolhamento sobre o crescimento de plantas do porta-enxerto de macieira Marubakaido durante o processo de aclimatização. Espera-se, desta forma, melhorar o crescimento das plantas em casa-de-vegetação e, com isso, acelerar a produção de mudas pelo método da micropropagação.

MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi realizado na Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS, entre os meses de setembro de 1999 e janeiro de 2000. Brotações do porta-enxerto de macieira Marubakaido (*Malus prunifolia* Borkh.), oriundas do cultivo *in vitro*, com duas a três gemas e com 1,0 a 1,5 cm de comprimento, foram enraizadas de acordo com a metodologia proposta por Fortes e Zanol (1995), e transplantadas para casa-de-vegetação em bandejas de semeadura com substrato composto de terra de mato, vermiculita e esterco bovino, na proporção de 1:1:1, previamente esterilizado com brometo de metila.

Durante as duas primeiras semanas de aclimatização, as plantas foram mantidas sob duplo sombrite e irrigadas diariamente, procurando-se manter as folhas sempre úmidas. Após esse período, dois lotes de plantas, desfolhadas e não

desfolhadas, foram transferidos para câmaras de crescimento, modelo *Percival I-60*, com temperatura de 4±1°C e 10±1°C, fotoperíodo de 16 horas e radiação de 5μE.m⁻².s⁻¹, durante cinco períodos distintos: 0, 360, 720, 1.080 e 1.440 horas. O desfolhamento das plantas foi realizado manualmente com o auxílio de tesoura de poda.

Após cada tratamento, as plantas retornaram para casa-de-vegetação, onde avaliou-se, a cada duas semanas, o crescimento dessas, compreendido entre a região do colo e a inserção da última folha, por um período de dez semanas. Ao final desse período, avaliaram-se ainda o comprimento dos entrenós e o peso da matéria seca das raízes e parte aérea das plantas. O efeito dos tratamentos sobre a sobrevivência das plantas também foi avaliado após 30 dias de permanência das plantas em casa-de-vegetação.

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos casualizados. Cada tratamento foi repetido cinco vezes e cada unidade experimental constituída de cinco plantas. Os resultados obtidos foram avaliados estatisticamente com o auxílio do Sistema de Análise Estatística para microcomputadores (SANEST) (Zonta e Machado, 1984).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O transplante das plântulas das condições *in vitro* para casa-de-vegetação, seguido dos respectivos tratamentos, promoveram, de um modo geral, um decréscimo na sobrevivência das plantas, especialmente no tratamento em que as plantas foram inicialmente desfolhadas e mantidas à temperatura de 4±1°C. Até 360 horas nessas condições, a sobrevivência das plantas após um mês de aclimatização foi de cerca de 92%. Porém, essa declinou-se quando as plantas foram mantidas por 720, 1.080 e 1.440 horas, quando a taxa média de sobrevivência foi de 24, 12 e 0%, respectivamente (Figura 1). Pelo baixo índice de sobrevivência das plantas deste tratamento e, conseqüentemente, pelo limitado número de plantas a serem avaliadas, nenhuma variável deste tratamento foi avaliada.

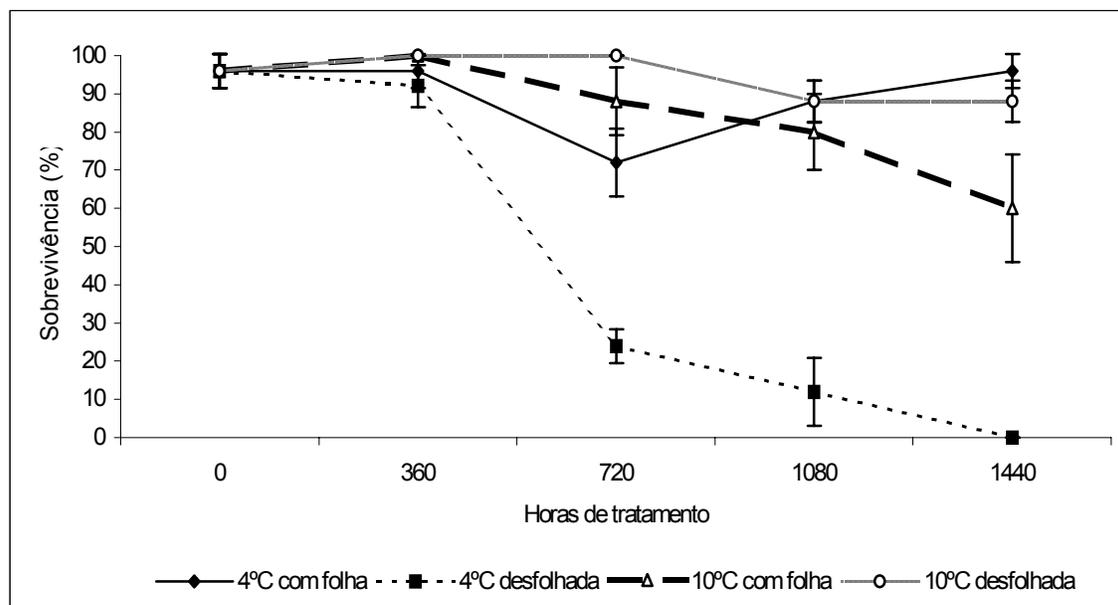


FIGURA 1 - Efeito do desfolhamento e temperatura na sobrevivência de plantas de macieira, após um mês da aclimatização.

As plantas não desfolhadas e tratadas à temperatura de $10\pm 1^{\circ}\text{C}$ também apresentaram um nítido decréscimo na taxa de sobrevivência. Nas plantas testemunhas e naquelas mantidas por 360 horas à temperatura de $10\pm 1^{\circ}\text{C}$, a taxa média observada foi de 98% de sobrevivência. Já para as plantas que permaneceram por períodos mais longos nessas condições, ou seja, 720, 1.080 e 1.440 horas, verificou-se uma sobrevivência média de 88, 80 e 60 %, respectivamente.

Nos demais tratamentos, ou seja, nas plantas com folhas a $4\pm 1^{\circ}\text{C}$ e sem folhas a $10\pm 1^{\circ}\text{C}$, houve um leve decréscimo na sobrevivência das mesmas. A taxa média de sobrevivência observada em ambos os tratamentos foi de 90% e 94%, respectivamente.

Entre as possíveis causas da baixa taxa de sobrevivência das plantas na aclimatização, encontram-se o estresse hídrico, provocado pela mudança de ambiente, e a baixa capacidade fotossintética das plantas (Wardle et al., 1983). Além disso, plantas apresentando algum tipo de

toxidez, deficiência nutricional ou estresse, podem apresentar problemas, comprometendo, assim, a sobrevivência das mesmas em casa-de-vegetação (Grattapaglia e Machado, 1990). Isso poderia explicar o fato de se ter verificado, em geral, uma diminuição na sobrevivência das plantas micropropagadas e tratadas sob diferentes condições de temperatura e enfolhamento. Presume-se, dessa forma, que o baixo índice de sobrevivência das plantas desfolhadas e tratadas a $4\pm 1^{\circ}\text{C}$, observado neste experimento, possa ter sido por causa do elevado estresse sofrido pelas plantas com o desfolhamento, associado à manutenção das mesmas à baixa temperatura.

Verificou-se de uma maneira geral que as plantas tratadas com temperatura de $4\pm 1^{\circ}\text{C}$ apresentaram um aumento em tamanho proporcional ao tempo de tratamento (0 a 1.440 horas). Assim, o ganho em tamanho foi de até 1.028% nas plantas tratadas por 1.440 horas à temperatura de $4\pm 1^{\circ}\text{C}$ (Figura 2). A curva de crescimento para as plantas com folhas mantidas à

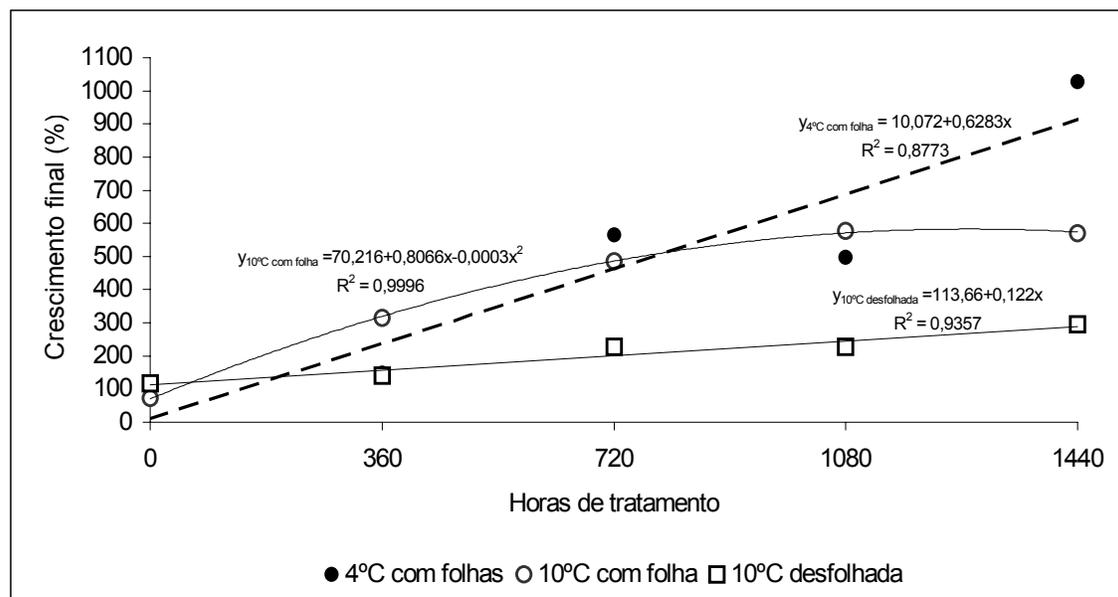


FIGURA 2 - Efeito do desfolhamento e temperatura no crescimento de plantas de macieira na aclimatização, após dez semanas em casa-de-vegetação.

temperatura de $10 \pm 1^\circ\text{C}$ mostrou um efeito quadrático em relação às horas de tratamento, ascendente até 1.340 horas (ponto de máxima calculado), quando a maior percentagem de crescimento chegou a 612%. Nas plantas testemunhas deste tratamento, a percentagem de crescimento observada após dez semanas de avaliação foi de aproximadamente 70%. Para as plantas desfolhadas, observou-se um comportamento linear para o crescimento das plantas com o aumento do tempo de permanência dessas à temperatura de $10 \pm 1^\circ\text{C}$. As plantas testemunhas apresentaram um ganho em tamanho de aproximadamente 113% entre o início e o final do experimento. Entretanto, o crescimento mais acentuado neste tratamento foi observado quando as plantas foram mantidas por 1.440 horas, apresentando um ganho em tamanho de 294% ao final do período estudado (dez semanas). Esses resultados confirmam os efeitos benéficos do frio sobre o crescimento das plantas.

Parece bastante evidente que o crescimento deficiente das mudas de macieira

provenientes do cultivo *in vitro*, durante a aclimatização, seja em razão de condições adversas que as mudas encontram no momento do transplante, podendo ser caracterizado como um tipo de dormência. Aldrufeu (1987) e Rogers (1991) citam que plantas provenientes do cultivo *in vitro* geralmente apresentam um atraso no crescimento, resultante das mudanças abruptas de ambiente quando essas são aclimatizadas. Além do mais, questiona-se o estado funcional das raízes no que diz respeito à nutrição das plantas logo após o transplante. Para Debergh e Maene (1981) e MacClelland (1990), as raízes formadas *in vitro* são pouco funcionais por não apresentarem pêlos radiculares e, com isso, propiciarem uma pobre conexão vascular com a parte aérea das plantas, resultando numa restrita transferência de água e nutrientes para a parte aérea. Segundo Istambouli e Neville (1977), mudas de oliveira são facilmente induzidas a parar o crescimento em casa-de-vegetação se houver uma carência em sais minerais. No momento em que essas plantas voltam a ser supridas com solução nutritiva,

retornam ao crescimento. Da mesma forma, Mohamed (1983) afirma que um simples transplante para novos substratos e tratamentos com soluções nutritivas são capazes de reativar o crescimento das plantas. Embora não se tenha testado nenhum outro tipo de tratamento, é possível que um suplemento mineral possa melhorar o crescimento dessas plantas em casa-de-vegetação.

A utilização de baixas temperaturas como forma de promover o crescimento de plantas tem sido descrito por vários autores. Tomlinson *et al.*, (1985) e Arnould e Young (1990) afirmam que o crescimento das plantas sob baixa temperatura é geralmente proporcional à duração do período de tratamento, sendo os tratamentos por um a dois meses normalmente os que proporcionam os melhores resultados. Pereira *et al.* (1998, 1999b) também observaram os efeitos positivos do uso de baixa temperatura sobre o crescimento de plantas de macieira na aclimatização. Esses autores observaram que a manutenção das plantas recém-aclimatizadas em temperaturas de 4°C por até 1.440 horas foi o tratamento mais eficiente para melhorar o crescimento das plantas de macieira. De acordo com Petri *et al.*, (1996), a exposição de mudas de macieira à temperaturas de 2 a 6°C durante períodos de 30 (720 h) a 45 dias (1.080 h), além de permitir uma brotação mais uniforme, proporciona um maior crescimento das mesmas. Esses mesmos autores afirmam que tratamentos acima de 30 dias são normalmente os mais recomendados, por proporcionarem um maior crescimento e, conseqüentemente, melhorarem o vigor das plantas. Trabalhos mais recentes, entretanto (Erez e Couvillon, 1987), têm mostrado que temperaturas acima de 7,2°C têm influência principalmente em espécies e cultivares de menor exigência em frio. Ribas e Zanette (1992), trabalhando com a cultivar Gala, observaram que o tratamento das plantas com temperatura de 8 a 10°C causou um crescimento idêntico àquelas plantas tratadas com temperatura de 2 a 4°C em casa-de-vegetação.

As curvas de regressão referentes ao comprimento dos entrenós em função da temperatura e dos diferentes períodos de

tratamento das plantas do porta-enxerto de macieira Marubakaido podem ser observadas na Figura 3. Assim como observado para a percentagem final de crescimento, as plantas mantidas à temperatura de 4±1°C apresentaram um comportamento linear no comprimento dos entrenós com o aumento do tempo de permanência das plantas nessa temperatura. Nas plantas testemunhas deste tratamento, o comprimento médio dos entrenós observado foi de aproximadamente 0,12 cm. Já para aquelas mantidas por um período de 1.440 horas, o comprimento médio dos entrenós foi de 0,56 cm. No tratamento em que as plantas foram mantidas com folhas e à temperatura de 10±1°C, a curva de regressão referente ao comprimento dos entrenós teve um comportamento quadrático. Houve maior alongamento dos entrenós nas plantas mantidas por até 1.400 horas (ponto de máxima eficiência calculada) quando esses atingiram 0,51 cm de comprimento.

Nas plantas mantidas sem folhas à temperatura de 10±1°C, também houve maior alongamento dos entrenós com o aumento do tempo de permanência das plantas nessa temperatura. Assim, nas plantas mantidas por 1.440 horas à 10±1°C, o comprimento médio dos entrenós foi de 0,49 cm. É importante ressaltar, entretanto, que as plantas testemunhas apresentaram entrenós mais alongados (0,35 cm) do que as plantas testemunhas dos demais tratamentos (0,12 cm) (Figura 3). Isso sugere que a simples remoção das folhas durante o processo de aclimatização pode proporcionar melhor alongamento dos entrenós das plantas recém-aclimatizadas e que as folhas formadas durante a aclimatização provavelmente apresentam algum efeito inibitório sobre o crescimento. Pelo fato de não se ter realizado testes bioquímicos para detectar possíveis substâncias inibidoras ou promotoras envolvidas, não se pode afirmar que as folhas sejam a principal causa do crescimento deficiente das plantas na aclimatização. Para Champagnat (1992), baixas temperaturas, além de provocarem a mobilização de reservas, são responsáveis pelo aumento nos níveis endógenos de giberelinas nas plantas; o aumento na

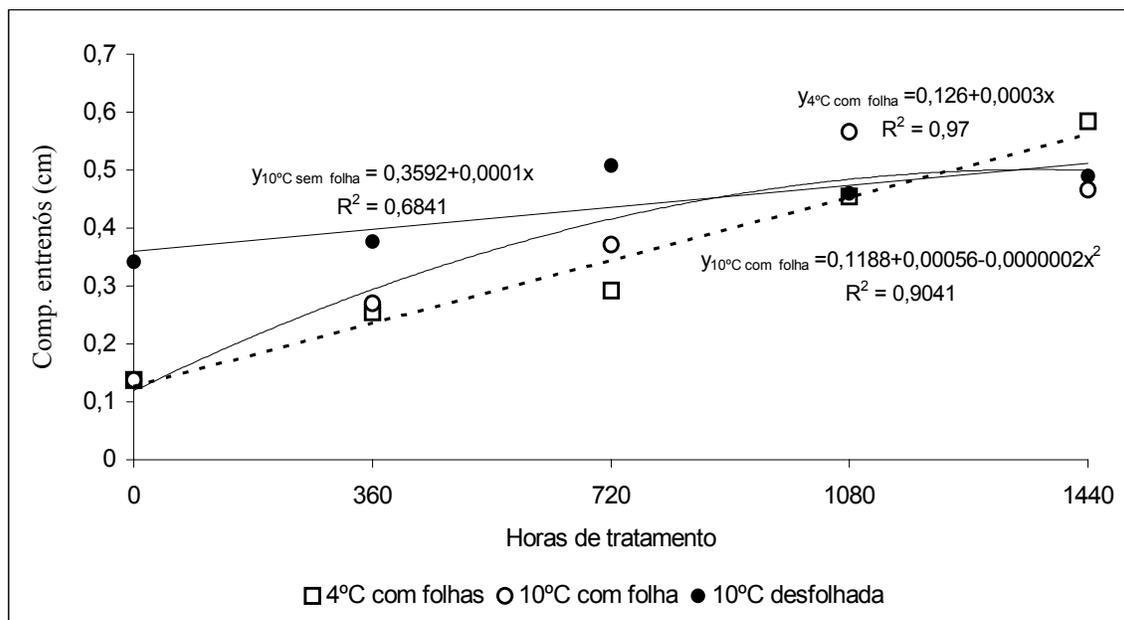


FIGURA 3 - Efeito do desfolhamento e temperatura no comprimento dos entrenós de plantas de macieira na aclimatização, após dez semanas do início do experimento.

concentração desse regulador poderia ser a causa do retorno ao crescimento das plantas, após um determinado período de dormência. Embora existam controvérsias quanto ao fato de o aumento nos níveis de giberelinas ser um efeito ou uma causa da quebra de dormência, é bastante evidente a ação desse regulador sobre o crescimento das plantas (Pereira et al., 1999a). Metivier (1985) mostra que os efeitos mais pronunciados das giberelinas aparecem no crescimento, especialmente no alongamento do caule. Segundo esse mesmo autor, plantas submetidas a baixas temperaturas apresentam aumento nos níveis endógenos de giberelinas, causando maior alongamento dos entrenós. Esses resultados poderiam explicar o fato de as plantas tratadas com baixa temperatura, especialmente aquelas mantidas por 1.440 horas a $4\pm 1^\circ\text{C}$, terem apresentado um maior alongamento nos entrenós, sugerindo que o frio atua sobre a síntese deste regulador na planta.

As curvas de regressão referentes a matéria seca das raízes e parte aérea das plantas podem ser observadas nas Figuras 4 e 5. À

temperatura de $10\pm 1^\circ\text{C}$, não foram observadas diferenças significativas na matéria seca das raízes em ambos os tratamentos (plantas desfolhadas ou não), embora tenha sido verificado que no tratamento em que as plantas foram inicialmente desfolhadas, a matéria seca das raízes tenha sido maior (Figura 4). Nessa temperatura, a matéria seca da parte aérea somente diferiu significativamente nas plantas mantidas com folhas, em que ajustou-se uma curva quadrática em relação a essa variável (Figura 5).

Apesar do baixo coeficiente de determinação ($R^2 = 0,4412$), o aumento no tempo de permanência das plantas a $4\pm 1^\circ\text{C}$ provocou um aumento linear na matéria seca das raízes das plantas tratadas nessa temperatura. (Figura 4). Esse comportamento também foi verificado para a parte aérea em plantas deste tratamento no qual verificou-se um aumento linear na matéria seca das plantas quando essas permaneceram por períodos maiores à temperatura de $4\pm 1^\circ\text{C}$ (Figura 5). Segundo Benincasa (1988), o crescimento de uma planta pode ser estudado por meio de medidas de diferentes tipos, como por exemplo a biomassa

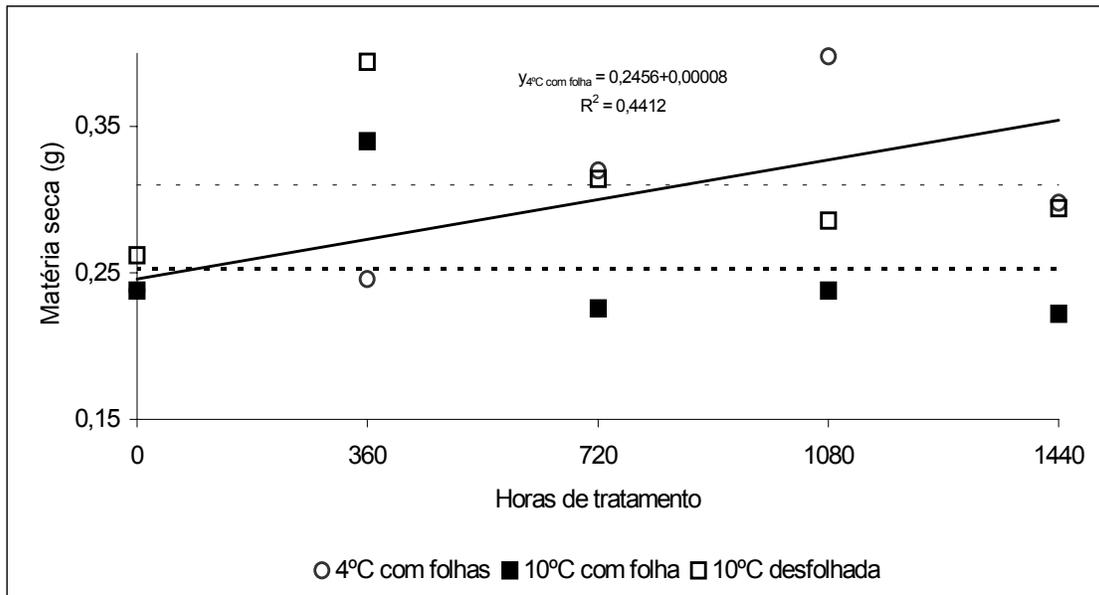


FIGURA 4 - Efeito do desfolhamento e temperatura na matéria seca das raízes de plantas de macieira na aclimatização, após dez semanas do início do experimento.

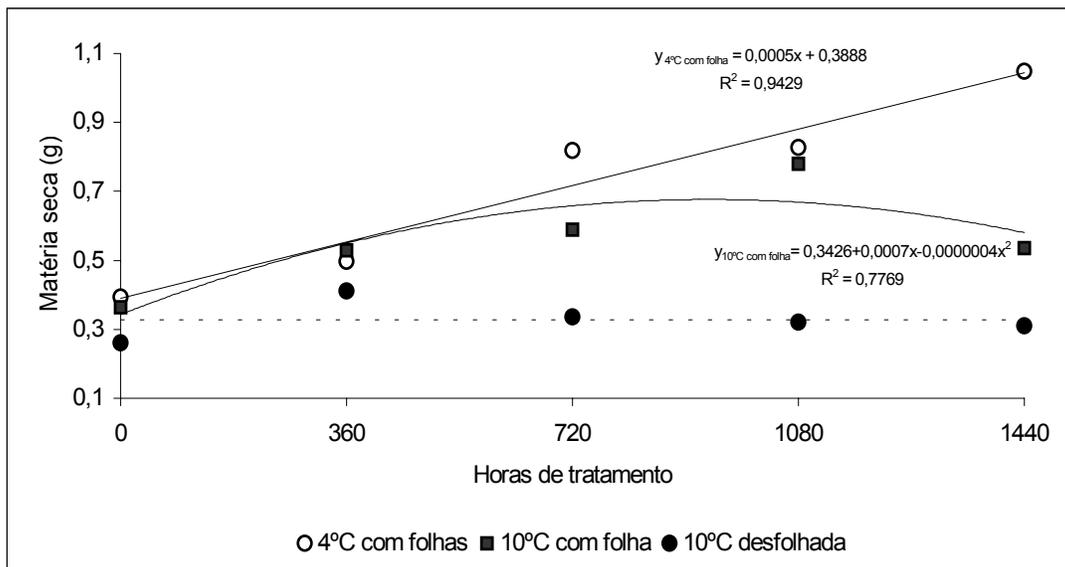


FIGURA 5 - Efeito do desfolhamento e temperatura na matéria seca da parte aérea de plantas de macieira na aclimatização, após dez semanas do início do experimento.

da planta. Com base nesses dados, pode-se estimar de forma mais precisa as causas do crescimento. O fato de se ter observado diferenças significativas entre os tratamentos em relação a matéria seca da parte aérea, significa que houve maior acúmulo de fotossintetizados e maior absorção de minerais pelas plantas.

Os resultados deste trabalho, referentes a matéria seca das plantas, estão de acordo com os obtidos por Cottignies (1987) e Arnould e Young (1990), segundo os quais, o tratamento de plantas com temperatura de 5°C, seguido da transferência dessas para condições de temperatura mais elevada (20°C) pode proporcionar melhor crescimento, tanto do sistema radicular como da parte aérea das plantas, já que um dos efeitos do frio é a mobilização de reservas, que pode estar relacionada ao crescimento das plantas.

Conclui-se que o tratamento com baixa temperatura (4±1°C) promove maior crescimento de plantas de macieira recém-aclimatizadas. Contudo, temperaturas amenas (10±1°C) também exercem um efeito benéfico sobre o crescimento; além disso, as folhas de plantas micropropagadas apresentam um efeito inibitório (inibição correlativa) sobre o alongamento dos entrenós e, conseqüentemente no crescimento das plantas e sua simples remoção, após uma ou duas semanas de aclimatização, poder melhorar o crescimento das plantas em casa-de-vegetação.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à CAPES pelo apoio financeiro, e a EMBRAPA Clima Temperado, pelo desenvolvimento do trabalho de pesquisa em sua unidade.

REFERÊNCIAS

- ALDRUFEU, A. Rooting and acclimatization of *Pelargonium zonale* plantlets. *Acta Horticulturae*, 221:361-366, 1987.
- ARNOULD, M.A. and YOUNG, E. Growth and protein content of apple in response to root and shoot temperature following chilling. *HortScience* 25(12):1583-1588, 1990.
- BENINCASA, M.M.P. **Análise de crescimento de plantas: noções básicas**. Jaboticabal: FUNEP, 1988. 42p.
- CHAMPAGNAT, P. Dormance des bourgeons chez les végétaux ligneux. In: CÔME, D. (Ed.). **Les végétaux et le froid**. Paris: Hermann, éditeurs des sciences et des arts, 203-260, 1992.
- COTTIGNIES, A. Dormance. *Annales des Sciences Naturelles, Botanique*, 8(3-4):93-142, 1987.
- CRABBÉ, J. and BARNOLA, B. A new conceptual approach to bud dormancy in woody plants. In: LANG, G.A. (Ed.) **Plant dormancy: physiology, biochemistry and molecular biology**. London: CAB International, 83-113, 1996.
- DEBERGH, P.C. and MAENE, L. A scheme for commercial propagation of ornamental plants by tissue culture. *Scientia Horticulturae*, 14:335-345, 1981.
- DENARDI, F. e LEITE, G.B. Enxertia de mergulhia contínua: Nova técnica de multiplicação rápida de porta-enxertos de macieira. *Agropecuária Catarinense*, 9(4):16-18, 1996.
- EREZ, A. and COUVILLON, G.A. Characterization of the influence of moderate temperatures on rest completion in peach. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 112(4):677-680, 1987.
- FORTES, G.R.L. e ZANOL, G. Uso do ácido indolbutírico no enraizamento *in vitro* do porta-enxerto de macieira Marubakaido (*Malus prunifolia*) In: **Reunião técnica de fruticultura**, 4, Porto Alegre, 89-91, 1995.
- GRATTAPAGLIA, D. e MACHADO, M.A. Micropropagação. In: TORRES, A.C.; CALDAS, L.S. **Técnicas e Aplicações da**

- Cultura de Tecidos de Plantas.** Brasília: ABCTP/EMBRAPA CNPH, 99-169, 1990.
- ISTAMBOULI, A. and NEVILLE, P. Nature des périodes de repos des bourgeons de jeunes plants issus de semis ou de boutures, chez *Olea europaea* L. **Ecology Mediterranea**, 3:151-158, 1977.
- JONES, O.P. Propagation in vitro of apple trees and other woody fruit plants, methods and applications. **Scientia Horticulturae**, 30(2):44-48, 1979.
- LANG, A.G. Dormancy, a new universal terminology. **HortScience**, 22(5):817-820, 1987.
- MacCLELLAND, M.T. The effects of *in vitro* and *ex vitro* root initiation on subsequent microcutting root quality in three woody plants. **Plant Cell Tissue and Organ Culture**, 23:115-123, 1990.
- MALAVASI, F.F.F. and PREDIERI, S. Cultivar dependent responses to regeneration from leaves in apple. **Acta Horticulturae**, 280:61-68, 1990.
- METIVIER, J.R. Dormência e Germinação. In: FERRI, M.G. (Ed.) **Fisiologia Vegetal 2**. São Paulo: EPU, v.2, 1985. p.343-392.
- MOHAMED, C.S. Germination: rythmes de croissance et morphogénèse des jeunes plants chez *Castanea sativa* Miller. Clermont-Ferrant, Université de Clermont II, 1983. 171p. (Thèse de doctorat).
- PETRI, J.L.; PALLADINI, L.A.; SCHUCK, E.; DUCROQUET, J.P.H.J.; MATOS, C.S. e POLA, A.C. **Dormência e indução da brotação de fruteiras de clima temperado**. Florianópolis: EPAGRI, 1996. 110p. (EPAGRI. Boletim Técnico, 75)
- PEREIRA, J.E.S. e FORTES, G.R.L. Efeito do uso de segmentos basais e apicais na multiplicação *in vitro* da macieira. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, 11:90 (suplemento), 1999.
- PEREIRA, J.E.S.; FORTES, G.R.L. and DA SILVA, J.B. Effect of gibberellic acid on one-year apple rootstock plant growth in the greenhouse. **HortScience**, 34 (3):493, 1999a.
- PEREIRA, J.E.S.; FORTES, G.R.L. e DA SILVA, J.B. Efeito das baixas temperaturas sobre o crescimento do porta-enxerto de macieira Marubakaido (*Malus Prunifolia* Borkh.) durante a aclimatização. In: **Congresso Brasileiro de Fruticultura**, 15, Poços de Caldas-MG, 461p., 1998.
- PEREIRA, J.E.S.; FORTES, G.R.L. e DA SILVA, J.B. Baixa temperatura em brotações de macieira sob condições *in vitro* para superar a parada de crescimento durante a aclimatização. **Scientia Agricola**. 1999b (no prelo).
- RIBAS, L.L.F. e ZANETTE, F. Parada de crescimento de mudas de macieira da cv. Gala, clone FZ, durante a aclimatização em casa de vegetação. **Revista Brasileira de Fruticultura**, 14(2):145-152, 1992.
- ROGERS, R.B.; KNIGHT, S.L. and SMITH, M.A.L. Effects of growing media and aerial environments in the acclimatization of *in vitro* miniature rose plantlets. **Journal Environment Horticulturae**, 9(4):181-184, 1991.
- SCHUCH, M.W. e PETERS, J.A. Multiplicação *in vitro* de brotações de macieira cultivares Marubakaido (*Malus prunifolia*, Willd, Borkh) e Meguni (*Malus domestica*, Borkh). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 28(4):433-437, 1993.
- SRISKANDARAJAH, S. and MULLINS, M.G. Micropropagation of Granny Smith apple: factors affecting root formation in vitro. **Journal of Horticultural Science**, 56(1):71-76, 1981.
- TOMLINSON, P.B.; OLDEMAN, R.A.A. and HALLÉ, F. La dormance des bourgeons. In: Colloque International sur l'arbre. Colloque: Montpellier. **Naturalia Monspelienisia**, 5-23, 1985.

- VAN HUYLENBROECK, J.M. and DEBERGH, P.C. Physiological aspects in acclimatization of micropropagated plantlets. **Plant Tissue Culture and Biotechnology**, 2(3):136-141, 1996.
- WARDLE, K.; DOBBS, E.B. and SHORT, K.C. In vitro acclimatization of aseptically cultured plantlets to humidity. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, 108(3):386-389, 1983.
- ZIMMERMAN, R.H. and FORDHAM, I. Simplified method for rooting apple cultivars *in vitro*. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, 110(1):34-38, 1985.
- ZONTA, E.P. e MACHADO, A.A. **SANEST** - Sistema de Análise Estatística para microcomputadores. Registrado na SEI - Secretaria Especial de Informática, sob nº 066.060, Categoria A, Pelotas-RS, 1984.