

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE AGRONOMIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FITOTECNIA

VIABILIDADE E FRIGOCONSERVAÇÃO DE BORBULHAS DE CITROS

Hardi Schmatz Maciel
Engenheiro Agrônomo (UFRGS)

Dissertação apresentada como um dos
requisitos à obtenção do Grau de
Mestre em Fitotecnia
Área de Concentração Horticultura

Porto Alegre (RS), Brasil
Março de 2006

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais e irmãos, grandes incentivadores.

A minha noiva, Silvana Franco Vomero, minha grande incentivadora, e sua família, por todo o apoio.

Ao professor Paulo Vitor Dutra de Souza, pela sua orientação, compreensão, ensinamento e amizade.

Aos professores do Departamento de Horticultura e Silvicultura da Faculdade de Agronomia da UFRGS, em especial aos professores Sérgio Francisco Schwarz, Otto Carlos Koller e Renar João Bender, pela amizade e valiosas contribuições profissionais.

Aos amigos e colegas do curso de pós-graduação, em especial, Gilmar Schäfer, Mário Luís Fochesato, Denis Salvati Guerra e Felipe André Sganzerla Graichen.

Aos funcionários Idenir José de Conto, Ernani Pezzi, Cleusa Padilha Comelli, Detamar Antônio da Rocha e Valter Fraga Nunes.

Ao bolsista que contribuiu para a execução deste trabalho Cesar Góis Prestes.

Aos funcionários da Estação Experimental Agronômica da UFRGS.

À CAPES e ao CNPQ pela concessão da bolsa e auxílio financeiro.

Aos demais colegas, amigos, professores e funcionários que
contribuíram na execução deste trabalho.

VIABILIDADE E FRIGOCONSERVAÇÃO DE BORBULHAS DE CITROS¹

Autor: Hardi Schmatz Maciel
Orientador: Paulo Vitor Dutra de Souza

RESUMO

Este trabalho teve como objetivo estudar a manutenção da viabilidade das borbulhas de laranjeira 'Valência' e tangerineira 'Montenegrina', oriundas de ambiente protegido e pomar, sob diferentes processos de desinfestação e períodos de armazenamento em câmara fria, assim como avaliar o comportamento das substâncias de reserva contidas nos ramos porta-borbulhas nos diferentes períodos de armazenamento. Com estes objetivos foram conduzidos dois experimentos em câmara fria com temperatura em torno de 5°C. No experimento 1, testou-se borbulhas de duas cultivares de citros oriundas de ambiente protegido, três tratamentos químicos (testemunha, 1x tratado com Captan e 2x tratado com Captan na dose de 10g/L) e três períodos de armazenamento (0, 90, e 180 dias), com quatro repetições. No experimento 2, testou-se borbulhas de duas cultivares de citros oriundas do pomar de citros, três tratamentos químicos (testemunha, 1x tratado com Captan e 2x tratado com Captan na dose de 10g/L) e cinco períodos de armazenamento (0, 45, 90, 135 e 180 dias), com quatro repetições. As borbulhas da cultivar Montenegrina, mantiveram-se viáveis por 90 dias sem tratamento com fungicida e por, no mínimo, 180 dias se submetidas a 1 tratamento com fungicida no momento de seu armazenamento. As borbulhas da cultivar Valência, coletadas de ambiente protegido, mantiveram-se viáveis por, no mínimo, 180 dias sem a necessidade de tratamento com fungicida. As substâncias de reserva dos ramos porta-borbulhas sofreram redução ao longo do armazenamento.

¹Dissertação de Mestrado em Fitotecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil. (65 p.) Março, 2006.

VIABILITY AND COLD STORAGE OF CITRUS BUDS²

Author: Hardi Schmatz Maciel
Adviser: Paulo Vitor Dutra de Souza

ABSTRACT

This work aimed to study the maintenance of the viability of 'Valência' orange and 'Montenegrina' mandarin tree buds. They arose from a protected environment and orchard, under different disinfestation processes and different storage periods in cold chamber. The experiment also evaluated the behavior of the reserve substances present in rootstocks in different storage periods. Two experiments were carried out in cold chamber at a temperature about 5°C. In experiment 1, two citrus cultivars from protected environment, three chemical treatments (check, 1x treated with Captan, and 2x treated with a 10g/L dose of Captan), and three storage periods (0, 90, and 180 days) were evaluated, with four replications. In experiment 2, two citrus cultivars from a citrus orchard, three chemical treatments (check, 1x treated with Captan and 2x treated with a 10g/L dose of Captan) and five storage periods (0, 45, 90, 135, and 180 days) were evaluated, with four replications. Montenegrina cultivar maintained bud viable for 90 days without fungicide treatment, and for at least 180 days if submitted to 1 fungicide treatment when stored. Valência cultivar from a protected environment maintained bud viable for at least 180 days and there was no need of fungicide treatment. The reserve substances of the rootstocks reduced throughout the storage period.

²Master of Science dissertation in Agronomy, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil. (65 p.) March, 2006.

SUMÁRIO

Página

CAPÍTULO I – INTRODUÇÃO GERAL	1
CAPITULO II – VIABILIDADE DE BORBULHAS DE CITROS EM FUNÇÃO DO NÚMERO DE GEMAS NOS RAMOS PORTA-BORBULHAS	9
2.1 INTRODUÇÃO.....	9
2.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	11
2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	13
2.4 CONCLUSÕES.....	15
CAPÍTULO III – VIABILIDADE DE BORBULHAS DE CITROS COLETADAS DE AMBIENTE PROTEGIDO E MANTIDAS EM FRIGOCONSERVAÇÃO.....	17
3.1 INTRODUÇÃO.....	17
3.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	20
3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	23
3.3.1 Viabilidade das borbulhas	23
3.3.2 Tamanho das brotações	31
3.3.3 Teores de substâncias de reservas presentes nos ramos porta-borbulhas	33
3.4 CONCLUSÕES.....	38
CAPÍTULO IV – VIABILIDADE DE BORBULHAS DE CITROS COLETADAS DO POMAR E MANTIDAS EM FRIGOCONSERVAÇÃO.....	39
4.1 INTRODUÇÃO.....	39
4.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	41
4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	43
4.3.1 Viabilidade das borbulhas	43
4.3.2 Tamanho das brotações	52
3.3.3 Teores de substâncias de reservas presentes nos ramos porta-borbulhas	53
4.4 CONCLUSÕES.....	58
CAPÍTULO V – CONCLUSÕES GERAIS	59
CAPÍTULO VI – CONSIDERAÇÕES FINAIS	61
CAPÍTULO VII – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	63

RELAÇÃO DE TABELAS

	Página
2.1. Percentagem de ramos brotados, em função do número de gemas no ramo, na tangerineira 'Montenegrina' e laranjeira 'Valência' cultivadas <i>in vitro</i> . UFRGS, 2004.....	14
2.2. Percentagem de gemas brotadas por ramo nas cultivares Montenegrina e Valência em função do número de gemas no ramo.	15
3.1. Percentual de brotação das borbulhas em ramos porta-borbulhas de tangerineira 'Montenegrina' e laranjeira 'Valência', produzidos em ambiente protegido, armazenadas em câmara fria por 180 dias.....	24
3.2. Tamanho médio das brotações (cm) em ramos porta-borbulhas de tangerineira 'Montenegrina' e laranjeira 'Valência' armazenadas em câmara fria por 180 dias.	33
4.1. Percentual de brotação das borbulhas em ramos porta-borbulhas de tangerineira 'Montenegrina' e laranjeira 'Valência' coletadas do pomar e armazenadas em câmara fria por 180 dias.	44
4.2. Tamanho médio das brotações (cm) em ramos porta-borbulhas de tangerineira 'Montenegrina' e laranjeira 'Valência' armazenadas em câmara fria por 180 dias.	52

RELAÇÃO DE FIGURAS

	Página
3.1. Ramos porta-borbulhas da cultivar Valência, armazenados durante 180 dias, 13 dias após o estabelecimento <i>in vitro</i> . Acima: Testemunha; no meio: 1x tratado com fungicida; abaixo: 2x tratado com fungicida.....	28
3.2. Ramos porta-borbulhas, acondicionados <i>in vitro</i> , após 90 dias de armazenamento. Da esquerda para direita: 'Valência' Testemunha, 'Valencia' 1x tratada com fungicida, 'Valência' 2x tratada com fungicida; 'Montenegrina' Testemunha, 'Montenegrina' 1x tratada com fungicida e 'Montenegrina' 2x tratada com fungicida.	30
3.3. Teor médio das substâncias de reserva (%) em ramos porta- borbulhas da tangerineira 'Montenegrina', ao longo do período de armazenamento em câmara fria.....	34
3.4. Teor médio das substâncias de reserva (%) dos tratamentos testemunha, 1x tratado com Captan e 2x tratado com Captan, de ramos porta-borbulhas da tangerineira 'Montenegrina', ao longo do período de armazenamento em câmara fria.	35
3.5. Teor médio de substâncias de reserva (%) na base, meio e ápice de ramos porta-borbulhas da tangerineira 'Montenegrina', ao longo do período de armazenamento em câmara fria.	37
4.1. Ramos porta-borbulhas da cultivar Montenegrina (esquerda) e da cultivar Valência (direita) com 100% de brotação.....	44
4.2. Ramos porta-borbulhas da cultivar Valência, sem sinais visíveis de microrganismos, após noventa dias de armazenamento. Da esquerda para a direita: Testemunha, 1x tratado, 2x tratado.	45
4.3. Ramos porta-borbulhas da cultivar Valência, armazenados durante 135 dias. Detalhe da brotação 13 dias após o estabelecimento <i>in vitro</i> . Acima: 1x tratado, com 31,25% das borbulhas brotadas; abaixo: 2x tratado, com 62,5% das borbulhas brotadas.	47
4.4. Ramos porta-borbulhas da cultivar Montenegrina, com ótima aparência, após noventa dias de armazenamento. Da esquerda para a direita: Testemunha, 1 x tratado com fungicida, 2 x tratado com fungicida.....	51
4.5. Teor médio das substâncias de reserva (%) em ramos porta-borbulhas da tangerineira 'Montenegrina' e laranjeira 'Valência'.	53

4.6. Teor médio das substâncias de reserva (%) na base, meio e ápice de ramos porta-borbulhas da tangerineira 'Montenegrina', ao longo do período de armazenamento em câmara fria.....	56
4.7. Teor médio das substâncias de reserva (%) na base, meio e ápice de ramos porta-borbulhas da laranjeira 'Valência', ao longo do período de armazenamento em câmara fria.....	57

CAPÍTULO I

INTRODUÇÃO GERAL

Acredita-se que todas as espécies do gênero *Citrus* sejam originárias das regiões tropicais e subtropicais da Ásia e do Arquipélago Malaio. A Cidreira (*Citrus medica* L.) foi a primeira espécie a ser conhecida na região mediterrânea da Europa, aproximadamente 310 anos antes de Cristo. Vários séculos mais tarde se tornaram conhecidas a laranjeira azeda [*Citrus limon* (L.) Burm] e a laranjeira doce (*Citrus sinensis* L. Osbeck), por volta do ano 1400. Na América Central, os citros foram introduzidos por Cristóvão Colombo, em 1493. Na África do Sul a introdução se deu em 1654 e, na Austrália, em 1788 (Koller, 1994).

No Brasil, as plantas cítricas foram introduzidas com os primeiros colonizadores, inicialmente na Bahia. Os citros se adaptaram tão bem que, em 1540, o plantio de laranjeiras já havia se expandido pelo litoral brasileiro e também pelo interior do país (Rossetti, 2001).

No Rio Grande do Sul, foi pela mão dos imigrantes portugueses que se iniciaram os primeiros cultivos com finalidade comercial, localizados no Vale do

Rio Taquari, ainda no século XIX. Posteriormente, os agricultores de origem germânica, que se fixaram no Vale do Rio Caí, ampliaram a área cultivada, chegando, inclusive, a exportar frutos para a Europa, já na primeira metade do século XX (Senna & João, 2004).

Os citros pertencem à subfamília Aurantioideae e, no Brasil, conveniou-se designar de “citros” todas as plantas cítricas, incluindo os gêneros *Citrus*, *Fortunella* e *Poncirus*. A classificação hortícola dos citros está dividida em seis grupos: laranjeiras, tangerineiras, bergamoteiras ou mandarineiras, pomeleiros, cidreiras, limoeiros e limeiras (Koller, 1994).

Em 2004, a produção mundial de citros atingiu 108.535.488 toneladas, sendo 62.814.424 toneladas de laranjas, 22.942.253 toneladas de tangerinas e 12.338.795 toneladas de limões e limas (FAO, 2005).

O Brasil é o maior produtor mundial de frutas cítricas, seguido dos E.U.A, China, México, Espanha e Índia (FAO, 2005). A fruta mais produzida no Brasil é a laranja, alcançando as 16.917.558 toneladas (IBGE, 2005), relacionados à safra de 2003. Somando-se, ainda, a tangerina (1.304.743 toneladas) e o limão (981.339 toneladas), os citros atingem produção de 19.203.640 toneladas.

O Rio Grande do Sul é o quinto maior produtor de laranjas do País, ficando atrás dos Estados de São Paulo, Bahia, Minas Gerais e Sergipe (IBGE, 2005). Este Estado produziu, em 2003, 197.508,25 toneladas em uma área de 15.582,97 hectares (EMATER, 2003/2004).

No Rio Grande do Sul, a cultura da laranjeira está presente em quase todas propriedades, embora nem sempre para fins comerciais e, sim, para o consumo familiar, já que é uma das frutas de maior consumo por habitante/ano no

estado. As áreas comerciais também são encontradas em todas as regiões, mas destacam-se o Vale do Caí e o Alto Uruguai como os maiores produtores dessa fruta. O Vale do Caí conta com cerca de 4.000 hectares de pomares comerciais. São Sebastião do Caí, Montenegro, Harmonia, e Tupandi apresentam as maiores áreas de produção (EMATER, 2003/2004).

Ainda, segundo a EMATER 2003/2004, nos últimos anos, o crescimento da área cultivada com laranjeiras na região do Alto Uruguai foi superior ao das outras regiões do RS, a qual está se tornando a principal fornecedora de laranjas para suco, especialmente da cultivar Valência, para o abastecimento estadual.

Segundo o grupo em pesquisa e extensão em citros (GRUPEX, 2005), a cultivar de laranjeira mais plantada no RS é a Valência, com 60% da área total, seguido da umbigo (15%), céu (10%), comum (10%) e outras (5%).

O Rio Grande do Sul é o terceiro maior produtor de tangerinas, ficando atrás apenas dos Estados de São Paulo e Paraná (IBGE, 2005). Este Estado produziu, em 2003, 149.206,81 toneladas da fruta em uma área de 11.144,50 hectares (EMATER, 2003/2004).

O Vale do Rio Caí se destaca em âmbito estadual, no plantio de tangerineiras, contando com cerca de 8.000 hectares cultivados. Os principais municípios produtores são Montenegro, Pareci Novo, São Sebastião do Caí, Harmonia e São José do Sul (EMATER, 2003/2004). Segundo o GRUPEX, (2005) a cultivar de tangerineira mais plantada no RS é a Montenegrina, com 30% da área total, seguida pela Caí/Comum (25%), Ponkan (15%), Murcott (15%), Pareci (6%) e Satsuma (5%).

Os limões atingiram uma produção, em 2003, de 11.529,39 toneladas em 715 hectares (EMATER, 2003/2004). Esses números deixam o Estado do RS na quarta posição de produção de limões, atrás de São Paulo, Bahia e Rio de Janeiro (IBGE, 2005).

Atualmente, a atividade citrícola é importante fonte de renda para cerca de 18.000 famílias de agricultores de diversas regiões do RS, sendo os cultivos voltados, prioritariamente, para o mercado de frutas *in natura*, embora parte atenda as indústrias de suco (Senna & João, 2004).

Apesar de a produção do RS ser significativa, ainda existe um imenso potencial para ser explorado, pois o Estado é importador, especialmente de laranjas, em um volume superior a 100.000 toneladas/ano, para atender tanto o mercado de mesa como as indústrias processadoras de suco. Algumas regiões do Estado agregam características climáticas e edáficas que favorecem a produção de citros com alta qualidade. Qualidade esta para conquistar os mercados mais exigentes. O aumento da área cultivada e a crescente exportação de tangerinas para outros estados nos últimos anos, confirmam a vocação do Rio Grande do Sul para a produção de frutos para mesa (Wrege et al., 2004).

São essas características, entre outras, que fazem com que atualmente exista uma demanda crescente por mudas cítricas de cultivares de mesa.

A muda cítrica produzida no Rio Grande do Sul tem evidenciado problemas de qualidade genética e, especialmente, fitossanitária. As modificações econômicas e o surgimento de novas pragas e moléstias ocorridas nos últimos anos, cada vez mais preocupantes e de difícil controle, demonstram a necessidade urgente da mudança do sistema atual de produção de mudas cítricas

para um sistema mais moderno, com a construção de viveiros protegidos. Esta preocupação já era salientada por Porto et al., 1995.

O surgimento da doença clorose variegada dos citros (CVC) na região Centro-Oeste do Estado de SP, na década de oitenta, e a sua rápida disseminação para praticamente todos os pólos citrícolas do País tornou necessária uma mudança no sistema tradicional de produção de mudas. A CVC é causada pela bactéria *Xylella fastidiosa*, que é disseminada, localmente, por várias espécies de cigarrinhas e, a longas distâncias, por mudas contaminadas. Em decorrência da CVC e da proliferação de focos de cancro cítrico, técnicos da defesa sanitária vegetal dos Estados de São Paulo, Minas Gerais e Rio Grande do Sul foram os primeiros a estabelecer novas normas e padrões para a produção de mudas de citros (Oliveira et al., 2001).

Segundo o GRUPEX (2005), a partir de 2007, de acordo com as Normas do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, a produção de mudas cítricas no País deverá ser feita obrigatoriamente em ambiente protegido.

A Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) mantém, desde 2001, uma borbulheira de citros, a qual faz parte de um projeto denominado “Programa de apoio à implementação de um sistema de produção de mudas sadias de citros para o Rio Grande do Sul” e tem como principal objetivo a implantação de bancos de matrizes de cultivares copa e porta-enxerto de citros, viabilizando, assim, o fornecimento de material genético de qualidade aos viveiristas e com estado de limpeza fitossanitária garantido.

As borbulhas para a formação das mudas cítricas são fornecidas em ramos chamados “porta-borbulhas”. Tratam-se de ramos desfolhados com aproximadamente 30 a 40 cm, contendo borbulhas maduras (Oliveira et al., 2001).

Os ramos porta-borbulhas devem ser retirados de plantas-matrizes livres de vírus e outras moléstias muito prejudiciais e transmissíveis pelas borbulhas. Por isso as matrizes devem ser originárias de plantas básicas produzidas e mantidas por estações experimentais ou outras instituições credenciadas por órgãos oficiais fiscalizadores ou certificadores de mudas (Koller, 1994). A utilização dessas borbulhas, demanda por vezes, o transporte desse material facilmente perecível, a longas distâncias (Koller, 1973).

A possibilidade de conservar borbulhas de citros, visando escalonar a enxertia ou transportar a longas distâncias, permite ao viveirista um melhor planejamento no seu viveiro. Como a produção de mudas deverá ser feita em ambiente protegido, a partir de 2007, isso implicará em um maior período de enxertia, não se limitando ao final do verão e início do outono, como tem sido feito nos Estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina, devido às condições climáticas.

Dependendo do número de enxertadores disponíveis, a enxertia pode se prolongar por vários dias, além disso, a ocorrência de chuvas prolongadas, o excesso de umidade e dias ventosos ou outros fatores imprevistos, também podem concorrer para que o período de enxertia se prolongue (Koller, 1973).

Outro fator a ser considerado, refere-se a reenxertia. Dificilmente se consegue obter 100% de pegamento dos enxertos, mesmo que as condições sejam excepcionais (Koller, 1973). Segundo Oliveira et al. (2001), referindo-se a condução do enxerto e a formação da muda, a remoção do fitilho não degradável deve ser realizada 15 a 20 dias após a enxertia, quando se verifica o pegamento. Caso este não ocorra, pode-se enxertar novamente no lado oposto do caule, cinco dias após o corte do fitilho. Nesse caso, em se tratando de borbulhas

provenientes de regiões distantes, podem ser evitados inconvenientes, se por ocasião da enxertia, alguns ramos forem armazenados em condições satisfatórias até a reenxertia (Koller, 1973).

A técnica de microenxertia tem sido empregada em centros de pesquisa, visando a limpeza de vírus em citricultura. A mesma exige demanda constante por borbulhas brotadas, visando a utilização dos meristemas. A possibilidade de armazenar ramos porta-borbulhas facilitaria a execução desta técnica.

Em temperaturas baixas, a taxa de respiração dos ramos armazenados e conseqüente consumo de substâncias de reserva de seus tecidos, é menos intensa, resultando em economia de substâncias de reserva e possibilitando, conseqüentemente, um período de armazenamento maior do que nas temperaturas mais elevadas (Koller, 1973).

Durante o armazenamento das borbulhas, em condições ambientais, ocorre o desenvolvimento de fungos, que inviabilizam as borbulhas (Galli & Guirado, 1993). O mesmo ocorre em borbulhas armazenadas por longos períodos, mesmo quando conservadas sob refrigeração (Bissoli, 1987 e Romeiro et al., 2001). Segundo Eckert & Sommer (1967), a conservação de tecidos vegetais em baixas temperaturas diminui a atividade da maioria dos microrganismos, porém não os controla, tornando necessário o uso de fungicidas, cuja ação protetora depende, dentre outros aspectos, da susceptibilidade do hospedeiro, temperatura e umidade.

A ação conjunta de baixas temperaturas e a aplicação de fungicidas aumenta o tempo durante o qual o tratamento químico previne a infecção (Luvisi & Sommer, 1960).

O presente estudo tem por objetivo estudar a manutenção da viabilidade das borbulhas contidas em ramos de laranjeira 'Valência' (*Citrus sinensis* Osbeck) e tangerineira 'Montenegrina' (*Citrus deliciosa* Tenore), oriundas de ambiente protegido e de pomar, sob diferentes processos de desinfestação e armazenamento em câmara fria.

CAPITULO II

VIABILIDADE DE BORBULHAS DE CITROS EM FUNÇÃO DO NÚMERO DE GEMAS NOS RAMOS PORTA-BORBULHAS.

2.1 INTRODUÇÃO

O sucesso na produção de mudas de citros é dependente, dentre outros fatores, da viabilidade das borbulhas da cultivar copa. Esta é inversamente proporcional ao período de conservação da borbulha. Segundo Lima et al. (2002), o armazenamento refrigerado permite a conservação dos ramos porta-borbulhas por vários meses, embora ocorra perda gradual de viabilidade das borbulhas.

Teixeira et al. (1971) observaram que as borbulhas de laranjeira 'Natal' (*Citrus sinensis*, Osb.) apresentaram as seguintes percentagens de sucesso na enxertia: 98,5%, na data de colheita dos ramos; 97,0%, 4 dias depois; 95,0%, aos 8 dias; 92,0%, aos 12 dias; 81,0% aos 16 dias e, 40%, 20 dias depois da colheita dos ramos. Os ramos foram acondicionados em sacos de polietileno em temperatura ambiente, que girou em torno de 19,9°C.

Em seus estudos com laranjeira 'Valência' (*Citrus sinensis*, Osbeck), Koller (1973) constatou que aos 21 dias de armazenamento em temperatura ambiente, a viabilidade das borbulhas caiu a quase 0% de "pegamento". Em refrigerador, no mesmo período, ela se manteve superior a 90%, para cair a 35% após 35 dias de armazenamento.

Galli & Guirado (1993) mostraram que as borbulhas de laranjeiras 'Pêra' e 'Valência', conservadas durante 60 dias, a 5°C ou sob condições ambientais, tiveram diminuição significativa e diferenciada no percentual médio de pegamento, sendo de 67,5% naquelas borbulhas conservadas a 5°C e 27,5% nas conservadas sob condições de ambiente.

A possibilidade de conservar borbulhas de citros, visando escalonar a enxertia ou transportá-las a longas distâncias, permite ao viveirista um melhor planejamento no seu viveiro. Porém, os testes usados para comprovar a viabilidade das borbulhas, consistem na enxertia das mesmas em porta-enxertos, como fizeram Teixeira et al. (1971) em Minas Gerais; Koller (1973) em São Paulo e Galli e Guirado (1993) também no Estado de São Paulo, sendo que vários fatores podem influenciar na formação da união entre o enxerto e o porta-enxerto, entre os quais as condições ambientais (temperatura, umidade, oxigênio, luminosidade e vento), a época do ano e a habilidade do enxertador (Fachinello, 1995).

Particularmente, no Rio Grande do Sul e Santa Catarina os dias são muito longos e excessivamente quentes no verão, podendo ocasionar elevado número de falhas na enxertia. Por isso a preferência para a enxertia restringe-se aos meses de março, abril e maio, especialmente se o porta-enxerto é o *Poncirus trifoliata* ou híbridos dele (Koller, 1994).

Por outro lado, as temperaturas baixas do inverno no Rio Grande do Sul geralmente paralisam o crescimento das plantas no viveiro, principalmente o *Trifoliata*, não propiciando um desenvolvimento nessa época (Schäfer, 2004).

Uma alternativa possível para comprovar a viabilidade das borbulhas seria forçar a brotação das gemas em ambiente *in vitro*, diretamente nos ramos porta-borbulha, o que eliminaria os problemas ligados ao ambiente. Segundo Torres et al. (1998), em citros, para estimular a brotação das gemas laterais novas, a planta deve ser desfolhada, estando as gemas laterais desenvolvidas 12 dias após a desfolha.

O estudo do número de gemas em cada ramo é de grande importância, pois, um grande número, poderia provocar a brotação de algumas gemas do ápice e a inibição das demais. Segundo Barrueto Cid (2000), o hormônio vegetal responsável pelo efeito fisiológico da dominância apical é a auxina e sua concentração diminui ao longo do caule.

Neste sentido, este experimento teve como objetivo testar uma forma alternativa para avaliar a viabilidade de borbulhas de citros, bem como o efeito do número de gemas nos ramos porta-borbulhas sobre a brotação das borbulhas.

2.2 MATERIAL E MÉTODOS

Os ramos porta-borbulhas utilizados foram da tangerineira 'Montenegrina' (*Citrus deliciosa* Tenore) e da laranjeira 'Valência' (*Citrus sinensis* Osbeck) obtidos de plantas cultivadas na Borbulheira de Citros da Estação Experimental Agronômica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (EEA/UFRGS), rodovia BR 290 (Km 146) em Eldorado do Sul – RS.

Os ramos porta-borbulhas foram colhidos com tesoura de poda no dia 18 de maio de 2004. Foram retiradas as suas folhas e deixados apenas os seus pecíolos com tamanho aproximado de 0,5cm.

Coletou-se ramos com, aproximadamente, 50 centímetros de comprimento, que foram devidamente acondicionados em sacos de polietileno (0,07 micras) após serem envoltos em papel absorvente umedecido e levados para o laboratório de Biotecnologia do Departamento de Horticultura e Silvicultura (DHS) da Faculdade de Agronomia da UFRGS – Porto Alegre – RS. No laboratório, os ramos porta-borbulhas foram fracionados em três tamanhos, gerando ramos com 2, 4 ou 6 borbulhas.

No Laboratório de Biotecnologia do DHS, o material coletado foi escovado utilizando-se escova macia e detergente neutro e, a seguir, lavado com água corrente, depois tratado com álcool 70% durante 1 minuto e, posteriormente, com hipoclorito de sódio (1%) durante 10 minutos. Após, fez-se tríplice lavagem com água deionizada e autoclavada, dentro da câmara de fluxo laminar.

Em um ambiente asséptico, com o auxílio de uma tesoura de poda e pinça esterilizadas em pastilhas de formol, cada segmento foi posto em um tubo de ensaio de 85 mL, contendo 10 mL de meio de cultivo de Hoagland & Arnon (1950), que havia sido preparado e autoclavado a 127° C, durante 15 minutos, no dia anterior. A base de cada segmento ficou submersa no meio de cultivo, aproximadamente 5 mm. Após o estabelecimento *in vitro*, os tubos de ensaio foram fechados com papel alumínio e fita plástica e colocados em uma câmara de brotação com controle de luminosidade (16 horas de luz) e temperatura (27,5°C). O meio de cultivo Hoagland & Arnon (1950), recebeu 8 g de Agar e correção do pH para 6,0. Não foi adicionado qualquer tipo de hormônio vegetal ou vitaminas.

O delineamento experimental foi completamente casualizado, sendo utilizados 15 tubos de ensaio por tratamento, totalizando 90 tubos.

Ao longo de um mês, fez-se a avaliação do percentual de ramos que tiveram gemas brotadas e o percentual de borbulhas brotadas por estaca.

Os resultados foram submetidos à análise de variância com posterior comparação das médias pelo teste de Duncan ao nível de 5% de probabilidade, com transformação das observações segundo arco seno da $\sqrt{x}/100$.

2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após 30 dias de cultivo as gemas dos ramos da cultivar Montenegrina brotaram satisfatoriamente *in vitro*, chegando a 72,69% dos ramos brotados, enquanto que os da cultivar Valência tiveram brotação deficiente, onde apenas 35,9% dos ramos tiveram alguma gema que brotou (Tabela 2.1). Estes percentuais médios já foram observados no 13º dia de cultivo *in vitro*, a partir do qual não houve incremento no percentual de brotação; além disso, houve abscisão de algumas brotações, após esse período.

Ao analisar o efeito do tamanho do ramo porta-borbulha sobre a percentagem de brotações dos mesmos, verificou-se que, o número de ramos que emitiram brotações foi diretamente proporcional ao seu número de gemas, chegando a 90% dos ramos brotadas naquelas com 6 gemas na tangerineira 'Montenegrina' e 55,77% na laranjeira 'Valência' (Tabela 2.1).

TABELA 2.1 - Percentagem de ramos brotados, em função do número de gemas no ramo, na tangerineira 'Montenegrina' e laranjeira 'Valência' cultivadas *in vitro*. UFRGS, 2004.

Tratamento (número de gemas, na estaca)	Brotação (%)		
	'Montenegrina'	'Valência'	Média
6	90,00	55,77	72,88 a
4	81,14	30,00	55,57 ab
2	46,92	21,93	34,42 b
Média	72,69 A	35,90 B	
CV (%)		36,94	

Médias seguidas por letras distintas diferem entre si pelo teste de Duncan, ao nível de 5% de probabilidade.

Dos ramos que brotaram, a percentagem de gemas brotadas por ramo foi superior na cultivar Montenegrina, chegando a 53,96% (Tabela 2.2). Na cultivar Valência esse valor não superou os 27,44% (Tabela 2.2). Estes índices devem-se, em parte, à dominância apical nas estacas, brotando predominantemente as gemas dos ápices, isso foi mais evidente na laranjeira 'Valência'. Segundo Barrueto Cid (2000), o hormônio vegetal responsável pelo efeito fisiológico da dominância apical é a auxina e, segundo o mesmo autor, a concentração da auxina na planta não é uniforme, diminuindo ao longo do caule, sendo que a maior concentração encontra-se no ápice caulinar. Em modo geral, a concentração de auxina na planta varia em função da espécie ou cultivar, idade, época do ano e atividade metabólica.

Também percebeu-se a ausência de brotação nas gemas localizadas logo acima do meio nutritivo, provavelmente decorrente de alguma inibição. Essa ausência de brotação fez com que a percentagem de borbulhas brotadas sofresse considerável redução. Nos ramos com apenas duas borbulhas, isso significou uma redução de 50% no percentual de borbulhas brotadas.

A Tabela 2.2 mostra os efeitos do número de gemas sobre a percentagem de borbulhas brotadas por ramo, nas cultivares 'Montenegrina' e

'Valência', respectivamente. Em ambas, o número de gemas não influenciou sobre a brotação relativa por ramo, ocorrendo brotação média de 53,9% na tangerineira 'Montenegrina' e 27,4%, na laranjeira 'Valência'. Isso significa dizer que brotaram, em média, 1,13 gema/ramo nos ramos com duas gemas; 2,23 gemas/ramo nos ramos com quatro gemas e 2,9 gemas/ramo nos ramos com seis gemas, quando a cultivar foi a Montenegrina. Já, quando a cultivar foi a Valência, isso significa dizer que brotou, em média, 0,6 gema/ramo nos ramos com duas gemas, 0,8 gema/ramo nos ramos com quatro gemas e 1,93 gema/ramo nos ramos com seis gemas. Em todos os casos, quando houve apenas uma gema brotada no ramo, foi a gema superior que brotou, o que pode indicar um efeito de dominância apical sobre as demais.

TABELA 2.2 - Percentagem de gemas brotadas por ramo nas cultivares Montenegrina e Valência em função do número de gemas no ramo.

Tratamento (número de gemas)	'Montenegrina'	'Valência'	Média
6	49,10	32,32	40,71
4	55,82	20,00	37,91
2	56,97	30,00	43,48
Média	53,96 A	27,44 B	
CV (%)		35,29	

Médias seguidas por letras distintas diferem entre si pelo teste de Duncan ao nível de 5% de probabilidade.

2.4 CONCLUSÕES

A brotação de borbulhas *in vitro* é uma forma alternativa para avaliar a viabilidade de borbulhas de citros, logo após a coleta e desinfestação dos ramos.

A percentagem de ramos brotados varia com a cultivar e é diretamente proporcional ao número de gemas existentes em cada ramo.

Nos ramos que brotaram, o número de gemas no ramo porta-borbulhas não influenciou a percentagem relativa de gemas brotadas.

CAPÍTULO III

VIABILIDADE DE BORBULHAS DE CITROS COLETADAS DE AMBIENTE PROTEGIDO E MANTIDAS EM FRIGOCONSERVAÇÃO

3.1 INTRODUÇÃO

Algumas regiões do Estado do Rio Grande do Sul agregam características climáticas e edáficas que favorecem a produção de citros com alta qualidade. Diferenças entre as temperaturas diurnas e noturnas superiores a 10°C (Tubelis, 1995), freqüentes no Estado, proporcionam a produção de fruta com coloração acentuada e balanço açúcares-acidez adequado, com qualidade para conquistar os mercados mais exigentes (Wrege et al., 2004). São essas características, entre outras, que fazem com que atualmente exista uma demanda crescente por mudas cítricas de cultivares de mesa, o que viabiliza a instalação de viveiros (Oliveira et al., 2001).

Segundo o grupo de pesquisa da borbulheira de citros da UFRGS (2005), a muda é o insumo mais importante na formação de um pomar de citros.

De sua qualidade genética e sanitária, dependerá toda a produção e vida útil do pomar.

Atualmente, a qualidade da muda cítrica produzida no Rio Grande do Sul não é real, pois não há garantias de sua qualidade genética e fitossanitária. No entanto, devido o surgimento de novas pragas e moléstias cada vez mais preocupantes no cenário da citricultura, torna-se necessário estabelecer mudanças no sistema de produção de mudas, para evitar sua contaminação. A alternativa passa pela produção em ambiente protegido, que apesar de aumentar o preço das mudas, qualifica-as com um melhor padrão varietal e fitossanitário, contribuindo para o desenvolvimento da citricultura no Rio Grande do Sul (Fochesato, 2005).

Para a produção de mudas certificadas, as borbulhas devem ser obtidas de plantas matrizes ou de borbulheiras registradas, cultivadas em ambiente protegido e inspecionadas, periodicamente, com relação a mutações e à sanidade, principalmente clorose variegada dos citros, cancro cítrico, tristeza e outras viroses (Secretaria da Agricultura e Abastecimento, 1998).

O grupo em pesquisa e extensão em citros (GRUPEX, 2005), ressalta, como cuidado básico, que há necessidade de aquisição de mudas formadas com borbulhas oriundas de matrizes com alto potencial de produtividade.

Nas borbulheiras, apesar de se conseguir bom controle da intensidade de brotações e do fluxo de crescimento, nem sempre se consegue sincronia perfeita entre o período de amadurecimento dos ramos e a demanda por parte dos viveiristas. Assim, faz-se necessário o armazenamento dos ramos porta-borbulhas, à fim de maximizar o aproveitamento dos mesmos, ampliar o período de oferta e dinamizar o uso de mão-de-obra nas borbulheiras. O armazenamento

refrigerado permite a conservação dos ramos porta-borbulhas por vários meses, embora ocorra perda gradual de viabilidade das borbulhas (Lima et al., 2002).

Devido ao intenso desenvolvimento da citricultura nos últimos anos e ao surgimento de novas enfermidades, a demanda por estas borbulhas de qualidade cresceu muito, como a oferta de borbulhas produzidas em ambiente protegido ainda é pequena para o atendimento da demanda total, fica ainda mais evidente a importância no máximo aproveitamento destes materiais.

Ao viveirista interessa saber, durante quanto tempo a viabilidade das borbulhas pode ser mantida, bem como qual o melhor processo de desinfestação, para preservá-las, à fim de poder programar adequadamente as atividades de enxertia.

Segundo Bergamin Filho et al. (1995), as baixas temperaturas não destroem os patógenos que estão dentro ou fora dos tecidos dos vegetais frescos. Apenas retardam ou inibem o crescimento e as atividades dos patógenos. Dessa forma, há redução do desenvolvimento das infecções existentes e evita-se o início de novas infecções. Muitas vezes, as baixas temperaturas isoladamente são insuficientes para um controle adequado das doenças, havendo necessidade do emprego de métodos suplementares.

Neste sentido, o presente trabalho teve por objetivo estudar a manutenção da viabilidade das borbulhas contidas em ramos de laranjeira 'Valência' (*Citrus sinensis* Osbeck) e de tangerineira 'Montenegrina' (*Citrus deliciosa* Tenore), oriundas de ambiente protegido, sob diferentes processos de desinfestação e armazenados em câmara fria.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em câmara fria, com circulação interna de ar e temperatura média de 5°C, no Laboratório de Biotecnologia em Horticultura do Departamento de Horticultura e Silvicultura da Faculdade de Agronomia da UFRGS.

Os ramos porta-borbulhas utilizados foram da tangerineira 'Montenegrina' (*Citrus deliciosa* Tenore) e da laranjeira 'Valência' (*Citrus sinensis* Osbeck) cultivados na Borbulheira de Citros da Estação Experimental Agronômica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (EEA/UFRGS), rodovia BR 290 (Km 146) em Eldorado do Sul – RS.

Os ramos porta-borbulhas foram colhidos com tesoura de poda em agosto de 2004, com idade aproximada de 4 a 8 meses, conforme recomendação de Koller (1994). No momento da coleta foram retiradas as suas folhas, deixando-se apenas os pecíolos com tamanho de 0,5 cm. O tamanho dos ramos foi padronizado para aproximadamente 30 cm de comprimento.

Para o transporte até a Faculdade de Agronomia, os ramos foram enrolados em jornal umedecido com água e acondicionados em sacos de polietileno.

Empregou-se o delineamento experimental completamente casualizado em esquema fatorial 2 x 3 x 3, com quatro repetições para a análise de viabilidade, sendo cada parcela constituída de oito borbulhas. Avaliaram-se duas cultivares: Montenegrina e Valência; três tratamentos de desinfestação: Testemunha (apenas água), Captan (500 PM) 1x (tratado no dia da coleta) e Captan (500 PM) 2x (tratado no dia da coleta e aos 45 dias de armazenamento,

após a queda total dos pecíolos) na concentração de 10g.L^{-1} ; e três períodos de armazenamento: 0, 90 e 180 dias. Após a aplicação dos tratamentos, por imersão, por 10 minutos nas soluções com os fungicidas, os ramos foram secos à sombra e em temperatura ambiente e colocados nas embalagens de polietileno (0,07 micra), que foram fechadas hermeticamente e mantidas sobre prateleiras da câmara fria na posição horizontal e sob temperatura média de 5°C .

Ao longo do período de armazenamento, avaliou-se a viabilidade das borbulhas, bem como os teores de substâncias de reserva nos ramos porta-borbulhas.

Antes do armazenamento e, após os tratamentos, o material foi submetido a um teste preliminar (dia zero) para a confirmação da sua qualidade fisiológica (viabilidade das borbulhas) e determinação do teor inicial de substâncias de reserva. Aos 45 e 135 dias de armazenamento, os ramos porta-borbulhas foram analisados visualmente, quanto a sua coloração ou sinais de ocorrência de microrganismos.

A viabilidade das borbulhas foi determinada pelo percentual de brotação das mesmas nos ramos porta-borbulhas. Para tanto, os mesmos foram estabelecidos *in vitro*, conforme descrito a seguir.

No dia anterior à análise de viabilidade, precedeu-se a preparação do meio nutritivo para o estabelecimento *in vitro*. O meio nutritivo utilizado foi o Hoagland e Arnon (1950), que foi disposto em tubos de ensaio (100 mL), os quais receberam 20 mL da solução e foram fechados com papel alumínio recortados no tamanho de 15 x 15 cm.

No dia do teste de viabilidade, os ramos porta-borbulhas foram retirados da câmara fria e sofreram um processo de assepsia. Primeiramente,

foram escovados com detergente neutro em água corrente e, posteriormente, tratados com álcool 70% durante 1 minuto e, em seguida, tratados com hipoclorito de sódio 1% durante 10 minutos. Os tratamentos foram feitos por imersão dos ramos em provetas contendo as soluções.

Dentro da câmara de fluxo laminar, previamente limpa com álcool 70% e incidência de radiação ultravioleta, fez-se a tríplice lavagem dos ramos com água deionizada e autoclavada a 127°C durante 15 minutos.

Com o auxílio de uma tesoura de poda e uma pinça, esterilizadas em pastilhas de formol, os ramos foram divididos em duas porções de tal forma que cada uma contivesse seis borbulhas e as demais borbulhas do ápice e da base foram descartadas. Cada segmento, contendo as seis gemas, foi posto em um tubo de ensaio. Uma borbulha foi posta submersa no meio e as outras cinco ficaram de fora. Para fins de contagem do percentual de brotação das borbulhas a que estava submersa no meio nutritivo e a seguinte não foram consideradas.

Após o estabelecimento *in vitro*, os tubos de ensaio foram fechados com papel alumínio e fita plástica e colocados em uma câmara de brotação com controle de luminosidade (16 horas de luz) e temperatura (27,5°C). No 13º dia, fez-se a avaliação do percentual de borbulhas brotadas e a avaliação do tamanho das brotações.

Devido a carência de material, a análise de substâncias de reserva foi determinada apenas na cultivar Montenegrina, empregando-se um delineamento completamente casualizado em esquema fatorial 3 x 3 x 3, com três repetições, sendo cada parcela constituída de um ramo porta-borbulhas. Avaliaram-se três partes dos ramos (base, meio e ápice), os três tratamentos de desinfestação e os três períodos de armazenamento, citados anteriormente.

A análise das substâncias de reserva dos ramos porta-borbulhas foi realizada no Laboratório de Biotecnologia do Departamento de Horticultura e Silvicultura da Faculdade de Agronomia da UFRGS, segundo adaptações do método descrito por Priestley, citado por Souza (1990).

As médias foram submetidas à análise de variância e comparadas pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de significância. O teor de substâncias de reserva foi submetido à análise de regressão.

3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.3.1 Viabilidade das borbulhas

Os resultados do teste preliminar, realizado antes do armazenamento (dia zero), indicaram que as borbulhas de tangerineira 'Montenegrina' e laranjeira 'Valência' utilizadas no experimento apresentavam elevada qualidade, com brotação média das borbulhas de 90,62%, para ambas as cultivares (Tabela 3.1).

Encontrou-se interações significativas ao nível de 5% de probabilidade entre cultivar e armazenamento, tratamento químico e armazenamento, cultivar e tratamento químico.

TABELA 3.1 – Percentual de brotação das borbulhas em ramos porta-borbulhas de tangerineira ‘Montenegrina’ e laranjeira ‘Valência’, produzidos em ambiente protegido, armazenadas em câmara fria por 180 dias.

Cultivar	Tratamento Químico	Dias de armazenamento		
		0	90	180
Montenegrina	Test.	90,62Aa	90,62Aa	00,00Bb
	Captan 1X	90,62Aa	93,75Aa	93,75Aa
	Captan 2X	90,62Aa	96,87Aa	93,75Aa
Valência	Test.	90,62Aa	90,62Aa	87,50Aa
	Captan 1X	90,62Aa	96,87Aa	90,62Aa
	Captan 2X	90,62Aa	96,87Aa	90,62Aa
CV (%)		13,94		

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula nas linhas e pela mesma letra minúscula nas colunas, não diferem entre si a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

A porcentagem de brotação das borbulhas da tangerineira ‘Montenegrina’ foi afetada significativamente pelo tempo de armazenamento e pelo tratamento químico (Tabela 3.1). Observa-se que, até os 90 dias de armazenamento, as borbulhas da tangerineira ‘Montenegrina’ mantinham-se viáveis com brotação média das borbulhas semelhante à média da brotação inicial independentemente do tratamento químico. Com o maior tempo de conservação, 180 dias, observou-se que a totalidade das borbulhas não tratadas perderam sua viabilidade, devido à contaminação dos ramos porta-borbulhas por microrganismos.

Aos 135 dias de armazenamento, pela análise visual, observou-se que algumas parcelas do tratamento testemunha da cultivar Montenegrina apresentavam sintomas de escurecimento nos tecidos das extremidades dos ramos e escurecimento das borbulhas. Foram os primeiros sintomas visuais de deterioração dos ramos, dentro dos períodos avaliados. Esses mesmos sintomas

foram descritos por Lima et al. (2002), para a limeira ácida 'Tahiti' e por Bissoli et al. (1988).

Teixeira et al. (1971) observaram que a perda da viabilidade das borbulhas se intensificou à medida que as hastes foram perdendo sua cor verde característica e adquirindo uma tonalidade marrom cada vez mais intensa. Os autores relacionaram a este fato a penetração de fungos isolados da haste que se conservaram por 16 a 20 dias.

Além dos sintomas de escurecimento dos tecidos, os ramos porta-borbulhas da cultivar Montenegrina também apresentavam o desenvolvimento de hifas de fungos, principalmente nas extremidades e nas borbulhas, em pontos isolados. Com o aumento do período de conservação (180 dias), aumentou também o número de focos, ocorrendo o desenvolvimento generalizado de hifas de fungos por praticamente todo o ramo porta-borbulhas.

O frio empregado na conservação de produtos vegetais é altamente eficiente na prevenção da maioria das doenças de pós-colheita (Bergamin Filho et al., 1995), porém, em borbulhas armazenadas por longos períodos, mesmo quando sob refrigeração, é comum observar ataque de fungos (Bissoli et al., 1988; Romeiro et al., 2001).

Platt & Optiz (1973) recomendam que seja feita uma inspeção periódica e os ramos que estiverem secos ou de coloração marrom sejam retirados. Aliadas a esta prática, outras características também devem ser observadas (acondicionamento das borbulhas em sacos de polietileno em temperaturas que variam de 2,0 a 7,0°C e retirada dos pecíolos para evitar infecção por fungos) para que, segundo os autores, consiga-se conservação

satisfatória dos ramos porta-borbulhas durante seis meses e, dependendo da cultivar, por um ano.

Neste mesmo período, aos 135 dias de armazenamento, os ramos porta-borbulhas da cultivar Montenegrina, tratados 1x e 2x com fungicida, apresentavam a mesma coloração inicial. Visualmente, estavam em ótimo estado, o que foi confirmado com o teste de viabilidade aos 180 dias de armazenamento (Tabela 3.1).

As estacas de tangerineira 'Montenegrina' tratadas uma vez e duas vezes com fungicida não diferenciaram entre si, porém diferiram estatisticamente da testemunha aos 180 dias de armazenamento (Tabela 3.1).

A conservação de produtos vegetais sob refrigeração é limitada pela capacidade de alguns patógenos conseguir desenvolver-se pouco acima do ponto de congelamento dos vegetais, como é o caso de *Botrytis cinerea*, *Cladosporium herbarum*, *Penicillium expansum* e *Alternaria* spp. (Eckert e Sommer, 1967). Baixa temperatura diminui a atividade desses microrganismos, porém, não os controla. Entretanto, a ação conjunta de baixas temperaturas e a aplicação de fungicidas aumenta o tempo durante o qual o tratamento químico previne a infecção (Luvisi e Sommer, 1960).

Segundo Galli & Guirado (1993) a limpeza e assepsia dos ramos, tornando-os isentos de microrganismos patogênicos e saprófitas pode aumentar mais ainda a viabilidade de borbulhas armazenadas, exatamente o que ocorreu com a cultivar Montenegrina no presente estudo.

Já, Romeiro et al. (2001) em seus estudos, independente da aplicação ou não de fungicidas (Benomyl, Captan e Iprodione), detectaram a ocorrência de fungos em menos de 2% dos ramos de laranjeira 'Natal' armazenados, e

identificados como pertencentes aos gêneros *Penicillium*, *Curvularia* e *Epicoccum*. Os autores atribuíram a ausência de efeito dos fungicidas estar, provavelmente, relacionada ao bom estado sanitário inicial dos ramos, em consequência do manejo adequado da borbulheira e, também, com a época em que foram colhidos para o armazenamento, no inverno.

Segundo Galli & Guirado (1993), as perdas de viabilidade das borbulhas, conservadas *in vitro*, foram causadas por microrganismos contaminantes que se desenvolveram sobre os ramos armazenados. A temperatura foi fator determinante no crescimento desses microrganismos. Sob refrigeração, o crescimento foi muito mais lento do que à temperatura ambiente.

Lima et al. (2002) observaram que durante o armazenamento de ramos porta-borbulhas da limeira ácida 'Tahiti' (*C. latifolia* Tanaka), estas apresentaram sintomas de escurecimento dos tecidos nas extremidades dos ramos e escurecimento das borbulhas, o que impossibilitou a enxertia de várias parcelas. Estes sintomas descritos pelos autores foram semelhantes aos encontrados nos ramos da cultivar Montenegrina, porém, os autores concluíram que, apesar da deterioração de alguns ramos porta-borbulhas dessa cultivar, o elevado pegamento das borbulhas enxertadas mostrou que é possível o armazenamento dessa cultivar, em câmara fria a 5°C, por 74 dias sem a perda de sua viabilidade.

Em um experimento com a mesma cultivar (limeira ácida 'Tahiti'), Siqueira et al. (2001) observaram que o armazenamento das borbulhas resultou em diminuição linear da percentagem de pegamento da enxertia, de 100%, quando não houve armazenamento, para 75%, quando armazenada durante 60 dias em sacos de polietileno, em câmara fria, na temperatura de 10 a 15°C. Já Bissoli et al. (1988) constataram que a limeira ácida 'Tahiti' apresentou perda de

viabilidade das borbulhas, significativa, aos 49 dias. Os ramos contendo borbulhas foram armazenados em sacos de polietileno, sendo mantidos durante o período de conservação a temperaturas entre 3 e 5 °C.

A porcentagem de brotação da laranjeira 'Valência' não foi afetada significativamente pelo tempo de armazenamento e nem pelo tratamento químico (Tabela 3.1). Aos 135 dias de armazenamento, os ramos porta-borbulhas da cultivar 'Valência', testemunha, tratados 1x e 2x com fungicida, apresentavam a mesma coloração inicial. Visualmente, estavam em ótimo estado. Aos 180 dias de armazenamento, o percentual médio de brotação das borbulhas dos três tratamentos foi de 89,58% (Tabela 3.1, Figura 3.1).



FIGURA 3.1 - Ramos porta-borbulhas da cultivar Valência, armazenados durante 180 dias, 13 dias após o estabelecimento *in vitro*. Acima: Testemunha; no meio: 1x tratado com fungicida; abaixo: 2x tratado com fungicida.

Esses resultados podem estar relacionados a uma característica própria das cultivares utilizadas, pois Bissoli et al. (1988) e Siqueira et al. (2001) também observaram diferenças na conservação de borbulhas entre espécies

cítricas. Bissoli et al. (1988) atribuíram as diferenças no comportamento das quatro espécies cítricas estudadas [laranjeira 'Natal' (*C. sinensis* Osb.), tangerineira 'Cravo' (*C. reticulata* Blanco), limeira ácida 'Taiti' (*C. latifolia* Tanaka) e limoeiro 'Siciliano' (*C. limon* Burn.)], possivelmente em decorrência das diferenças na estrutura anatômica de cada espécie.

Com um diâmetro médio de 4,37 mm, os ramos porta-borbulhas da tangerineira 'Montenegrina' são muito finos, se comparados com os ramos da laranja 'Valência' utilizados no presente estudo (6,05 mm de diâmetro) (Figura 3.2). Os mesmos apresentam uma estrutura anatômica delicada e são mais tenros, o que, segundo Bissoli et al. (1998), pode predispor à deterioração mais rápida por ataque de fungos. Essas mesmas características, os autores atribuíram a tangerineira 'Cravo' que, dentre as quatro espécies cítricas estudadas pelos autores, foi a que apresentou maior perda de viabilidade das borbulhas no final do período de conservação (63 dias).

Os ramos porta-borbulhas da laranja 'Valência' apresentaram-se bem mais grossos e rústicos, se comparados aos ramos da tangerineira 'Montenegrina', o que pode ter resultado em maior longevidade natural das borbulhas. A característica de rusticidade Bissoli et al. (1998) atribuíram ao limoeiro 'Siciliano' que, dentre as quatro espécies cítricas estudadas pelos autores, apresentou a maior viabilidade das borbulhas aos 63 dias de conservação (maior que 70%).



FIGURA 3.2 – Ramos porta-borbulhas, acondicionados *in vitro*, após 90 dias de armazenamento. Da esquerda para direita: ‘Valência’ Testemunha, ‘Valência’ 1x tratada com fungicida, ‘Valência’ 2x tratada com fungicida; ‘Montenegrina’ Testemunha, ‘Montenegrina’ 1x tratada com fungicida e ‘Montenegrina’ 2x tratada com fungicida.

Após estudarem cinco cultivares de citros, Siqueira et al. (2001) concluíram que borbulhas de tangerineira ‘Poncã’ (*C. reticulata* Blanco), laranjeiras ‘Baía’ e ‘Serra d’Água’ (*C. sinensis*) podem ser conservadas em sacos de polietileno a 10-15°C, durante 60 dias. Borbulhas de laranjeira ‘Pêra’ (*C. sinensis*) podem ser conservadas até 30 dias e de limeira ácida ‘Taiti’ (*C. latifolia* Tanaka) até 15 dias, quando armazenadas em sacos de polietileno, a 10-15°C. Apesar de observarem essa diferença na conservação de borbulhas entre espécies cítricas os autores não discutiram os motivos prováveis pelo qual ocorre essa diferença.

A manutenção da viabilidade das borbulhas da cultivar Valência foi constatada até os 180 dias de armazenamento, período máximo de avaliação do experimento, indicando um potencial da cultivar para atingir maiores períodos de

armazenamento, pois, na última avaliação, as borbulhas ainda apresentavam uma coloração verde e boa aparência.

A realização de novos estudos com a cultivar Montenegrina pode indicar um limite mais preciso no período de armazenamento e melhores condições para maiores períodos de armazenamento dos ramos porta-borbulhas desta cultivar.

3.3.2 Tamanho das brotações

Na Tabela 3.2 pode-se observar que, *in vitro*, o tamanho médio das brotações da tangerineira 'Montenegrina' foi menor do que da laranjeira 'Valência'. Não houve diferença significativa entre os tratamentos químicos, sendo que a média dos três tratamentos foi de 1,19 cm para a cultivar Montenegrina e 2,19 cm para a cultivar Valência aos 90 dias de armazenamento. Tampouco encontrou-se diferença significativa entre os períodos de armazenamento.

Esta semelhança no desenvolvimento das brotações ao longo do período de armazenamento demonstram a importância de testar a viabilidade das borbulhas *in vitro*, pois, assim, pode-se manter estável a temperatura e UR do ambiente, fatores difíceis de controlar quando os testes de viabilidade são feitos mediante enxertia no viveiro.

Sabe-se que, após a enxertia, há influência do porta-enxerto sobre a altura da cultivar copa, como constatou Fochesato (2005). Além disso, dependendo da cultivar copa, o período de armazenamento pode influenciar na altura das brotações.

Siqueira et al. (2001) estudaram cinco períodos de armazenamento de ramos porta-borbulhas (0, 15, 30, 45 e 60 dias) e cinco cultivares copas de citros (tangerineira 'Poncã', laranjeiras 'Pêra', 'Baía' e 'Serra-d'água' e limeira ácida

'Tahiti'). Aos 120 dias após a enxertia, foi avaliada a altura dos enxertos. Os autores observaram que na limeira ácida 'Tahiti' e na laranjeira 'Baía', não foi verificado efeito significativo do tempo de conservação sobre a altura das brotações. Porém, a altura das brotações da tangerineira 'Poncã' diminuiu significativamente com o período de armazenamento de borbulhas; as brotações da laranjeira 'Pêra' diminuíram sua altura quando conservadas, sendo verificado que, após 30 dias ou mais de conservação, atingiram 90% do valor obtido sem o armazenamento e, na laranjeira 'Serra d'água', a altura das brotações aumentou até o tempo de conservação estimado de 43 dias, diminuindo com maiores tempos de conservação.

Os mesmos autores observaram, ainda, que a altura média das brotações da tangerineira 'Poncã' e da laranjeira 'Pêra' foi significativamente maior em relação às outras copas avaliadas.

Fochesato (2005) estudou o desenvolvimento vegetativo da laranjeira 'Valência' e da tangerineira 'Montenegrina' enxertadas em diferentes porta-enxertos e produzidos em diferentes substratos. Como resultado, o autor obteve que a altura final das cultivares copa estudadas (250 dias após a enxertia) não apresentou diferença significativa.

TABELA 3.2 – Tamanho médio das brotações (cm) em ramos porta-borbulhas de tangerineira ‘Montenegrina’ e laranja ‘Valência’ armazenadas em câmara fria por 180 dias.

Cultivar	Tratamento químico	Dias de armazenamento	
		90	180
Montenegrina	Testemunha	1,17 b	M
	Captan 1X	1,14 b	1,10 b
	Captan 2X	1,26 b	1,14 b
Valência	Testemunha	2,15 a	2,17 a
	Captan 1X	2,19 a	2,00 a
	Captan 2X	2,24 a	2,08 a
CV (%)		30,06	

Médias seguidas pela mesma letra minúscula nas colunas, não diferem entre si a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

3.3.3 Teores de substâncias de reservas presentes nos ramos porta-borbulhas

As substâncias de reserva consistem na fração de carboidratos que são armazenadas em estruturas de reserva, sendo formadas, principalmente, de carboidratos não estruturais. O principal carboidrato encontrado nestas estruturas é o amido (Salisbury & Ross, 1991).

Os resultados do teste preliminar, realizado antes do armazenamento (dia zero), indicaram que os ramos de tangerineira ‘Montenegrina’ apresentavam teor médio de substâncias de reserva de 25,60%. A Figura 3.3 representa a curva de regressão independente dos tratamentos e posições no ramo.

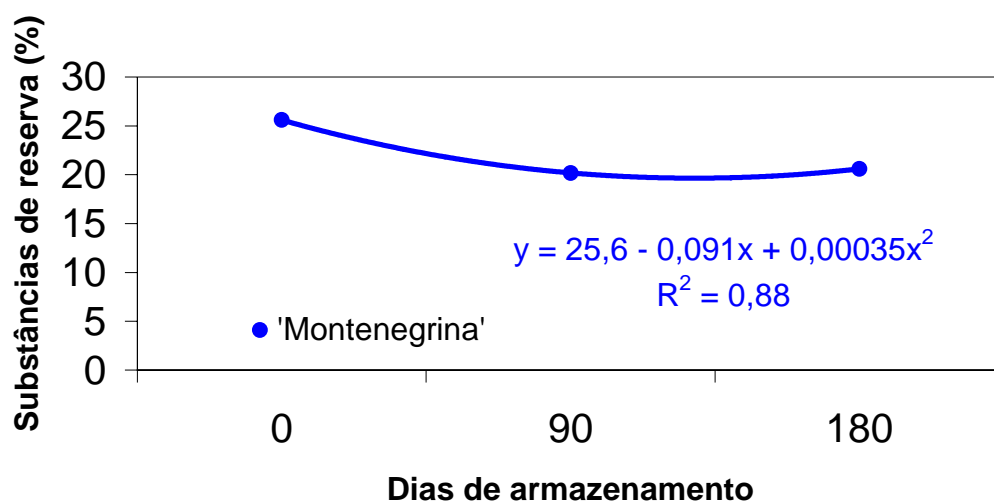


FIGURA 3.3 – Teor médio das substâncias de reserva (%) em ramos porta-borbulhas da tangerineira 'Montenegrina', ao longo do período de armazenamento em câmara fria.

A porcentagem de substâncias de reserva foi afetada significativamente pelo tempo de armazenamento (Figura 3.3), porém, não foi afetada significativamente pelo tratamento químico (Figura 3.4). Aos 90 dias de armazenamento, os ramos mostraram perda de substâncias de reserva, sendo que o teor médio baixou para 20,19%, correspondendo a uma redução de 21,13% em relação ao início do experimento.

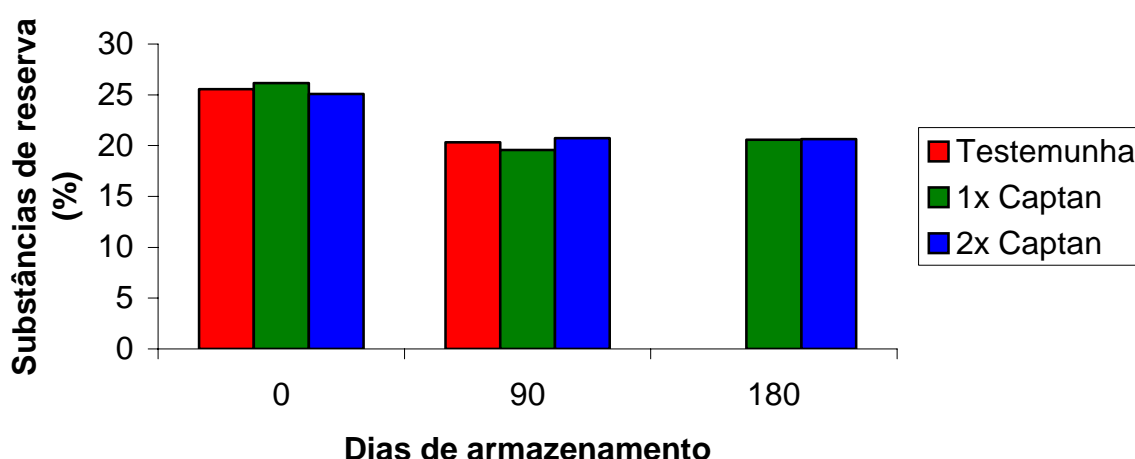


FIGURA 3.4 - Teor médio das substâncias de reserva (%) dos tratamentos testemunha, 1x tratado com Captan e 2x tratado com Captan, de ramos porta-borbulhas da tangerineira 'Montenegrina', ao longo do período de armazenamento em câmara fria.

Aos 180 dias de armazenamento, o teor de substâncias de reserva manteve-se semelhante ao dos 90 dias.

Apesar de ocorrer essa perda significativa no teor de substâncias de reserva do dia zero para os 90 dias de armazenamento, e que se manteve nos 180 dias de armazenamento, as borbulhas tratadas 1x e 2x com fungicida mantiveram-se viáveis nestes mesmos períodos, como pode ser observado na Tabela 3.1. A deterioração de alguns ramos do tratamento testemunha impossibilitou a análise deste tratamento após 180 dias de armazenamento.

Ali (1966), citado por Teixeira et al. (1971), conservou estacas de pereira durante 60 dias a temperatura de 4,4°C e, assim como no presente estudo, também observou considerável perda de carboidratos.

Muhanin (1967), citado por Teixeira et al. (1971), observou que as reservas de amido das borbulhas de cerejeira diminuíram após a enxertia, para voltar aos níveis normais, depois da soldadura das partes. O mesmo autor mostrou ainda que, para as borbulhas cujo período de soldadura foi prolongado,

houve baixa percentagem do pegamento, baixa resistência dos enxertos ao frio hibernal e baixa quantidade de reserva de amido.

Bissoli et al. (1988), em seus estudos com quatro espécies cítricas, observaram que as borbulhas conservadas por período mais longo apresentaram redução progressiva da viabilidade e deduziram que isso decorre do continuado processo metabólico de respiração, com desdobramento de substâncias de reserva e, ainda, que a baixa temperatura diminui essa atividade, mas não a anula. O presente estudo demonstrou que ocorre redução no teor de substâncias de reservas.

Segundo Galli & Guirado (1993), a explicação da maior viabilidade de borbulhas armazenadas sob refrigeração, parece estar ligada ao processo respiratório dos ramos sob temperaturas mais baixas, sendo a refrigeração um processo fundamental na redução da respiração. A limpeza e assepsia dos ramos, tornando-os isentos de microrganismos patogênicos e saprófitas pode aumentar a viabilidade de borbulhas armazenadas. Os mesmos autores concluíram em seus estudos que as perdas de viabilidade das borbulhas *in vitro* foram causadas por microrganismos contaminantes que se desenvolveram sobre os ramos armazenados.

No presente estudo, acreditava-se que a perda de viabilidade das borbulhas poderia ocorrer, principalmente, pela diminuição do teor das substâncias de reserva dos ramos ao longo de seu armazenamento, porém, as borbulhas da tangerineira 'Montenegrina', tratamento testemunha, apresentaram perda de viabilidade devido ao desenvolvimento de microrganismos contaminantes, o que não permitiu a análise de substâncias de reserva nos mesmos.

Na figura 3.5 estão relacionadas as curvas de regressão das posições das borbulhas no ramo (base, meio e ápice), ao longo do período de avaliação.

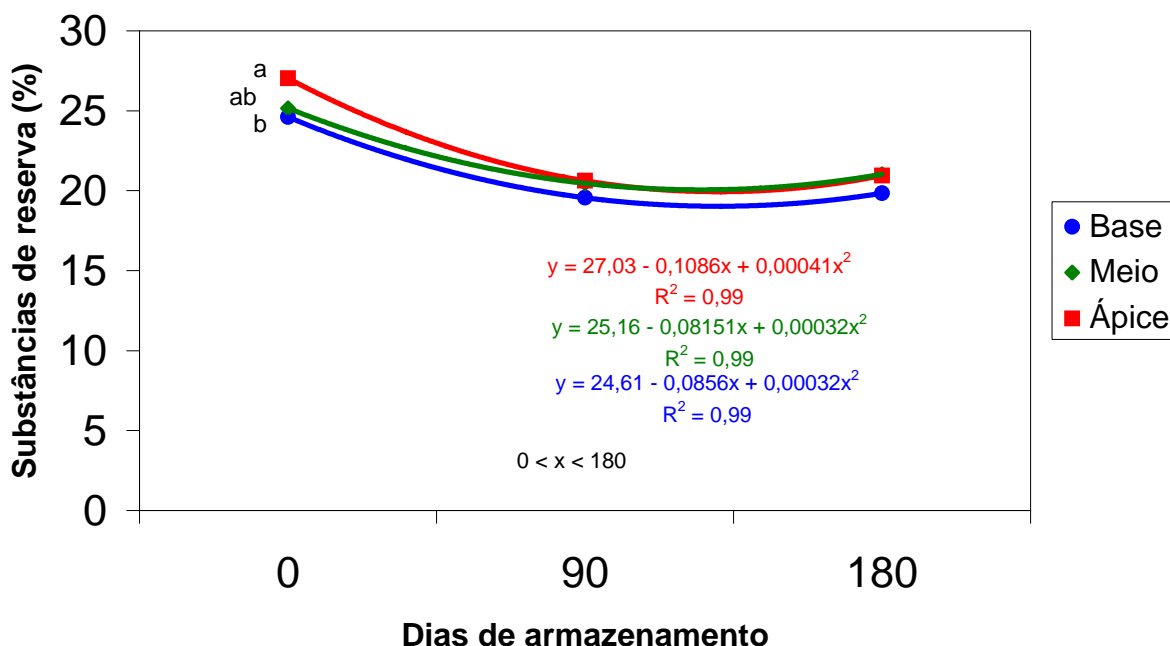


FIGURA 3.5 – Teor médio de substâncias de reserva (%) na base, meio e ápice de ramos porta-borbulhas da tangerineira 'Montenegrina', ao longo do período de armazenamento em câmara fria.

Com relação à posição das borbulhas ao longo do ramo, verificou-se um incremento no teor de substâncias de reserva da base para o ápice dos ramos (Figura 3.5). Porém, alguns estudos evidenciam que essa diferença parece ser irrelevante do ponto de vista do pegamento e desenvolvimento dos enxertos. Por exemplo, Teixeira et al. (1971), em seus estudos com laranja 'Natal', combinou seis períodos de conservação (0, 4, 8, 12, 16 e 20 dias) com cinco situações originais das borbulhas ao longo das hastes (borbulha situada na extremidade da haste, segunda borbulha a partir da extremidade da haste, terceira borbulha a partir da extremidade da haste, quarta borbulha a partir da extremidade da haste

e borbulha situada na base da haste). Os autores concluíram que não houve diferença no desenvolvimento dos enxertos provenientes de borbulhas originadas de pontos diferentes ao longo da haste.

Segundo a Citrograf Mudas (2004), excluindo-se uma borbulha de cada extremidade, todas as outras existentes no ramo são consideradas viáveis à enxertia, não existindo diferença no pegamento ou desenvolvimento de gemas provenientes da ponta, meio ou base dos ramos, independentemente de serem frescas ou quando armazenadas por 20 dias.

3.4 CONCLUSÕES

Os ramos porta-borbulhas da cultivar Montenegrina, mantêm-se viáveis por 90 dias sem tratamento com fungicida e por, no mínimo, 180 dias se submetidos a um tratamento com fungicida no momento de seu armazenamento.

Microorganismos contaminantes são responsáveis pela perda de viabilidade de borbulhas da tangerineira 'Montenegrina'.

Os ramos porta-borbulhas da cultivar Valência, coletados de ambiente protegido, mantêm-se viáveis por, no mínimo, 180 dias sem a necessidade de tratamento com fungicida.

O teor de substâncias de reserva dos ramos porta-borbulhas da tangerineira 'Montenegrina' sofrem redução significativa com o aumento do período de conservação.

CAPÍTULO IV

VIABILIDADE DE BORBULHAS DE CITROS COLETADAS DO POMAR E MANTIDAS EM FRIGOCONSERVAÇÃO

4.1 INTRODUÇÃO

O Rio Grande do Sul possui regiões com clima e solo potencialmente favoráveis à cultura dos citros de mesa, adequados à produção de frutas com coloração intensa e qualidade elevada (Oliveira et al.,2001; Wrege et al.,2004). Atualmente, existe uma demanda crescente por mudas cítricas de cultivares de mesa, o que viabiliza a instalação de viveiros (Oliveira et al., 2001).

As borbulhas para a formação das mudas cítricas são fornecidas em ramos chamados porta-borbulhas. Tratam-se de ramos desfolhados com aproximadamente 30 a 40 cm, contendo borbulhas maduras (Oliveira et al., 2001).

Os ramos com as borbulhas devem ser retirados de plantas-matrizes livres de vírus e outras moléstias muito prejudiciais transmissíveis pelas borbulhas. Por isso, as matrizes devem ser originárias de plantas básicas produzidas e mantidas por estações experimentais ou outras instituições

credenciadas por órgãos oficiais fiscalizadores ou certificadores de mudas (Koller, 1994).

Para Porto et al. (1995) os ramos portadores de borbulhas não devem ter mais de um ano de idade sendo as folhas removidas pelo corte do pecíolo e, imediatamente, as estacas devem ser colocadas em sacos plásticos úmidos e à sombra e, se as estacas forem transportadas ou armazenadas, a fim de programar adequadamente as atividades de enxertia, a temperatura de conservação deve ser de 6 a 7° C.

Em borbulhas armazenadas por longos períodos, mesmo quando sob refrigeração, é comum observar o ataque de fungos (Bissoli, 1987 e Romeiro et al., 2001). Segundo Bergamin Filho et al. (1995), as baixas temperaturas não destroem os patógenos que estão dentro ou fora dos tecidos dos vegetais frescos. Apenas retardam ou inibem o crescimento e as atividades dos patógenos. Muitas vezes, as baixas temperaturas isoladamente são insuficientes para um controle adequado das doenças, havendo necessidade do emprego de métodos suplementares.

Neste sentido, o presente trabalho tem por objetivo estudar a manutenção da viabilidade das borbulhas contidas em ramos de laranjeira 'Valência' (*Citrus sinensis* Osbeck) e tangerineira 'Montenegrina' (*Citrus deliciosa* Tenore), oriundas de pomar, sob diferentes processos de desinfestação e armazenados em câmara fria.

4.2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em câmara fria, com circulação interna de ar e temperatura média de 5°C, no Laboratório de Biotecnologia em Horticultura do Departamento de Horticultura e Silvicultura da Faculdade de Agronomia da UFRGS.

Os ramos porta-borbulhas utilizados foram da tangerineira 'Montenegrina' (*Citrus deliciosa* Tenore) e da laranjeira 'Valência' (*Citrus sinensis* Osbeck) obtidos de plantas do pomar de Citros da Estação Experimental Agrônômica (E.E.A) da UFRGS (BR 290, Eldorado do Sul – RS).

Para a coleta dos ramos porta-borbulhas foram selecionadas três plantas de cada cultivar, as quais sofreram poda drástica em outubro de 2003. A poda consistiu na eliminação de parte da copa das plantas, mediante corte com serrote e tesoura de poda, mantendo-se apenas os ramos primários e secundários em formação, visando uma brotação vigorosa.

As plantas receberam tratamentos preventivos contra a larva minadora das folhas dos citros (*Phyllocnistis citrella*) e cancro cítrico, bem como roçadas e adubações periódicas seguindo as recomendações para a cultura.

As brotações deram origem aos ramos porta-borbulhas, os quais foram colhidos com tesoura de poda em agosto de 2004, com idade aproximada de dez meses. No momento da coleta foram retiradas as suas folhas, deixando-se apenas os pecíolos com tamanho de 0,5 cm. O tamanho dos ramos foi padronizado para aproximadamente 30 cm de comprimento.

Para o transporte até a Faculdade de Agronomia, os ramos foram enrolados em jornal umedecido com água e acondicionados em sacos de polietileno.

Empregou-se o delineamento experimental completamente casualizado, segundo arranjo fatorial 2 x 3 x 5, com quatro repetições para a análise de viabilidade, sendo cada parcela constituída de oito borbulhas. Os fatores estudados foram: duas cultivares (Montenegrina e Valência), três tratamentos de desinfestação: [Testemunha (apenas água), fungicida Captan (500 PM) 1x tratado (no dia da coleta) e fungicida Captan (500 PM) 2x tratado (no dia da coleta e aos 45 dias de armazenamento, após a queda total dos pecíolos) na concentração de 10 g.L⁻¹] e cinco períodos de armazenamento (0, 45, 90, 135 e 180 dias).

Após a aplicação dos tratamentos, por imersão, por 10 minutos nas soluções com os fungicidas, os ramos foram secos à sombra e colocados nas embalagens de polietileno (0,07 micra), que foram fechadas hermeticamente e mantidas sobre prateleiras da câmara fria na posição horizontal, sob temperatura média de 5°C.

Ao longo do período de armazenamento, avaliou-se a viabilidade das borbulhas, o tamanho das brotações, bem como os teores de substâncias de reserva nos ramos porta-borbulhas, seguindo a metodologia descrita no estudo III.

Antes do armazenamento e, após os tratamentos, o material foi submetido a um teste preliminar (dia zero) para a confirmação da sua qualidade fisiológica (viabilidade das borbulhas) e determinação do teor inicial de substâncias de reserva.

Determinou-se as substâncias de reserva nas duas cultivares (Valência e Montenegrina), nos três tratamentos de desinfestação (testemunha, fungicida Captan 1x e fungicida Captan 2x), em 3 posições dos ramos porta-borbulhas (base, meio e ápice) e nos cinco períodos de armazenamento (0, 45, 90, 135 e 180 dias), com três repetições, sendo cada parcela constituída de um ramo porta-borbulhas.

A análise das substâncias de reserva dos ramos porta-borbulhas foi realizada no Laboratório de Biotecnologia do Departamento de Horticultura e Silvicultura da Faculdade de Agronomia da UFRGS, segundo adaptações do método descrito por Priestley, citado por Souza (1990).

4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.3.1 Viabilidade das borbulhas

Verificou-se que ao nível de 5% de probabilidade, houve diferença significativa entre as cultivares, tratamento químico e armazenamento. Também ocorreu interações entre cultivar e armazenamento, tratamento químico e armazenamento, cultivar e tratamento químico e a interação tripla, entre cultivar, tratamento químico e armazenamento (Tabela 4.1).

Os resultados do teste realizado antes do armazenamento (dia zero), indicaram que as borbulhas de tangerineira 'Montenegrina' e laranjeira 'Valência' utilizadas no experimento apresentavam elevada qualidade, com brotação média das borbulhas de 100% e 96,87%, respectivamente (Tabela 4.1).

TABELA 4.1 – Percentual de brotação das borbulhas em ramos porta-borbulhas de tangerineira ‘Montenegrina’ e laranjeira ‘Valência’ coletadas do pomar e armazenadas em câmara fria por 180 dias.

Cultivar	Tratamento Químico	Dias de armazenamento				
		0	45	90	135	180
Montenegrina	Test.	100,00Aa	100,00Aa	96,87Aa	100,00Aa	93,75Aa
	Captan1X	100,00Aa	100,00Aa	93,75Aa	100,00Aa	100,00Aa
	Captan2X	100,00Aa	100,00Aa	93,75Aa	100,00Aa	100,00Aa
Valência	Test.	96,87Aa	71,87Bb	0,00Cc	M	M
	Captan1X	96,87Aa	90,62Aa	75,00Bb	31,25Cc	M
	Captan2X	96,87Aa	90,62Aa	75,00Bb	62,50Cb	M
CV (%)		15,33				

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula nas linhas e pela mesma letra minúscula nas colunas, não diferem entre si a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

A figura 4.1 mostra os ramos porta-borbulhas com 4 brotações.

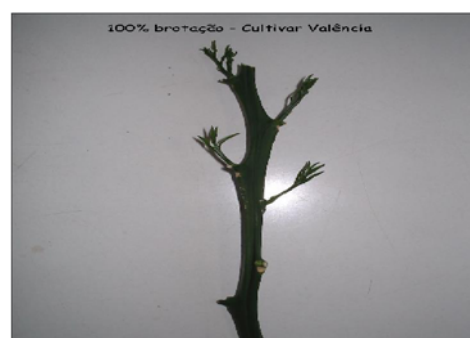


FIGURA 4.1 – Ramos porta-borbulhas da cultivar Montenegrina (esquerda) e da cultivar Valência (direita) com 100% de brotação.

A porcentagem de brotação da laranjeira ‘Valência’ foi afetada significativamente pelo tempo de armazenamento e pelo tratamento químico. Observa-se que, aos 45 dias de armazenamento, o tratamento testemunha já apresentava média do percentual de brotação inferior aos demais tratamentos e inferior a média da brotação inicial. Aos 90 dias de armazenamento observou-se que as borbulhas já não estavam mais viáveis, devido à contaminação dos ramos

porta-borbulhas, por microrganismos, que apresentaram percentual de brotação igual a zero, em contra-partida, os ramos porta-borbulhas tratados uma vez e duas vezes com fungicida, neste mesmo período, ainda se mantinham viáveis, sem diferença significativa entre si, mas já com um decréscimo do percentual de brotação diferindo significativamente da média da brotação inicial. A Figura 4.2 mostra os ramos porta-borbulhas utilizados para a análise de viabilidade após o armazenamento de 90 dias, sem sinais visíveis de microrganismos.



FIGURA 4.2 - Ramos porta-borbulhas da cultivar Valência, sem sinais visíveis de microrganismos, após noventa dias de armazenamento. Da esquerda para a direita: Testemunha, 1x tratado, 2x tratado.

Com o maior tempo de conservação, 180 dias, a contaminação dos ramos porta-borbulhas, por microrganismos, impediu a análise de viabilidade dos tratamentos 1x e 2x com fungicida.

Apesar de as seis plantas utilizadas no experimento (três tangerineiras 'Montenegrina' e três laranjeiras 'Valência') terem sido submetidas aos mesmos

tratos culturais (poda, aplicação de Vertimec 18 CE e aplicação de Cupravit azul), as laranjeiras 'Valência' foram atacadas por formigas que ocasionaram grandes danos às folhas e alguns danos nos próprios ramos.

Segundo Bergamin Filho et al. (1995), insetos podem disseminar fungos de maneira eventual, carregando seus propágulos aderidos ao corpo e liberando-os à medida em que entram em contato com as plantas. Além disso, grande parte desses fungos pode penetrar em seus hospedeiros através de ferimentos.

Ainda, segundo Bergamin Filho et al. (1995), as baixas temperaturas não destroem os patógenos que estão dentro ou fora dos tecidos dos vegetais frescos. Apenas retardam ou inibem o crescimento e as atividades dos patógenos. Dessa forma, há redução do desenvolvimento das infecções existentes e evita-se o início de novas infecções. Muitas vezes, as baixas temperaturas isoladamente são insuficientes para um controle adequado das doenças, havendo necessidade do emprego de métodos suplementares.

Por este motivo, provavelmente, os ramos porta-borbulhas das laranjeiras 'Valência' já vieram contaminados do campo e foram armazenados desta forma, o que ocasionou a diminuição do percentual de brotação das borbulhas (71,87%) do tratamento testemunha já aos 45 dias de armazenamento e perda total da viabilidade aos 90 dias de armazenamento. Aos 135 dias de armazenamento, os tratamentos com fungicida ainda surtiram efeito, porém, com queda do percentual de borbulhas brotadas, 31,25% e 62,5% para os ramos porta-borbulhas tratados uma vez e duas vezes com fungicida, respectivamente (Tabela 4.1). A Figura 4.3 mostra os ramos porta-borbulhas da cultivar Valência, armazenados durante 135 dias, 13 dias após o estabelecimento *in vitro*.



FIGURA 4.3 - Ramos porta-borbulhas da cultivar Valência, armazenados durante 135 dias. Detalhe da brotação 13 dias após o estabelecimento *in vitro*. Acima: 1x tratado, com 31,25% das borbulhas brotadas; abaixo: 2x tratado, com 62,5% das borbulhas brotadas.

A ação conjunta de baixa temperatura e a aplicação de fungicidas aumenta o tempo durante o qual o tratamento químico previne a infecção (Luvisi & Sommer, 1960).

A ação protetora do fungicida depende da profundidade de inoculação do fungo, velocidade de desenvolvimento, susceptibilidade do hospedeiro, temperatura e umidade (Eckert & Sommer, 1967).

Outro motivo que pode ter colaborado para a perda de viabilidade das borbulhas da laranjeira 'Valência', refere-se ao próprio tratamento em água (testemunha). Segundo Bergamin Filho et al. (1995), a água é um importante agente de dispersão de propágulos de fungos e de bactérias a curtas distâncias. Se os ramos porta-borbulhas das laranjeiras 'Valência' já vieram contaminados do campo, a água pode ter sido um agente de dispersão para todas as partes do

ramo, além disso, a água constitui-se num fator vital para a germinação de esporos e penetração no hospedeiro (Bergamin Filho et al., 1995).

Este pode ser um dos motivos pela qual Platt & Optiz (1973) afirmam que os ramos porta-borbulhas devem ser acondicionados em temperaturas que variam de 2,0 a 7,0°C, sem adição de umidade.

Já Bissoli et al. (1988) estudaram três diferentes métodos de conservação de hastes contendo borbulhas de citros. Os métodos de conservação foram: desinfestação das hastes periodicamente, a cada 7 dias; desinfestação apenas no dia da colheita das hastes e; lavagem das hastes com água antes do armazenamento. O processo de lavagem com água mostrou ser o melhor processo para o armazenamento de borbulhas.

Romeiro et al. (2001) em seus estudos, independente da aplicação ou não de fungicidas (Benomyl, Captan, Iprodione e apenas água), detectaram a ocorrência de fungos em menos de 2% dos ramos de laranjeira 'Natal' armazenados, e identificados como pertencentes aos gêneros *Penicillium*, *Curvularia* e *Epicoccum*. Os autores atribuíram a ausência de efeito dos fungicidas estar, provavelmente, relacionada ao bom estado sanitário inicial dos ramos, em consequência do manejo adequado da borbulheira e, também, com a época em que os ramos foram colhidos para o armazenamento, no inverno.

Em estudo realizado por Galli & Guirado (1993), constatou-se que as perdas de viabilidade das borbulhas *in vitro* foram causadas por microrganismos contaminantes que se desenvolveram sobre os ramos armazenados. A temperatura foi fator determinante no crescimento desses microrganismos. Sob refrigeração, o crescimento foi muito mais lento do que à temperatura ambiente.

Os mesmos autores mostraram que a conservação das borbulhas de laranja 'Valência' em tubos de ensaio tamponados com algodão, a 5°C, permitiu obter 100% de pegamento de enxertos até os 30 dias de armazenamento. Já as borbulhas conservadas em condições ambientais tiveram, em média, 40% de pegamento após o mesmo período de armazenamento. As borbulhas conservadas durante 60 dias, a 5°C ou sob condições ambientais, tiveram percentual médio de pegamento de 70% e 25%, respectivamente.

Lima et al. (2002) concluíram que, após uma desinfestação com solução comercial de hipoclorito de sódio a 1% de cloro ativo e tratamento das hastes com fungicida benomyl, as hastes porta-borbulhas de laranja 'Valência' podem ser armazenadas por 74 dias à temperatura de 5°C, sem perda de viabilidade das borbulhas.

Carvalho (1998), citado por Romeiro et al. (2001), relata queda de 94% para 72% na viabilidade de borbulhas de laranja 'Valência' a partir de 70 dias de armazenamento em câmara fria. No presente estudo, percentual semelhante foi observado aos 90 dias, nos ramos tratados com fungicida.

Em seus estudos com laranja 'Valência' (*Citrus sinensis*, Osbeck), Koller (1973) constatou que aos 21 dias de armazenamento em temperatura ambiente, a viabilidade das borbulhas caiu a quase 0% de "pegamento". Em refrigerador, no mesmo período, manteve-se superior a 90%.

A conservação das borbulhas de laranja 'Natal' [*Citrus sinensis* (L.) Osbeck], sem perda da viabilidade na enxertia (média de 98% de pegamento), foi constatada por Romeiro et al. (2001) até os 210 dias, período máximo de avaliação do experimento, indicando um potencial da cultivar para atingir maiores

períodos de armazenamento. Bissoli et al. (1988) constataram que, a mesma cultivar, apresentou perda significativa de viabilidade das borbulhas, após 35 dias.

Segundo Lima et al. (2002), as hastes porta-borbulhas de laranjeira 'Baianinha' podem ser armazenadas por 74 dias à temperatura de 5°C, sem perda de viabilidade das borbulhas.

Siqueira et al. (2001) concluíram que borbulhas de laranjeira 'Baía' e laranjeira 'Serra-d'Água' podem ser conservadas em sacos de polietileno a 10-15°C, durante 60 dias, e que borbulhas de laranjeira 'Pêra' podem ser conservadas até 30 dias, quando armazenadas em sacos de polietileno, a 10-15°C.

No presente estudo, a percentagem de brotação das borbulhas da tangerineira 'Montenegrina' não foi afetada significativamente pelo tempo de armazenamento e nem pelo tratamento químico. Aos 180 dias de armazenamento, o percentual médio de brotação das borbulhas dos três tratamentos foi de 97,91% (Tabela 4.1). A Figura 4.4 mostra os ramos porta-borbulhas utilizados para a análise de viabilidade após o armazenamento de 90 dias, com ótima aparência.



FIGURA 4.4 - Ramos porta-borbulhas da cultivar Montenegrina, com ótima aparência, após noventa dias de armazenamento. Da esquerda para a direita: Testemunha, 1 x tratado com fungicida, 2 x tratado com fungicida.

O maior período de manutenção da viabilidade das borbulhas da cultivar Montenegrina parece estar relacionado ao melhor estado sanitário inicial dos ramos desta cultivar, se comparados com os ramos da cultivar Valência.

No estudo 3, os ramos porta-borbulhas da cultivar Montenegrina mantiveram-se viáveis por apenas 90 dias (Tabela 3.1). A explicação para o maior período de viabilidade dos ramos porta-borbulhas da cultivar Montenegrina coletada do pomar parece estar relacionada a sua estrutura anatômica. Os ramos coletados de ambiente protegido eram mais finos e tenros, o que pode predispor a deterioração mais rápida por ataque de fungos (Bissoli et al., 1998).

Com relação à cultivar Valência, o material utilizado no estudo 3 manteve-se viável por 180 dias, independente do tratamento químico (Tabela 3.1). Isso ocorreu, possivelmente, devido ao melhor estado fitossanitário inicial dos ramos porta-borbulhas utilizados naquele estudo.

A realização de novos estudos com a cultivar Valência pode indicar um limite mais preciso no período de armazenamento e melhores condições para maiores períodos de armazenamento dos ramos porta-borbulhas desta cultivar.

4.3.2 Tamanho das brotações

Na Tabela 4.2, pode-se observar que, *in vitro*, o tamanho médio das brotações da tangerineira 'Montenegrina' foi inferior ao da laranjeira 'Valência', à semelhança do encontrado no estudo anterior (Tabela 3.2). Não houve diferença significativa entre os tratamentos, nem tão pouco com o período de armazenamento, em ambas cultivares. Já, em condições de casa de vegetação, Fochesato (2005) estudou o desenvolvimento vegetativo da laranjeira 'Valência' e da tangerineira 'Montenegrina' enxertadas em diferentes porta-enxertos e produzidos em diferentes substratos e, a altura final das cultivares copa estudadas (250 dias após a enxertia) não apresentou diferença significativa.

TABELA 4.2 – Tamanho médio das brotações (cm) em ramos porta-borbulhas de tangerineira 'Montenegrina' e laranjeira 'Valência' armazenadas em câmara fria por 180 dias.

Cultivar	Tratamento Químico	Dias de armazenamento		
		90	135	180
Montenegrina	Testemunha	1,14b	1,05b	1,24a
	Captan 1X	1,09b	1,04b	1,20a
	Captan 2X	1,03b	1,28b	1,12a
Valência	Testemunha	M	M	M
	Captan 1X	1,49a	1,53a	M
	Captan 2X	1,56a	1,65a	M
CV (%)			33,43	

Médias seguidas pela mesma letra minúscula nas colunas, não diferem entre si a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

Teixeira et al. (1971) estudaram o desenvolvimento de enxertos de laranjeira 'Natal', utilizando como porta-enxerto o limoeiro-cravo (*Citrus limonia*, Osb.), aos seis meses após a enxertia. Foram quatro períodos de conservação dos ramos porta-borbulhas: 0, 4, 8 e 12 dias. Os autores concluíram que não houve diferença significativa no desenvolvimento dos enxertos com relação ao período de conservação das borbulhas.

Segundo a Citrograf Mudas (2005), não há diferença na altura do broto, 70 dias após a enxertia, utilizando-se borbulhas frescas ou armazenadas.

3.3.3 Teores de substâncias de reservas presentes nos ramos porta-borbulhas

Os resultados do teste preliminar, realizado antes do armazenamento (dia zero), indicaram que os ramos de tangerineira 'Montenegrina' apresentavam teor médio de substâncias de reserva de 26,86%, com diferença significativa em relação ao teor médio de substâncias de reserva dos ramos da laranjeira 'Valência', a qual apresentou média de 31,99%.

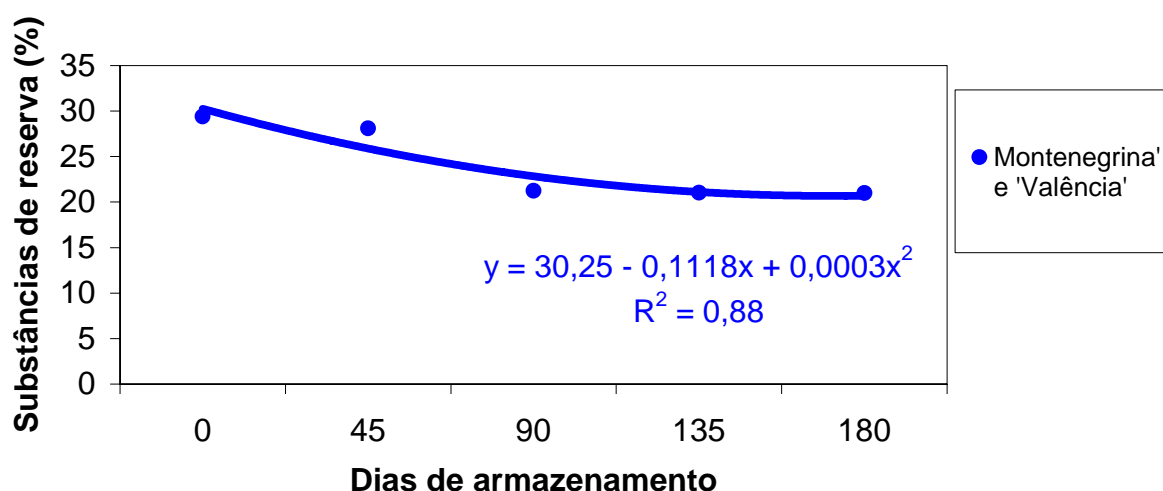


FIGURA 4.5 - Teor médio das substâncias de reserva (%) em ramos porta-borbulhas da tangerineira 'Montenegrina' e laranjeira 'Valência'.

Estes resultados concordam com os obtidos por Fochesato (2005), que, estudando o comportamento de cultivares copa de citros enxertadas em diferentes porta-enxertos, observou que a laranjeira 'Valência' teve maior acúmulo de reservas nas hastes do que a tangerineira 'Montenegrina'. O mesmo autor encontrou na cultivar Valência maior teor de massa seca na parte aérea, o que, provavelmente, explica o maior teor de substâncias de reserva nesta cultivar.

Aos 45 dias de armazenamento, esta diferença ainda era evidente, onde os ramos porta-borbulhas da tangerineira 'Montenegrina' mantinham a média de 25,59% e os ramos porta-borbulhas da laranjeira 'Valência', 30,97%; sem variar significativamente com relação ao dia zero.

Aos 90 dias de armazenamento, encontrou-se uma queda significativa nos teores de substâncias de reserva de ambas cultivares, a partir do qual estabilizou-se até o final do experimento (Figura 4.5), com média de 21,28% para a cultivar Montenegrina e 20,86% para a cultivar Valência. Estes resultados encontradas para a cultivar Montenegrina são semelhantes aos encontrados no estudo 3 (Figura 3.2), onde o teor de substâncias de reserva aos 90 dias foi semelhante ao teor de substâncias de reserva aos 180 dias.

A deterioração dos ramos porta-borbulhas da cultivar Valência não permitiu a análise das substâncias de reserva aos 180 dias de armazenamento.

A porcentagem de substâncias de reserva foi afetada significativamente pelo período de armazenamento, tendo sofrido uma queda no teor aos 90 dias, a partir do qual se estabilizou. Porém, não foi afetada significativamente pelo tratamento químico, em ambas as cultivares (Figura 4.5). Resultado semelhante foi encontrado no estudo 3 (Figura 3.3).

Koller (1973) explica que a respiração de órgãos vegetais armazenados ocorre às expensas de substâncias de reserva acumuladas em seus tecidos, principalmente carboidratos. Em temperaturas baixas, a taxa de respiração dos ramos armazenados é menos intensa e o consumo de carboidratos e outras substâncias também deve ser mais baixo, resultando em economia de substâncias de reserva e possibilitando, conseqüentemente, um período de armazenamento maior do que nas temperaturas mais elevadas.

Segundo Bissoli et al. (1988) o continuado processo metabólico de respiração ocasiona o desdobramento de substâncias de reserva. A baixa temperatura diminui essa atividade, mas não a anula.

O comportamento dos teores de substâncias de reserva nos ramos porta-borbulhas explicam, em parte, a perda de viabilidade das borbulhas, pois a queda nos teores foi proporcional a diminuição na viabilidade das borbulhas de laranjeira 'Valência' (Tabela 4.1). Porém, a mesma relação não foi encontrada na cultivar Montenegrina, que manteve suas borbulhas viáveis, apesar da queda nas reservas ao longo do período de armazenamento.

Ali (1966), citado por Teixeira et al. (1971), conservou estacas de pereira durante 60 dias a temperatura de 4,4°C e também observou considerável perda de carboidratos ao longo deste período.

Muhanin (1967), citado por Teixeira et al. (1971), observou que as reservas de amido das borbulhas de cerejeira diminuíram após a enxertia, para voltar aos níveis normais, depois da soldadura das partes.

Com relação à posição das borbulhas ao longo do ramo, verificou-se um incremento no teor de substâncias de reserva da base para o ápice dos

ramos, à semelhança do encontrado no estudo 3, para a cultivar Montenegrina. Essa diferença foi mais acentuada na cultivar Valência.

Nas figuras 4.6 e 4.7 estão relacionadas as curvas de regressão dos teores de substância de reserva em diferentes posições nos ramos porta-borbulhas (base, meio e ápice), ao longo do período de avaliação, nas cultivares Montenegrina e Valência, respectivamente.

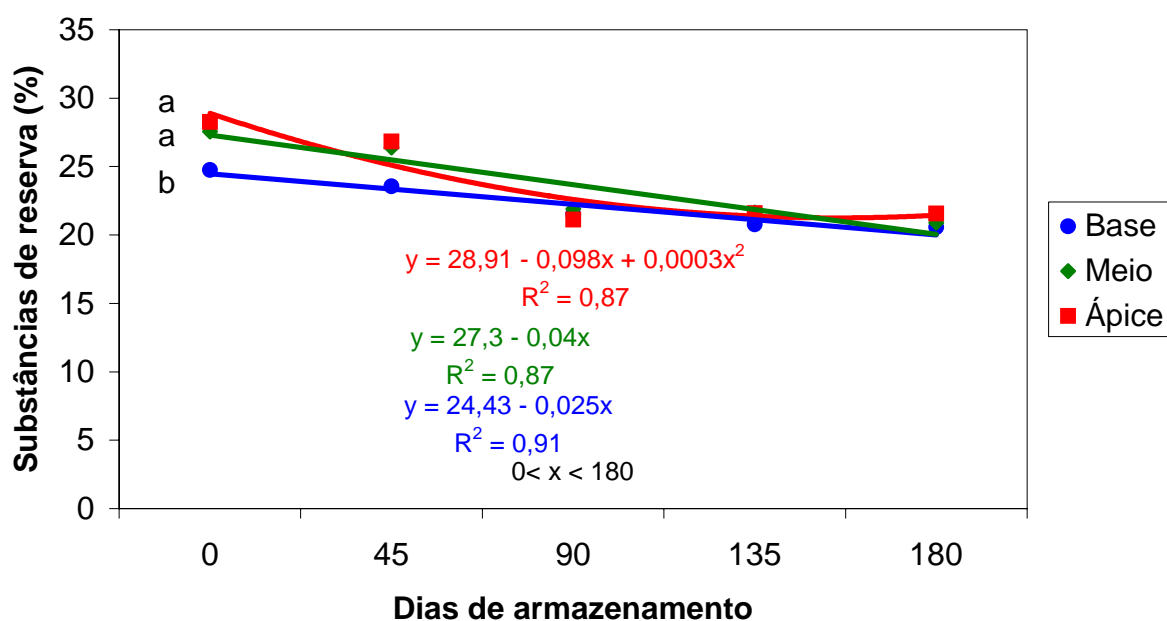


FIGURA 4.6 – Teor médio das substâncias de reserva (%) na base, meio e ápice de ramos porta-borbulhas da tangerineira 'Montenegrina', ao longo do período de armazenamento em câmara fria.

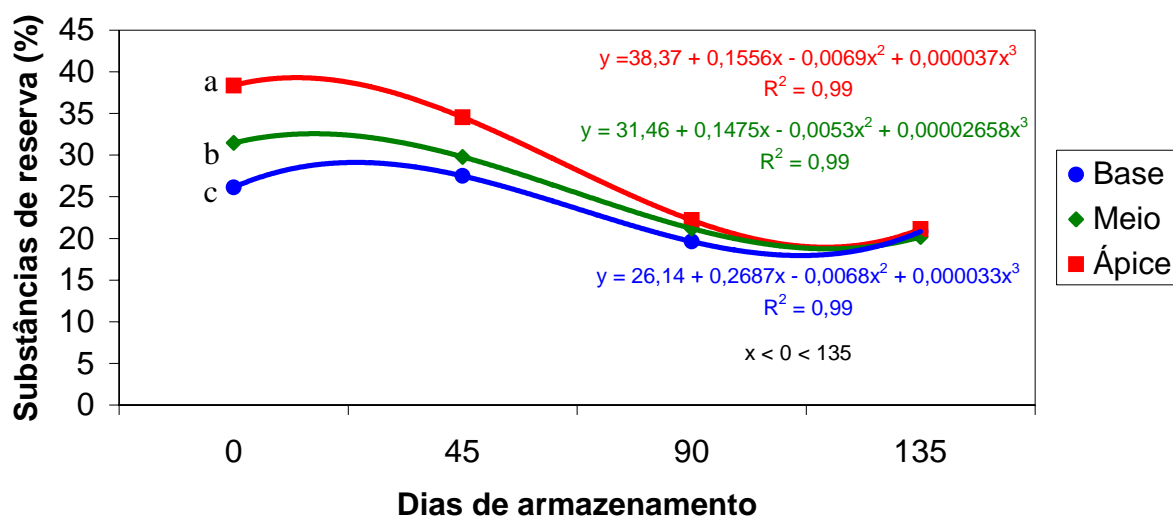


FIGURA 4.7 – Teor médio das substâncias de reserva (%) na base, meio e ápice de ramos porta-borbulhas da laranjeira 'Valência', ao longo do período de armazenamento em câmara fria.

Essa diferença nos teores de substâncias de reserva da base, do meio e do ápice dos ramos não parece ser de grande importância do ponto de vista do pegamento e desenvolvimento dos enxertos. No presente estudo, isso não foi testado, mas alguns experimentos evidenciam isso, como o de Teixeira et al. (1971), citado no item 3, onde os autores concluíram que não houve diferença no desenvolvimento dos enxertos provenientes de borbulhas originadas de pontos diferentes ao longo da haste.

Halma (1933), enxertando gemas da base e do ápice de ramos de laranjeira, não observou diferença significativa no desenvolvimento dos enxertos.

Schreiber (1967), citado por Teixeira et al. (1971), observou que as borbulhas terminais, basais e medianas das hastes de cerejeira, conservadas durante três meses, foram igualmente eficientes para a enxertia.

Segundo a Citrograf Mudas (2004), excluindo-se uma borbulha de cada extremidade, todas as outras existentes no ramo são consideradas viáveis à

enxertia, não existindo diferença no pegamento ou desenvolvimento de gemas provenientes da ponta, meio ou base dos ramos.

4.4 CONCLUSÕES

Os ramos porta-borbulhas da cultivar Montenegrina, mantêm-se viáveis por 180 dias, sem a necessidade de tratamento com fungicida.

O teor de substâncias de reserva dos ramos porta-borbulhas sofre redução com o aumento do período de conservação.

CAPÍTULO V

CONCLUSÕES GERAIS

As borbulhas de citros brotam satisfatoriamente *in vitro*, tanto da cultivar Montenegrina como da Valencia, o que permite a realização do teste de viabilidade das mesmas por este método.

O estado sanitário das plantas matrizes e dos ramos porta-borbulhas é de fundamental importância para o sucesso na conservação e manutenção da viabilidade de borbulhas cítricas destinadas a enxertia.

O fungicida Captan (500 PM) mostrou-se eficiente na desinfestação dos ramos porta-borbulhas de citros e conseqüente manutenção da viabilidade de borbulhas armazenadas por longo período.

Os ramos porta-borbulhas da cultivar Montenegrina mantêm-se viáveis por 90 dias sem tratamento com fungicida e por, no mínimo, 180 dias se submetidas a 1 tratamento com fungicida no momento de seu armazenamento.

Os ramos porta-borbulhas da cultivar Valência, coletados de plantas sadias em ambiente protegido, mantêm-se viáveis por, no mínimo, 180 dias, sem

a necessidade de tratamento com fungicida.

As substâncias de reserva dos ramos porta-borbulhas sofrem redução ao longo do armazenamento.

CAPÍTULO VI

CONSIDERAÇÕES FINAIS

No presente estudo foram feitas algumas constatações que podem ser importantes para futuros trabalhos.

A avaliação de alguns parâmetros não estudados no presente trabalho também podem ser complementados em estudos posteriores, com as cultivares Montenegrina e Valência ou outras cultivares.

Teixeira et al. (1971), estudou a perda de umidade das borbulhas cítricas, mas achou prudente a realização de novos estudos. No presente estudo isto não foi avaliado, por isso a realização de novos trabalhos, pode indicar se existe um interesse prático para este parâmetro, ao longo do período de armazenamento.

Apesar de terem sido observados sinais de microorganismos contaminantes nos ramos porta-borbulhas, estes não foram identificados. Sugere-se que, em novos estudos, estes sejam identificados, assim como fizeram Romeiro et al. (2001), com borbulhas de laranjeira 'Natal'.

Trabalhos também podem ser realizados com outras cultivares, tendo em vista a importância do fornecimento de material propagativo de qualidade e diversidade ao longo do ano.

CAPÍTULO VII

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BARRUETO CID, L. P. Introdução aos hormônios vegetais. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2000. 180p.; il.

BERGAMIN FILHO, A.. et al. (editores). Manual de fitopatologia – 3.ed. – São Paulo: Agronômica Ceres, 1995. 919 p. – 2v. : il.

BISSOLI, M. C. et al. Efeito do período de armazenamento sobre a viabilidade das borbulhas de quatro espécies cítricas. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 9, Campinas, 1987. **Anais...**Campinas: Sociedade Brasileira de Fruticultura, 1988, v.1, p.347-350.

BISSOLI, M. C. et al. Utilização de diferentes processos de desinfecção no estudo da conservação das borbulhas de citros. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 9, Campinas, 1987. **Anais...**Campinas: Sociedade Brasileira de Fruticultura, 1988, v.1, p.453-457.

CITROGRAF MUDAS. Técnicas de plantio. Disponível em: <http://www.citrograf.com.br> Acesso em: 27 de nov. 2005.

ECKERT, J. W. & SOMMER, N. F. Control of diseases of fruit and vegetables by postharvest treatment. **Annual Review of Phytopathology**, St. Paul: APS Press, v. 5, p. 391 – 433, 1967.

FACHINELLO, J. C.; HOFFMANN. A.; NACHTIGAL, J. C.; KERSTEN. E.; FORTES. G. R. de L. **Propagação de plantas frutíferas de clima temperado**. 2º ed. – Pelotas: UFPEL, 1995.

FAO. Produção mundial de frutas cítricas, 2005. Disponível em: <http://www.fao.org> Acesso em: 12 de nov. 2005.

FOCHESATO, M. L. **Substratos e porta-enxertos na produção de mudas cítricas em ambiente protegido**. 91f. Dissertação (Mestrado) Programa de Pós-

Graduação em Fitotecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2005.

GALLI, M. J. A. ; GUIRADA, N. Conservação de borbulhas de citros *in vitro*. **Ecossistema**, Campinas - SP, v. 18, p. 156-160, 1993.

GRUPEX. **O cultivo dos Citros no Rio Grande do Sul**: Referências Tecnológicas. Porto Alegre: FEPAGRO, 2005. 141p.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br> Acesso em: 12 de nov. 2005.

JOÃO, P. L. (Coord.) **Levantamento da fruticultura comercial do Rio Grande do Sul**. Porto Alegre: EMATER/RS-ASCAR, 2003/2004. 89p.

KOLLER, O.C. **Influência de sistema e períodos de armazenamento na conservação das borbulhas de laranjeira “Valência” (*Citrus sinensis* Osbeck)**. Piracicaba, 1973. 63p. (Dissertação Mestrado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo.

KOLLER, O. C. Citricultura: laranja, limão e tangerina. Porto Alegre: Editora Rígel, 1994. 446p. il.

LIMA, S. F. F. et al. Avaliação da viabilidade de hastes porta-borbulhas de citros após armazenamento em baixa temperatura e tratamento com ANA, GA3 e 2,4-D. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, Belém, 27., 2002. Belém - PA, Brasil, 2002. v. CDROM. p. ---.

LUVISI, D. A.; SOMMER, N. F. Polysthylene liners and fungicides for peaches and nectarines. **Proceedings of the American Society of Horticulture Science**, Davis, Califórnia, v. 76, p.146-155, 1960.

OLIVEIRA, R. P. de. et al. **Mudas de citros**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado. 2001. 32p. (Sistemas de produção, 1).

PLATT, G. R. & OPTIZ, K. W. The propagation of citrus. In: REUTHER, W.; BATCHELO, R. L. D.; WEBBER, H. J. **The citrus industry**. Berkeley, University of California, 1973. v.3, p.1-47.

PORTO, O. de M. et al. **Recomendações técnicas para a cultura de citros no Rio Grande do Sul**. Porto Alegre: FEPAGRO, 1995. 78p. (Boletim Técnico FEPAGRO, 3).

ROMEIRO, S. et al. Embalagem e tratamento químico na conservação de ramos porta-borbulhas de laranjeira ‘Natal’ em câmara fria. **Laranja**, Cordeirópolis, v.22, n.2, p.425-433, 2001.

ROSSETTI, V. V. **Manual ilustrado de doenças dos citros**. Piracicaba: Fealq/Fundecitrus, 2001. 207p.: il.

SALISBURY, F. B. & ROSS, C. W. **Plant Physiology**. 4.ed. California: Wadsworth Publishing, 1991. 682p.

SCHÄFER, G. **Produção de porta enxertos cítricos em recipiente e ambiente protegido no Rio Grande do Sul**. 2004. 129f. Tese (Doutorado) Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2004.

SECRETARIA DA AGRICULTURA E ABASTECIMENTO. Departamento de produção vegetal. Comissão Estadual de Sementes e Mudas do Estado do Rio Grande do Sul. **Normas e padrões de produção de mudas de fruteiras para o Estado do Rio Grande do Sul**. Porto Alegre, 1998. 100p.

SENNA, A. J. T.; JOÃO, P. L. **Estudo sobre a comercialização de frutas cítricas sem sementes nas regiões sul e sudeste**. Porto Alegre: EMATER/RS-ASCAR; UFRGS-CEPAN, 2004. 56p.

SIQUEIRA, D. L. de. Pegamento e crescimento de enxertos de cinco variedades de citros em função de cinco períodos de armazenamento de hastes de borbulhas. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal – SP, v. 23, n. 1, p.209-211, abril 2001.

SOUZA, P. V. D. de. **Efeito de concentração de etefon e pressões de pulverização foliar no raleio de frutinhas em tangerineiras (*Citros deliciosa* Tenore) cv. 'Montenegrina'**. 1990. 139f. Dissertação (Mestrado) Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1990.

TEIXEIRA, S. L. et al. Influência do período pós-colheita das hastes de citrus sobre a qualidade das borbulhas para enxertia. **Revista Ceres**, Viçosa, 18(99): 406-417, 1971.

TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: Embrapa – SPI/ Embrapa – CNPH, 1998.

TUBELIS, A. Clima: fator que afeta a produção e a qualidade da laranja. **Laranja**, Cordeirópolis, v.16, n.2, p.179-211, 1995.

WREGE, M. S. et al. **Zoneamento agroclimático para a cultura dos citros no Rio Grande do Sul**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2004. 23p. (Documento, 117).

