

AURINETE DAIENN BORGES DO VAL

QUEBRA DE DORMÊNCIA DE SEMENTES DE VIDEIRAS
'NIÁGARA ROSADA' E 'ITÁLIA'

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia para obtenção do título de "Magister Scientiae".

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2005

**Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e
Classificação da Biblioteca Central da UFV**

T

V135q
2005

Val, Aurinete Daienn Borges do, 1974-

Quebra de dormência de sementes de videiras 'Niágara rosada' e 'Itália'. / Aurinete Daienn Borges do Val. – Viçosa: UFV, 2005.
xii, 51f : il. ; 29cm.

Inclui apêndice.

Orientador: Sérgio Yoshimitzu Motoike.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.

Referências bibliográficas: f. 43-46

1. Uva - Semente. 2. Germinação. 3. Plantas - Reguladores. 4. Ácido giberélico. 5. Sementes - Fisiologia.
I. Universidade Federal de Viçosa. II. Título.

CDD 22.ed. 634.8821

AURINETE DAIENN BORGES DO VAL

QUEBRA DE DORMÊNCIA DE SEMENTES DE VIDEIRAS
'NIÁGARA ROSADA' E 'ITÁLIA'

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia para obtenção do título de "Magister Scientiae".

APROVADA EM: 25 de agosto de 2005.

Prof. José Maria Moreira Dias
(Conselheiro)

Prof. Paulo Roberto Cecon

Prof. Dalmo Lopes de Siqueira

Dr. Antônio de Pádua Alvarenga

Prof. Sérgio Yoshimitsu Motoike
(Orientador)

Aos meus pais, Bernardo e Maria do Carmo, que sempre me ensinaram, através do exemplo, as lições de honestidade, perseverança, dedicação e disposição para o trabalho; pré-requisitos sem os quais não teria chegado até aqui.

Aos meus irmãos, que me apoiaram em todos os momentos nesse longo desafio.

DEDICO.

Aos agricultores do sertão nordestino.

MINHA HOMENAGEM.

AGRADECIMENTOS

A DEUS, pelo dom da existência e pela presença constante em minha vida, proporcionando-me todas as condições necessárias a essa conquista.

Aos meus pais e irmãos, pelo apoio incondicional em todos os momentos, sobretudo nos mais difíceis, fazendo-se sempre presentes ao longo desta caminhada.

A Universidade Federal de Viçosa, pela oportunidade de aprendizado e subsídio para realização deste trabalho.

Aos que fazem o Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Viçosa, pelo ambiente acolhedor, pelos ensinamentos e oportunidade de realização deste curso.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo auxílio financeiro mediante concessão de bolsa.

Ao professor Sérgio Yoshimitsu Motoike, pela orientação e por fornecer todos os meios necessários ao desenvolvimento do trabalho.

Ao professor José Maria Moreira Dias pelos ensinamentos e boas recomendações, pela amizade, incentivo, apoio e disposição em nos ajudar.

À Professora Marília Contin Ventrella, pela disponibilidade em ajudar.

Aos professores Dalmo Lopes de Siqueira e Paulo Roberto Cecon pelas críticas, sugestões, e participação na banca examinadora deste trabalho.

Ao Dr. Antônio de Pádua Alvarenga pelas sugestões e participação na banca examinadora deste trabalho.

Ao pesquisador da EMBRAPA – Meio Norte, Lúcio Flavo Lopes Vasconcelos que sempre torceu por mim.

À Janina, companheira e amiga deste os tempos de graduação, pelo apoio constante e convivência fraterna nesse feliz reencontro em Viçosa.

Aos amigos Neide, Maria Augusta e Marcelo pelos momentos de alegria e descontração.

À secretária do Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, Mara Rodrigues, pela atenção dispensada sempre que precisamos do seu auxílio.

Aos funcionários do Laboratório de Cultivo de Células e Tecidos Vegetais do Departamento de Fitotecnia, Márcio e Cenira.

Aos colegas de Pós-graduação pelo aprendizado em conjunto e convívio descontraído.

A todos que, de alguma forma, contribuíram positivamente para minha formação profissional e realização do presente trabalho, meu sincero agradecimento.

BIOGRAFIA

AURINETE DAIENN BORGES DO VAL, filha de Bernardo José do Val e Maria do Carmo Borges do Val, nasceu em Teresina, Piauí, onde cursou o ensino fundamental e médio.

Em março de 1992, ingressou no Curso de Agronomia da Universidade Federal do Piauí (UFPI), em Teresina-PI, diplomando-se em dezembro de 1997.

Durante o período de maio de 1999 a junho de 2001 trabalhou na Fundação de Apoio à Pesquisa do Corredor de Exportação Norte – FAPCEN, em Balsas – MA, junto aos produtores de sementes de soja da região do Cerrado dos Estados do Maranhão e Piauí. Em agosto de 2001 iniciou trabalhos, como bolsista, na EMBRAPA – Meio Norte, em Teresina, onde permaneceu até julho de 2003.

Em agosto de 2003 iniciou o curso de Mestrado em Fitotecnia na Universidade Federal de Viçosa (UFV), defendendo tese em 25 de agosto de 2005.

ÍNDICE

	Página
RESUMO	ix
ABSTRACT	xi
1. INTRODUÇÃO GERAL	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	3
2.1. Origem e classificação botânica.....	3
2.2. Dormência das sementes	5
2.3. Germinação <i>in vitro</i>	8
CAPÍTULO 1	10
GERMINAÇÃO IN VITRO DE SEMENTES DE UVA <i>VITIS X</i> <i>LABRUSCANA</i> L.H. BAILEY CV. 'NIÁGARA ROSADA' E <i>VITIS</i> <i>VINIFERA</i> L. CV. 'ITÁLIA'	10
RESUMO	10
1. INTRODUÇÃO	12
2. MATERIAIS E MÉTODOS	14
3. RESULTADOS.....	17
3.1. Porcentagem de germinação das sementes.....	17
3.2. Velocidade de germinação das sementes	20
4. DISCUSSÃO	23
5. CONCLUSÕES	27

	Página
CAPÍTULO 2	28
GERMINAÇÃO <i>IN VITRO</i> E <i>EX VITRO</i> DE SEMENTES DE UVA <i>VITIS X LABRUSCANA</i> L.H. BAILEY CV. 'NIÁGARA ROSADA'	28
RESUMO	28
1. INTRODUÇÃO	30
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	32
3. RESULTADOS.....	36
3.1. Porcentagem de germinação das sementes.....	36
3.2. Velocidade de germinação das sementes	37
4. DISCUSSÃO	39
5. CONCLUSÕES	42
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	43
APÊNDICES	47

RESUMO

VAL, Aurinete Daienn Borges do, M.S. Universidade Federal de Viçosa, agosto de 2005. **Quebra de dormência de sementes das videiras 'niágara rosada' e 'itália'**. Orientador: Sérgio Yoshimitzu Motoike. Conselheiros: José Maria Moreira Dias e Marília Contin Ventrella.

A viticultura possui um relevante papel econômico, social e cultural na fruticultura nacional e mundial. No Brasil, a atividade apresentou uma considerável expansão nas últimas décadas, tanto pelo aumento da área cultivada nas regiões tradicionais, como pelo surgimento de novos pólos de produção. Atualmente, a grande maioria das cultivares comerciais utilizadas no Brasil é oriunda de zonas temperadas. Por conta disso, nos programas de melhoramento da videira busca-se a obtenção de cultivares adaptados às diferentes regiões do país, que apresentem alta produtividade e resistência às principais doenças fúngicas, bem como qualidade compatível com as exigências do mercado. Dentro desse processo de melhoramento da cultura, o baixo índice e o longo período requerido para a germinação das sementes são os principais gargalos. A baixa germinação dessas sementes é atribuída à dormência, que segundo a literatura é causada pela ação de inibidores químicos presentes nas sementes e/ou fruto. Em geral, os métodos utilizados atualmente na quebra dessa dormência são o uso do ácido giberélico e da estratificação. No entanto, esses métodos proporcionam porcentagens de

germinação que raramente ultrapassam o valor de 50%, além de demandar um considerável período de tempo para a germinação. Os objetivos gerais desse trabalho foram avaliar tratamentos físicos e químicos aplicados às sementes, bem como o efeito das condições *in vitro* e *ex vitro* sobre a porcentagem e velocidade de germinação dessas sementes. Os tratamentos físicos aplicados às sementes consistiram em cortes nas regiões mediana e da micrópila. A imersão das sementes em soluções de ácido giberélico com diferentes concentrações por 24 horas foi o tratamento químico utilizado. No ambiente *in vitro* as sementes foram inoculadas em tubos de ensaio contendo meio MS e na condição *ex vitro* utilizou-se o substrato Plantmax®, esterilizado e distribuído em caixas de Gerbox de dimensões 63 x 98 mm. Os tratamentos físicos foram fundamentais para a porcentagem e velocidade de germinação das sementes dentro do período de avaliação do experimento. O GA₃ teve efeito significativo na germinação das sementes das duas espécies utilizadas, *Vitis vinifera* L. cv. 'Itália' e *Vitis x Labruscana* L.H. Bailey cv. 'Niágara Rosada', entretanto, somente a velocidade de germinação do cv. 'Itália' foi aumentada com o uso de ácido giberélico. Observou-se também que o ambiente *in vitro* não é imprescindível à germinação das sementes e que apesar de apresentar menor porcentagem, a germinação ocorreu normalmente em ambiente *ex vitro*.

ABSTRACT

VAL, Aurinete Daienn Borges do, M.S. Universidade Federal de Viçosa, August 2005. **Breaking the dormancy of grapevine seeds 'niágara rosada' and 'itália'**. Adviser: Sérgio Yoshimitzu Motoike. Committee Members: José Maria Moreira Dias and Marília Contin Ventrella.

Viticulture plays a very important economic, social and cultural role in the national and world horticulture. In Brazil, the activity has grown considerably in the last decades, increasing the area cultivated in traditional regions, as well as bringing about new production regions. Recently, most commercial cultivars used in Brazil come from temperate regions. For these reasons, grapevine breeding programs aim for obtaining cultivars adapted to the different regions of the Country, which have high productivity and resistance to the main fungal diseases, as well as meeting the quality market demands. Within the process of grape breeding, the low rate and long period for seed germination are the main bottlenecks. Low germination, according to the literature, is attributed to dormancy, which is caused by the action of chemical inhibitors present in the seeds and/or fruit. In general, the current methods used for overcoming seed dormancy are gibberellic acid application and stratification. However, these methods provide germination rates rarely surpassing 50%, and demand a long period of time for germination. The objectives of this work were to evaluate physical and chemical treatments applied to the seeds, as well as the effect of

in vitro and *ex vitro* conditions on the rate and speed of germination of these seeds. Physical treatments applied to seeds were done by cuts on the middle of the seeds and at the micropyle regions. Chemical treatment used was immersion of the seeds in gibberellic acid solution with different concentrations during 24 hours. Seeds treated were inoculated *in vitro* in MS medium, and at *ex vitro* condition in sterilized Plantmax® substratum distributed in Gerbox boxes with dimensions of 63 x 98 mm. The physical treatments applied were fundamental for the rate and speed of seed germination within the period of evaluation of the experiment. GA3 had significant effect on seed germination for both species, *Vitis vinifera* L. cv. 'Italia' and *Vitis x Labruscana* L.H. Bailey cv. 'Niagara Rosada'. However, the speed of germination of cv.' Italia' was the only increased with the gibberellic acid application. It was also verified that *in vitro* environment is not essential to germination, and in spite of presenting lower rate and speed, the germination occurred normally at *ex vitro* environment.

1. INTRODUÇÃO GERAL

O melhoramento genético da videira, como de outras espécies vegetais, tem em sua essência a realização de hibridações controladas para gerar a necessária variabilidade. Devido às características morfo-anatômicas da flor, esse procedimento é árduo e meticuloso.

A realização de hibridações controladas na cultura da videira requer a emasculação para a eliminação do androceu nos genitores femininos, uma vez que nos cultivares comerciais as flores são hermafroditas. Devido à inflorescência da videira, do tipo cacho com botões florais minúsculos e em grande número, o rendimento operacional da emasculação é muito baixo, além de exigir pessoal especializado para o trabalho. Em média, são realizados em torno de 10 cachos em um dia de trabalho. Aliado a este fato, o período do início do florescimento, quando os estigmas estão receptivos, para a realização dos cruzamentos, é muito curto, em torno de três dias, e todo o trabalho tem que ser concentrado neste curto período. Um outro aspecto é o baixo número de sementes por baga, que é de no máximo quatro sementes, o que leva a necessidade de se realizar grandes números de cruzamentos.

Contudo, a síntese do processo reflete-se, ao final, nas sementes obtidas, que vão originar os novos indivíduos para início da seleção. Dessa forma, as sementes obtidas a partir dos cruzamentos controlados em um programa de melhoramento, são materiais de propagação muito importantes para produzir novas variedades de uvas para propósitos especiais.

Entretanto, a relevância das sementes de videira para o melhoramento genético coexiste com um problema, o baixo índice de germinação da semente Pommer *et al.* (1988). Ergenoglu *et al.* (1997), estudando a germinação de sementes de *Vitis vinifera* cv. 'cardinal', 'tarsus bevari' e 'itália' durante dois anos, obtiveram no tratamento controle a porcentagem de germinação média de 5,9, 2,0 e 4,4, respectivamente. Pommer *et al.* (1988), estudando o efeito da estratificação na germinação de sementes de *Vitis x labruscana* cv. 'niágara rosada', observaram que as sementes do tratamentos testemunha não germinaram.

A baixa germinação da semente de uva tem sido atribuída pela maior parte dos autores, incluindo Ellis *et al.* (1983), Gray & Meredith (1992) e Reisch & Pratt (1996), à dormência da semente. Segundo os mesmos autores, a estratificação (3 a 5°C), por intervalos de 60 a 90 dias é o método mais utilizado para a quebra de dormência da semente da uva. Porém, este tratamento raramente promove a germinação de todas as sementes, ficando a média em torno de 50% (Ellis *et al.*, 1983).

Portanto, a baixa germinação da semente de uva constitui-se, atualmente, em um gargalo do processo de melhoramento genético da videira, o qual tem de ser compensado pela realização de cruzamentos em um maior número de inflorescências, para a obtenção de progênies com um número mínimo de indivíduos para posterior seleção.

Por outro lado, os recursos humanos e financeiros limitados dos programas de pesquisa no Brasil e no mundo levam a necessidade de se buscar técnicas que aumentem a eficiência do processo de hibridação controlada da videira. Uma das formas de se aumentar a sua eficiência é aumentando a germinação das sementes. Isto levaria, conseqüentemente, à redução do número de cruzamentos e dos custos em um programa de melhoramento genético.

O presente trabalho teve por objetivo estudar o efeito de diferentes fatores relacionados com a quebra de dormência da semente da videira.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Origem e classificação botânica

A videira surgiu no período terciário, provavelmente na atual Groenlândia, de onde se dispersou seguindo duas direções principais, uma américo-asiática e outra eurasiática (Sousa , 1996).

Vestígios de sementes e de pólen encontrados permitem afirmar que o gênero *Vitis* estava difundido no final da era Terciária em todo o hemisfério norte, representado por duas categorias de sementes: umas rugosas ou estriadas (*Vitis ludwiggi*) e outras lisas (*Vitis teutonica*) que representam os antecessores das Muscadíneas e das Euvitis atuais, respectivamente (Alvarenga *et al.*, 1998). Uma hipótese provável considera que todas as espécies desaparecidas ou atuais foram derivadas de um arquétipo cuja existência é sugerida pelas modalidades das meioses dos híbridos (Giovannini,1999; Pommer, 2002)

Durante a era glacial, a videira restringiu-se a áreas que permitiam a sobrevivência da espécie, atualmente consideradas centros de origem: um americano, um europeu e um asiático-ocidental. O centro asiático-ocidental compreende as áreas ao sul do mar Negro, na região do Cáucaso, enquanto que o centro europeu corresponde atualmente às regiões próximas ao mar mediterrâneo, de onde se originaram espécimes da *Vitis vinifera caucasiana* e

Vitis vinifera silvestres, respectivamente, consideradas as precursoras da *Vitis vinifera* (Sousa, 1996; Alvarenga et al., 1998).

As videiras são arbustos sarmentosos e trepadores, pertencentes à classe das Dicotiledôneas, ordem Rhamnales e família das Vitáceas, que compreende cerca de 11 gêneros vivos e dois gêneros fósseis e mais de 1000 espécies, amplamente distribuídas nas zonas tropicais e subtropicais, e que se estende até as regiões temperadas (Giovannini, 1999; Pommer, 2002).

Os gêneros *Parthenocissus*, *Ampelopsis* e *Cissus* possuem espécies de importância ornamental, enquanto que o gênero *Vitis* é de grande importância econômica e alimentar (Sousa, 1996).

A classificação feita por Gallet (1967), baseada na morfologia das espécies e na origem agrupa o gênero *Vitis* em duas seções ou subgêneros: o *Muscadinea* que possui 40 cromossomos, gavinhas simples, córtex estriado e aderente, bagas pouco açucaradas e nós sem diafragma, e o *Euvitis* com 38 cromossomos, gavinhas bifurcadas, córtex esfoliável e nós com diafragma. (Alvarenga et al., 1998; Pommer, 2002).

De acordo com a classificação de Galet (1967), o subgênero *Muscadínea* é composto por três espécies, *V. rotundifolia*, *V. munsonisna* e *V. popenoeil*, sendo constituído por videiras exclusivamente do sudeste dos Estados Unidos e México. (Sousa, 1996; Pommer, 2002).

O subgênero *Euvitis* é composto por 11 séries: *Candicansae*, *Labruscae*, *Caribaeae*, *Arizonae*, *Cinereae*, *Aestivalae*, *Cordifoliae*, *Flexuosae*, *Spinosa*, *Ripariae* e *Viniferae*. As estimativas do número de espécies do *Euvitis* variam muito, dependendo da opinião taxonômica, prolongando-se de 28 a 43. Estas são separadas em um grupo Americano de 18-28 espécies, em um grupo Asiático de 10-15 espécies e um grupo Europeu ou Asiático central com uma espécie (*Vitis vinifera* L.) (Alvarenga et al., 1998).

As espécies de cada subgênero *Muscadinea* (40 cromossomos) e *Euvitis* (38 cromossomos) são interférteis, sendo apenas parcialmente férteis entre os subgêneros, sendo difícil obtenção de híbridos viáveis, que apresentam 39 cromossomos. As espécies da seção *Euvitis* são férteis entre si e separadas apenas por barreiras geográficas, fenológicas e ecológicas (Reisch & Pratt, 1996).

A espécie *Vitis vinifera*, a uva do velho mundo ou europeu, originou mais de 14000 cultivares, desenvolvendo hoje, em muitas das áreas de uva no mundo. Com a exceção das variedades muscadines, muitas uvas cultivadas são variedades puras ou híbridos de *V. vinifera*. A domesticação de *Vitis vinifera* e a conseqüente constatação da sua grande diversidade morfológica e genética, aliadas à fácil propagação vegetativa, proporcionaram o surgimento de elevado número de cultivares (Reisch & Pratt, 1996; Pommer, 2002).

Formas poliplóides de videira aparecem espontaneamente em muitas regiões, o que leva a crer que se trata de uma estratégia de sobrevivência da espécie. Os ramos poliplóides podem surgir de gemas laterais formadas nas adjacências dos ferimentos da poda, provavelmente pela duplicação somática em células meristemáticas (Pommer, 2002).

Do ponto de vista do melhoramento, não mais de 10-15 espécies representam importantes fontes de germoplasma. As espécies americanas da secção *Euvitis* constituem a base para a obtenção de todos os portas-enxertos utilizados atualmente na viticultura, enquanto que as espécies de origem asiática, principalmente a *Vitis amurensis* Ruprecht, desperta interesse para o melhoramento por sua elevada resistência ao frio (Alvarenga *et al.*, 1998; Giovannini, 1999).

A *Vitis rotundifolia* Michaux, a principal espécie da secção muscadínea, é bastante utilizada como fonte genética de resistência a patógenos. A *Vitis vinifera* é amplamente utilizada em trabalhos de melhoramento, sendo a principal espécie para a elaboração de vinhos e seus derivados, para consumo *in natura* e para a produção de passas (Giovannini, 1999).

2.2. Dormência das sementes

Definem-se como dormentes as sementes que não germinam mesmo quando submetidas a condições ambientais aparentemente favoráveis, pois apresentam alguma restrição interna à germinação. Dessa forma, a dormência em sementes é causada por um bloqueio situado na própria semente (Cardoso, 2004).

O fenômeno da dormência é tido como um recurso pelo qual a natureza distribui a germinação das sementes ao longo do tempo. A dormência também

é considerada como um mecanismo que funciona como um sensor remoto, que controla a germinação, de modo que esta venha a ocorrer, não somente quando as condições ambientais sejam propícias para a própria germinação, mas também para o crescimento da planta (Carvalho & Nakagawa, 2000).

A dormência de sementes pode ser devido à imaturidade do embrião, impermeabilidade do tegumento da semente à água ou gases, prevenção do desenvolvimento do embrião devido causas mecânicas, necessidades especiais de luz ou temperatura ou ainda a presença de substâncias inibidoras da germinação (Mayer & Mayber, 1975).

Baseando-se na causa da incapacidade germinativa da semente viva sob condições ambientais favoráveis, a dormência pode ser classificada em diferentes categorias: impermeabilidade do tegumento à água e/ou oxigênio, embrião imaturo ou rudimentar, embrião dormente, restrições mecânicas ou resistência ao crescimento do embrião e combinação de causas (Popinigis, 1977; Fraga, 1982; Ferri, 1986).

O método a ser empregado na superação da dormência depende da origem. Em caso onde o motivo seja impermeabilidade e restrições mecânicas do tegumento à água e/ou oxigênio, práticas como imersão em solventes (água quente, álcool, acetona e outros), escarificação mecânica ou química utilizando ácido sulfúrico, resfriamento rápido, exposição à alta temperatura, aumento da tensão do oxigênio e choque e impactos contra superfícies duras poderão resolver o problema. Presença de embrião dormente ou rudimentar são outras situações que levam as sementes à dormência, onde o emprego de estratificação à baixa temperatura e de substâncias promotoras de germinação podem levar ao fim do período de latência (Fraga, 1982).

Walker (1970) propôs o conceito de balanço entre os dois grupos de compostos presentes nas sementes - inibidores e promotores. Se a semente contém mais unidades inibidoras que promotoras, então ela permanece dormente e não germina, quando as unidades promotoras superam em número as inibidoras, a germinação ocorre sob condições ambientais ótimas. A superação da dormência da semente é acompanhada por pronunciadas mudanças no equilíbrio hormonal, envolvendo as giberelinas (Halinska *et al.*, 1987), as auxinas (Côme, 1981) e as citocininas (Zhang & Lespinasse, 1991). Além disto, as interações entre estes fitorreguladores afetam a superação da

dormência e a subsequente germinação das sementes (Dunlap & Morgan, 1977).

As sementes de uva geralmente germinam insuficientemente. A germinação de sementes de uva é muito pobre se influências indutivas, tais como estratificação, resfriamento, reguladores de crescimento não são aplicados.

As sementes de videira têm um revestimento duro de espessura variável, rico em tanino (Terra *et al.*, 1993; Reisch & Pratt, 1996), substância que de acordo com Carvalho & Nakagawa (2000), juntamente com a suberina, lignina, cutina, pectina e outros derivados da quinona são exemplos de compostos presentes no tegumento das sementes que conferem impermeabilidade à água.

A escarificação, tanto química como física, é um método empregado para sobrepor os efeitos do envoltório que interfere na absorção de água, nas trocas gasosas e que impede a saída de inibidores presentes no interior das sementes (Cardoso, 2004).

De acordo com Amen (1987), o tegumento de sementes como as da espécie *Luzula spicata*, por exemplo, exibe uma impermeabilidade parcial ao oxigênio e à água, e que um inibidor da germinação, possivelmente o ácido abscísico, está concentrado na região micropilar dessas sementes. Dessa forma, a principal maneira de aumentar a germinação é a remoção da região da micrópila das sementes, o que permitiria a entrada do oxigênio para o interior, oxidando o agente inibidor, bem como, permitiria a saída da radícula pela proximidade entre o corte realizado e o embrião da semente.

Chohan & Dhillon (1976) estudando as relações entre diferentes períodos de estratificação e a quantidade de substâncias inibidoras tipo ácido abscísico, auxinas e giberelinas presentes em sementes de uva observaram que existiu um aumento no percentual de germinação de sementes com a extensão do período de estratificação acima de 60 dias, após o qual ele declinou. Esta germinação máxima de sementes após o período de 60 dias de estratificação coincide com a fase de maior atividade de giberelinas. Esses resultados mostram que não foi apenas o nível dos inibidores que controlou a germinação das sementes, mas que também foi relativo ao nível das substâncias promotoras de crescimento.

A exposição de sementes de uvas a baixas temperaturas por longos períodos é o método recomendado como sendo o mais eficiente na quebra de dormência.

Celik *et al.* (2001) concluíram que sementes de uvas facilmente germinaram quando estratificadas sob baixas temperaturas ($\pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$) por vários meses. Quando a estratificação procede, giberelinas são sintetizadas ou liberadas a partir da forma ligada.

A germinação satisfatória de sementes de uva geralmente ocorre somente após um período de maturação em aproximadamente $18\text{ }^{\circ}\text{C}$ seguida por um período de estratificação fria de aproximadamente $5\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Pandey & Singh, 1988).

Além do ácido giberélico (GA_3), vários outros reguladores químicos de plantas, além do ácido giberélico, como a tiuréia, ácido indol acético, quinetina, etefon e cianamida foram verificados para substituição completa ou parcial das condições necessárias para melhorar a germinação das sementes, no entanto foram pouco eficientes se comparados com o uso do GA_3 associado com a estratificação. Contudo, a utilização dessa metodologia demanda tempo para o início do processo germinativo.

2.3. Germinação *in vitro*

A germinação *in vitro* é um procedimento recomendado, por alguns pesquisadores, pois permite uma disponibilidade estável de luz e umidade ao longo do período de duração dos experimentos, além de permitir um controle eficiente de contaminações microbianas (Vázquez-Yanes & Orozco-Segovia, 1996).

Estudos de meios de cultura que favoreçam a germinação *in vitro* são importantes tanto para maximizar a taxa de germinação, como para obter plântulas axênicas, vigorosas e bem formadas.

Com o desenvolvimento de técnicas de propagação *in vitro*, tornou-se possível, obter plântulas viáveis em menos tempo. Isto pode ser obtido em meios de cultura adequados que permitam a superação da dormência, o desenvolvimento embrionário e a germinação (Nakayama *et al.*, 1974).

A obtenção de um protocolo para o estabelecimento *in vitro* de plantas provenientes de sementes é importante, pela obtenção de plantas axênicas, além de proporcionar oportunidade de manutenção de bancos de germoplasma *in vitro* (Passos *et al.*, 2004).

Durante o cultivo *in vitro*, as soluções de minerais nutrientes e açúcares que compõem os meios de cultura não exercem efeito puramente nutritivo, mas também influenciam a atividade celular e a morfogênese por meio das propriedades osmóticas (George, 1996). Diversas formulações de meios básicos têm sido utilizadas no cultivo *in vitro*. Não há uma formulação-padrão, mas o meio MS (Murashine & Skoog, 1962), original ou modificado, e contendo diferentes doses de distintos fitorreguladores, tem sido utilizado com sucesso para diversas espécies (Dantas *et al.*, 2002). Com relação à fonte de carbonos (carboidratos), alguns autores consideram os carboidratos meramente uma fonte de energia; enquanto que outros o consideram como principal fator de controle da pressão osmótica (Sousa-Lang & Pinto Junior, 1996).

Para a germinação de sementes, empregam-se usualmente meios de cultivo no estado sólido, pois além de suporte adequado, proporciona a umidade relativa constante e condições aeróbicas adequadas para uma boa germinação.

CAPÍTULO 1

GERMINAÇÃO IN VITRO DE SEMENTES DE UVA *VITIS X LABRUSCANA* L.H. BAILEY CV. 'NIÁGARA ROSADA' E *VITIS VINIFERA* L. CV. 'ITÁLIA'

RESUMO

O presente trabalho foi desenvolvido no Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Viçosa com o objetivo de verificar o efeito de tratamentos físicos e químicos na porcentagem e velocidade de germinação, em ambiente *in vitro*, de sementes de videira (*Vitis* sp.). Os tratamentos químicos consistiram da aplicação de cinco doses de ácido giberélico: 0, 1000, 2000, 3000 e 4000 mg L⁻¹, as quais foram aplicadas às sementes inteiras através da imersão em solução aquosa de GA₃ por 24 horas, antes do tratamento físico. Os tratamentos físicos consistiram em cortes transversais nas regiões medianas e da micrópila das sementes. Foram usadas sementes extraídas de frutos maduros e selecionados das espécies *Vitis x Labruscana* L.H. Bailey cv. 'niágara rosada' e *Vitis vinifera* L. cv. 'itália', provindos de vinhedos comerciais, os quais foram adquiridos no comércio local. As sementes foram removidas, manualmente, das bagas e lavadas em água corrente e seca sobre papel toalha sob condição ambiente, onde permaneceram por uma noite. O meio de cultura utilizado foi o MS acrescido de vitaminas de White (1951), 2,5 g L⁻¹ carvão ativado, 30 g L⁻¹ de sacarose, 100

mg L⁻¹ de mio-inositol e ágar Isofar® 8 g L⁻¹, distribuído em tubos de ensaio. O experimento foi um fatorial do tipo 2 x 5 no delineamento em blocos ao acaso com 4 repetições, sendo cada repetição constituída de uma grade com 25 tubos de ensaio cada, com 1 semente por tubo. O período de avaliação do experimento foi de 28 dias. Através dos resultados, pode-se concluir que tratamento físico na semente foi essencial à germinação, sendo o corte na micrópila das sementes proporcionou a maior precocidade e porcentagem de germinação. O ácido giberélico teve efeito significativo na porcentagem de germinação *in vitro* das sementes de uva, entretanto, somente a velocidade de germinação da cv. 'Itália' foi aumentada com o uso do GA₃, sendo o seu efeito não significativo para a cultivar 'niágara rosada'.

1. INTRODUÇÃO

A espécie *Vitis vinifera*, forma o agrupamento de uvas do velho mundo ou europeu. É a uva da antiguidade, sendo nativa do sul da Europa, na região entre os mares Negro e Cáspio. As variedades dessa espécie são responsáveis pela maior parte da produção mundial. A introdução das variedades 'itália', 'cardinal', 'perlette' e 'flame seedless' nos pomares comerciais de uva de mesa foi um grande avanço na viticultura mundial durante o século 20. As cultivares 'cardinal' e 'itália' são cultivados, cada uma em mais de 20. 000 ha por todo o mundo (Gray & Meredith, 1992; Alvarenga *et al.*, 1998).

No Brasil, a 'Itália' é a mais importante cultivar de uvas finas no Brasil. É resultado do cruzamento entre os cultivares 'bicane' x 'moscatel de hamburgo', realizado na Europa no início do século passado e foi introduzida no Brasil por volta de 1930-1935 no estado de São Paulo (Terra *et al*, 1993; Souza, 1996).

A espécie *Vitis x labruscana* L.H. Bailey tem origem norte-americana. As espécies labruscanas são de grande importância na viticultura brasileira. Os cultivares Niágara Rosada e Isabel são responsáveis pela maior parte da produção nacional de uva de mesa popular ou comum, do tipo de uvas para chupar, além de serem utilizadas na produção de sucos e de vinhos (Souza, 1996).

A cultivar 'niágara rosada' surgiu de uma mutação somática natural da 'niágara branca', diferindo-se desta pela cor, o que a torna mais atraente ao consumidor brasileiro.

De acordo com Pommer (2002), a uva 'itália' foi utilizada entre os anos de 1978 a 1985, como genitor feminino em 11,2% de todos os cruzamentos realizados pelo programa de melhoramento de videiras do Instituto Agrônomo de Campinas - IAC, ficando atrás apenas da 'niágara rosada', que foi usado em 24,2% das hibridações controladas.

Híbridos complexos entre *V. vinifera* e várias espécies americanas nativas também foram desenvolvidos na Europa e formam uma série de híbridos tolerantes ou resistentes a doenças, que são principalmente, usadas para produção de vinho (Gray & Meredith, 1992).

Atualmente, a propagação seminífera da uva não tem valor prático nos pomares comerciais. Entretanto, as sementes obtidas a partir da combinação entre genitores, realizada em programas de melhoramento são materiais de propagação muito importante para produzir novos cultivares de uvas, seja para mesa, vinho, sucos ou porta-enxertos.

Contudo, as sementes das videiras apresentam baixa porcentagem de germinação. Os principais métodos empregados na quebra de dormência proporcionam uma taxa de germinação que em geral, não ultrapassam 50% de germinação.

Ergenoglu *et al.* (1997) obtiveram porcentagens de germinação de 28,7 e 29,6%, considerados os melhores resultados, ao utilizarem a imersão por 24 horas em ácido giberélico a 500 e 1000 mg L⁻¹, respectivamente, como método de quebra de dormência para sementes da uva 'itália'.

O estudo de novas alternativas que visem o aumento da eficiência do processo germinativo é desejável, uma vez que as metodologias empregadas atualmente apresentam uma baixa eficiência na quebra da dormência, e para tanto demandam um considerável período de tempo.

O presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito de tratamentos químicos e físicos na quebra de dormência de sementes de videira, cvs. 'niágara rosada' e 'itália'.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

O presente trabalho foi realizado no Laboratório de Cultura de Células e Tecidos Vegetais do Departamento de Fitotecnia, da Universidade Federal de Viçosa, e foi constituído de dois experimentos.

Nestes experimentos foram estudados os efeitos de dois fatores: tratamentos físicos e tratamentos químicos.

Os tratamentos físicos consistiram em um corte transversal na região mediana (Figura 1a) ou na eliminação da região da micrópila da semente (Figura 1b).

Os tratamentos químicos consistiram da aplicação de cinco doses de ácido giberélico: 0, 1000, 2000, 3000 e 4000 mg L⁻¹, as quais foram aplicadas através da imersão em solução aquosa de GA₃ por 24 horas, antes do tratamento físico.

Os tratamentos físicos foram aplicados às sementes, utilizando-se bisturi e alicate de cutícula, sendo os mesmos realizados nas sementes após o período de embebição em GA₃.

O período de avaliação do experimento foi de 28 dias, durante o qual foram realizadas 4 leituras do número de sementes germinadas. A primeira leitura ocorreu aos sete dias após a inoculação, e as demais aos 14, 21 e 28 dias.

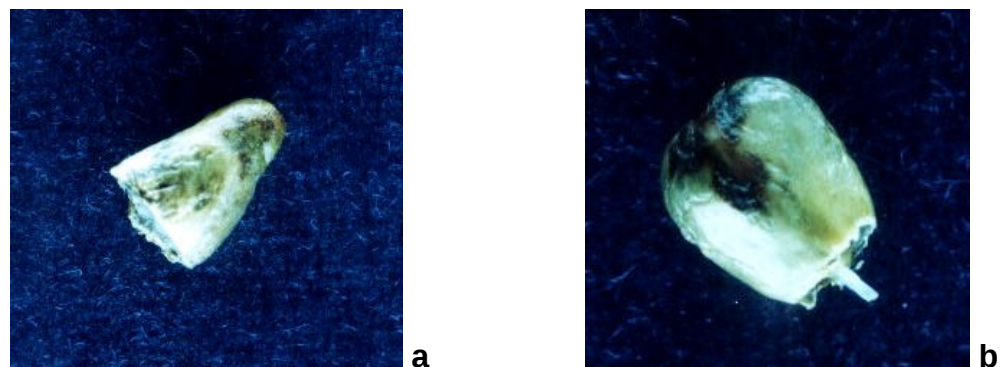


Figura 1 – Tratamentos físicos aplicados às sementes de uva, cvs. 'niágara rosada' e 'itália'. (a) corte na região mediana; (b) corte na região da micrópila.

Antes da instalação dos experimentos definitivos, foram realizados ensaios preliminares onde se utilizou ambiente *in vitro* para a germinação de sementes inteiras e cortadas tratadas com ácido giberélico. Foi verificado que as sementes inteiras não germinaram durante o período de observação de 28 dias, o que levou a sua exclusão nos experimentos.

O experimento foi um fatorial do tipo 2 x 5 no delineamento em blocos ao acaso, com 4 repetições, sendo cada repetição constituída de uma grade com 25 tubos de ensaio cada, com 1 semente por tubo.

As sementes utilizadas neste trabalho foram extraídas de frutos maduros e selecionados, provenientes de vinhedos comerciais, os quais foram adquiridos no comércio local. As sementes foram removidas, manualmente, das bagas, lavadas à continuação em água corrente e postas a secar sobre papel toalha sob condições ambiente, onde permaneciam por uma noite.

Passado esse tempo, as sementes foram desinfestadas e posteriormente submetidas aos tratamentos com ácido giberélico. O protocolo de desinfestação consistiu na imersão em uma solução de fungicida mais água, na proporção de 2,5% (p/v), por um período de 15 minutos, álcool etílico hidratado 92,8º por um minuto, seguidas de hipoclorito de sódio a 5% por 40 minutos. As imersões, em cada uma das soluções, eram seguidas de três lavagens com água desionizada estéril.

Após o período de embebição nas soluções de GA₃, as sementes inteiras foram retiradas das soluções, submetidas aos tratamentos físicos e

inoculadas em tubos de ensaio, contendo 10 mL de meio MS (Murashine & Skoog, 1962), acrescido de vitaminas de White (1951), 2,5 g L⁻¹ de carvão ativado, 30 g L⁻¹ de sacarose, 100 mg L⁻¹ de mio-inositol e ágar Isofar® 8 g L⁻¹.

A seguir foram inoculadas em sala de cultivo com temperatura controlada de 27 ± 2 °C e fotoperíodo de 16/8 luz/escuro e irradiância de 52 µMol m⁻² s⁻¹, fornecidas por tubos fluorescentes luz do dia e 40 W de potência. O período de incubação foi de 45 dias.

O meio utilizado teve o pH ajustado para 5,7 ± 0,1 antes da distribuição em tubos de ensaio, e então autoclavado durante 20 minutos à temperatura de 121 °C.

Foram realizadas as seguintes avaliações: porcentagens de germinação e velocidade de germinação (VG), em dias. A velocidade de germinação foi calculada através da fórmula descrita por Vieira & Carvalho (1994).

$$VG = \frac{(N1.G1) + (N2.G2) + \dots + (Nn.Gn)}{G1 + G2 + \dots + Gn} , \text{ onde:}$$

G1, G2, ..., Gn = número de plântulas normais computadas na primeira, segunda e última contagem;

N1, N2, ..., Nn = número de dias da inoculação à primeira, na segunda e última contagem.

Apenas as sementes que originaram plântulas normais foram consideradas na avaliação.

Os dados foram submetidos aos Testes de Lilliefors e de Cochran para verificação da normalidade e homogeneidade do erro.

Atendidas as essas exigências, os dados foram submetidos à análise de variância, utilizando-se o teste F aos níveis de probabilidade de 1 e de 5%.

Para melhor análise dos efeitos dos tratamentos físicos e das doses de ácido giberélico nas variáveis estudadas, convencionou-se avaliar apenas a interação entre os fatores, independente da sua significância.

Os fatores qualitativos tiveram suas médias submetidas ao teste de Tukey a 5% de probabilidade, enquanto que os quantitativos foram submetidos à análise de regressão. (Pommer *et al.*, 1988; Pinheiro *et al.* 2001).

3. RESULTADOS

3.1. Porcentagem de germinação das sementes

Baseados nos resultados da porcentagem de germinação (Quadro 1) pode-se afirmar que o efeito do corte na micrópila das sementes da uva 'itália' foi superior ao corte na metade para todas as concentrações, com exceção da dosagem de 2000 mg L⁻¹.

Quadro 1 – Valores médios da germinação das sementes de uva cv. 'itália' (%) em função dos tratamentos físicos e químicos

Concentrações de Ácido giberélico (mg L ⁻¹)	Tratamento físico	
	Corte na metade	Corte na micrópila
0	48,0 b	87,0 a
1000	76,0 b	96,0 a
2000	77,0 a	85,0 a
3000	69,0 b	87,0 a
4000	76,0 b	91,0 a
CV(%)	11,67	

Médias seguidas pela mesma letra na linha não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Ao estudar os efeitos das concentrações para os respectivos tratamentos físicos, não se verificou efeitos das concentrações para o tratamento físico corte na micrópila, sendo o valor $y = 89,20\%$ (Figura 2). Já para o tratamento corte na metade verificou-se o efeito das concentrações de ácido giberélico, tendo a máxima germinação de 76.8% encontrada para a germinação de ácido giberélico de 2118,09 mg L⁻¹.

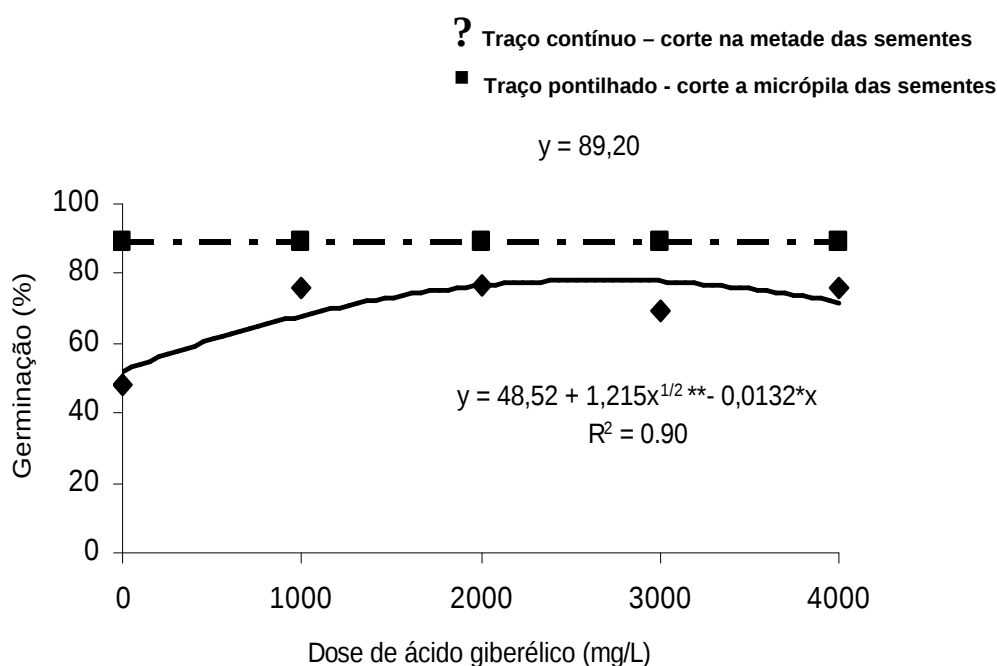


Figura 2 – Estimativa da porcentagem de germinação das sementes de uva cv. 'itália' em função das doses de ácido giberélico para os respectivos tratamentos físicos.

Para a cultivar 'niágara rosada', não houve diferença estatística entre os tratamentos físicos nas concentrações utilizadas, com exceção das doses de 0 e 4000 mg L⁻¹, sendo, com essas concentrações, o corte na micrópila superior ao corte na metade (Quadro 2).

Para essa mesma cultivar e de acordo com a equação de regressão referente ao efeito das dosagens de GA₃ na porcentagem de germinação dentro do tratamento corte na micrópila, ocorreu um aumento de 0,006 pontos na porcentagem a cada incremento unitário de GA₃ utilizado (Figura 3).

Quadro 2 – Valores médios da germinação das sementes do cv. 'niágara rosada' (%) em função dos tratamentos físicos e químicos

Concentrações de ácido giberélico (mg L ⁻¹)	Tratamento físico	
	Corte na metade	Corte na micrópila
0	19,0 b	52,5 a
1000	51,0 a	58,0 a
2000	53,0 a	64,0 a
3000	67,0 a	69,0 a
4000	59,0 b	76,0 a
CV(%)	27,91	

Médias seguidas pela mesma letra na linha não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a de 5% de probabilidade.

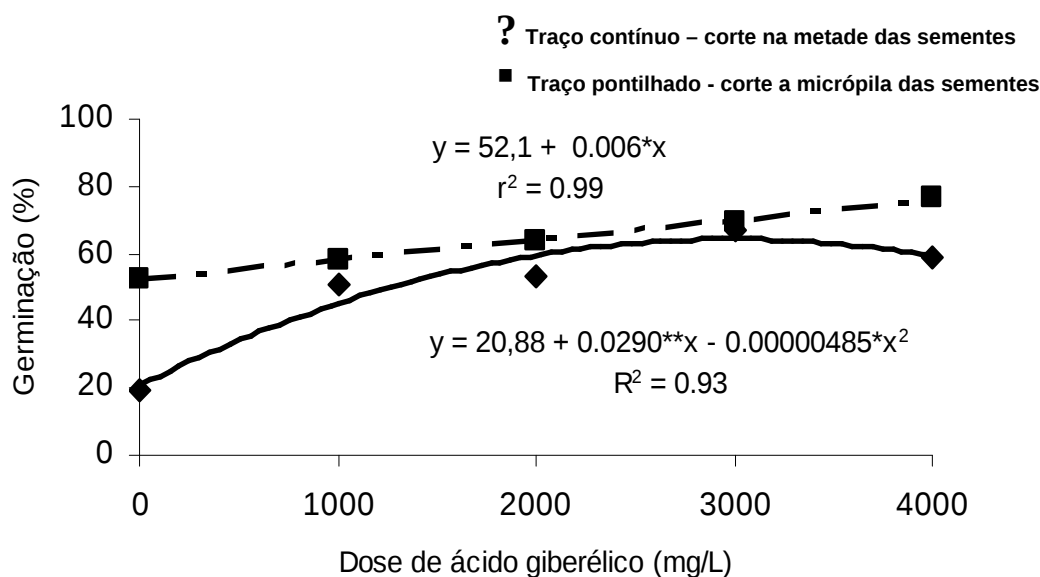


Figura 3 – Estimativa da porcentagem de germinação das sementes de uva cv. 'niágara rosada' em função das doses de ácido giberélico para os respectivos tratamentos físicos.

O efeito do GA₃ dentro do tratamento corte ao meio das sementes permitiu uma germinação máxima de 64,23% associada à concentração de 2989,69 mg L⁻¹ de GA₃ (Figura 2).

3.2. Velocidade de germinação das sementes

A aplicação de diferentes tratamentos físicos às sementes de uva cv. 'Itália' não surtiu efeito significativo para as respectivas doses de GA₃ (Quadro 3).

Quadro 3 – Valores médios da velocidade de germinação das sementes de uva cv. 'itália', em dias, em função dos tratamentos físicos e químicos

Concentrações de ácido giberélico (mg L ⁻¹)	Tratamento físico	
	Corte na metade	Corte na micrópila
0	10,90 a	8,86 a
1000	10,69 a	9,31 a
2000	10,35 a	8,18 a
3000	9,75 a	7,07 a
4000	9,81 a	7,00 a
CV(%)	15,93	

Médias seguidas pela mesma letra na linha não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a nível de 5% de probabilidade.

Com relação ao efeito das doses de ácido giberélico, dentro de sementes cortadas ao meio, este, não foi significativo para a velocidade de germinação. Já para as sementes cortadas na micrópila, o efeito foi linear (Figura 4). A equação da regressão indica que houve um decréscimo na velocidade de germinação dessas sementes à medida que havia um incremento de ácido giberélico.

Para a cultivar 'niágara rosada', o efeito do corte da micrópila das sementes foi superior em relação ao efeito do corte na metade para as doses 1000 e 2000 mg L⁻¹ (Quadro 4).

Já o efeito das doses do ácido giberélico não foi significativo na velocidade de germinação em nenhuma das circunstâncias testadas (Figura 5).

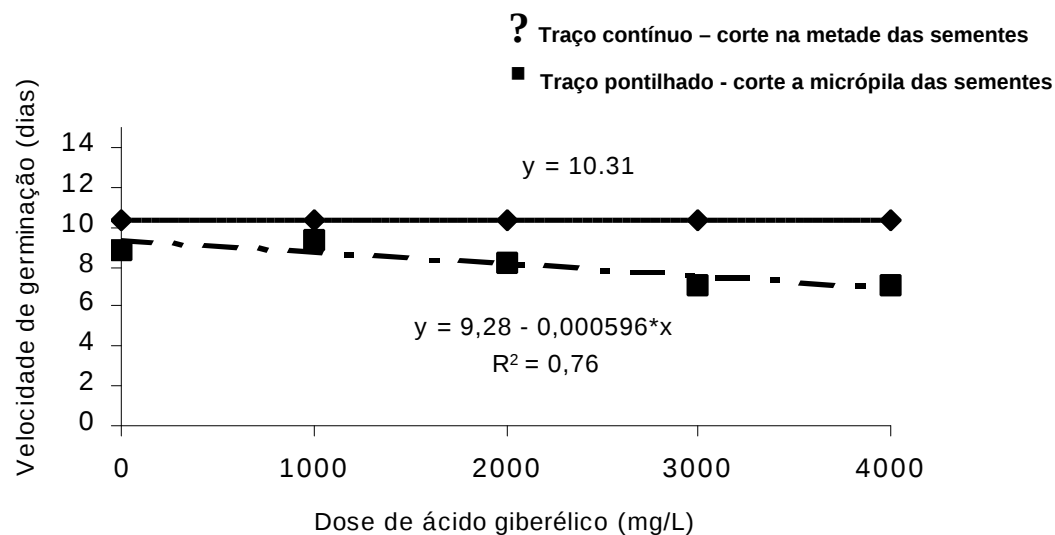


Figura 3 – Estimativa da velocidade de germinação, em dias, das sementes de uva cv. 'itália' em função das doses de ácido giberélico para os respectivos tratamentos físicos.

Quadro 4 – Valores médios da velocidade de germinação de sementes de uva cv. 'niágara rosada', em dias, em função dos tratamentos físicos e químicos

Concentrações de ácido giberélico (mg L ⁻¹)	Tratamento físico	
	Corte na metade	Corte na micrópila
0	11,06 a	9,68 a
1000	12,49 a	9,16 b
2000	13,51 a	9,80 b
3000	11,35 a	9,93 a
4000	12,25 a	8,05 a
CV(%)	21,89	

Médias seguidas pela mesma letra na linha não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a nível de 5% de probabilidade.

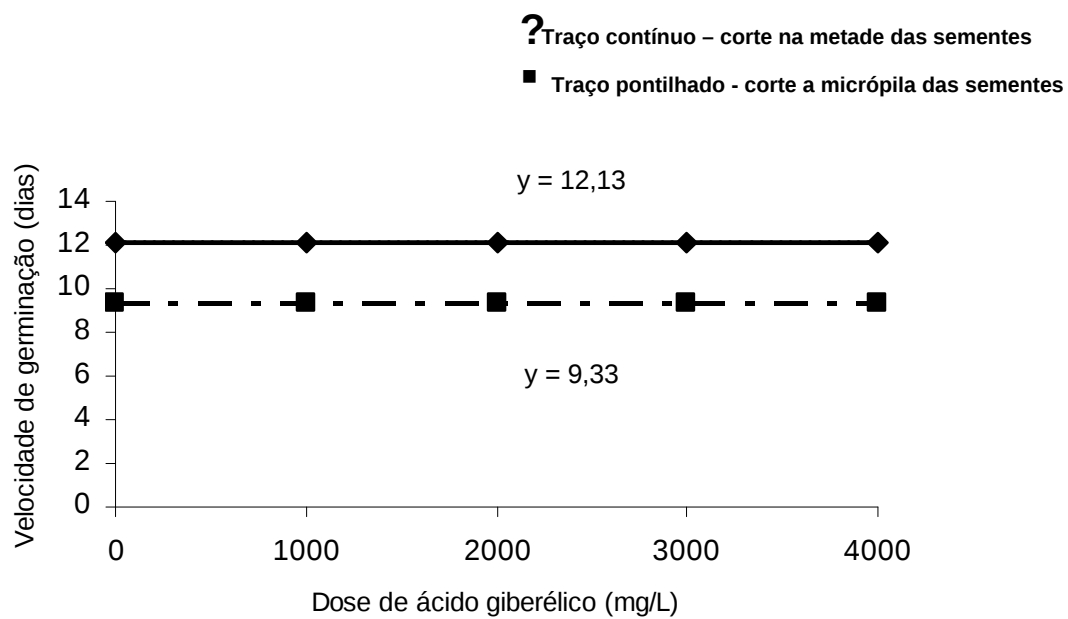


Figura 4 – Estimativas da velocidade de germinação das sementes do cv. 'niágara rosada' em função da dose de ácido giberélico para os respectivos tratamentos físicos.

4. DISCUSSÃO

No presente trabalho, onde se estudou a germinação *in vitro* de sementes de uva *Vitis vinifera* cv. 'itália' e *Vitis x labruscana* cv. 'niágara rosada', obteve-se dois resultados marcantes: o aumento significativo da porcentagem e da velocidade de germinação. Estes resultados constituem uma contribuição valiosa para o melhoramento da videira no Brasil e no mundo, que tem como gargalo do processo a baixa porcentagem e o longo período requerido para a germinação de suas sementes.

A porcentagem de germinação de sementes de uva cv. 'itália' e 'niágara Rosada' alcançou 96,0 e 76%, respectivamente (Quadros 1 e 2). Comparado aos resultados registrados por Ergenoglu *et al.* (1997), que obtiveram 28,7% de germinação das sementes de 'itália', e Pommer *et al.* (1988) que conseguiram 41,53% de sementes germinadas do cv. 'niágara rosada', verificou-se que os resultados obtidos são pelo menos 66,4 e 34,65% superiores aos citados, respectivamente.

Já a velocidade de germinação alcançada foi em média de 9,19 dias, para o cv. 'itália' e de 10,73 dias para o cv. 'niágara rosada'. Em métodos empregados atualmente, o tempo necessário para a germinação é maior que os obtidos neste trabalho.

O ambiente de germinação *in vitro* de sementes de uva pode ter sido fundamental para o resultado desta pesquisa, uma vez que a germinação *in vitro* proporciona condições de estabilidade em relação à disponibilidade de luz,

umidade, nutrientes, além de permitir controle efetivo de contaminações microbianas e do potencial osmótico (Vázquez-Yanes & Orozco-Segovia, 1996).

Infelizmente, neste estudo, não há como discriminar o efeito do ambiente dos efeitos dos tratamentos físicos e químicos aplicados, uma vez que a germinação foi testada somente em ambiente *in vitro*. Dentro das circunstâncias deste trabalho, pode-se verificar que a aplicação de tratamentos físicos nas sementes de uva foi fundamental para a sua germinação, uma vez que sementes não tratadas não germinaram dentro do período avaliado.

Egley (1989) citado por Perez (2004) relaciona a presença de ceras e compostos graxos sobre a superfície ou de uma camada de células abaixo da cutícula à formação de uma barreira contra a entrada de água nas sementes, inviabilizando a germinação. Dessa forma, a escarificação física realizada na forma dos cortes nas regiões mediana e micropilar das sementes das videiras atua na desestruturação desses compostos e estruturas, expondo o embrião à água e ao oxigênio presentes no ambiente.

A ruptura do tegumento das sementes, mesmo sendo um processo muitas vezes trabalhoso, produz aumentos substanciais na velocidade e na porcentagem de germinação de sementes de espécies como o amendoim do campo (*Pterogyne nitens* Tul.), por exemplo (Nassif & Perez, 1997). O exemplo apresentado por estes autores pode também ser aplicado às sementes de uva, uma vez que as sementes inteiras utilizadas nos experimentos preliminares não germinaram, diferentemente das que foram submetidas aos cortes.

Dentre os tratamentos físicos aplicados à semente de uva, o corte na região da micrópila apresentou os melhores resultados tanto para a porcentagem e velocidade de germinação. Isto pode ser devido à localização do embrião da videira, o que pode ter contribuído para a expulsão do embrião do interior da semente e justificar os resultados obtidos.

O efeito do ácido giberélico na porcentagem de germinação de sementes *in vitro* cvs. 'itália' e 'niágara rosada' foi significativo na maior parte dos tratamentos. Este efeito só não foi significativo para as sementes de uva cv. 'itália' cortadas na região da micrópila.

O modo de ação do ácido giberélico, durante a quebra de dormência das sementes, está relacionado com o controle da síntese da α -amilase na camada

de aleurona que leva à hidrólise do amido do endosperma, disponibilizando-o para o embrião (Mayer & Mayber, 1975).

Atualmente, os métodos recomendados pela literatura na quebra da dormência das sementes de videiras são o uso combinado ou não da estratificação, sob temperaturas de 3-5°C pelo período de 60 a 90 dias e a imersão por 24 horas das sementes inteiras em ácido giberélico (GA₃).

No entanto, esses métodos proporcionam porcentagens de germinação que raramente ultrapassam o valor de 50%, além de demandar um considerável período de tempo para a germinação. Este período corresponde o tempo necessário para a estratificação das sementes (60 a 90 dias) mais o tempo para a germinação, que geralmente é desuniforme podendo perdurar por alguns meses.

Segundo Baskin & Baskin (1998) e Carvalho (1994) citados por Cardoso (2004), a dormência existente na espécie *Vitis vinífera* (L.) como exógena química de natureza primária e causada pela ação de inibidores químicos presentes na semente e/ou no fruto, o que inibe o processo de germinação de embriões não-dormentes. Contudo, Ergenoglu *et al.* (1997), consideram que existe mais de um fator envolvido na quebra de dormência de sementes de uva, além dos mencionados pela literatura.

De acordo com Carvalho & Nakagawa (2000) os sistemas de entrada de água no interior das sementes e o de controle do equilíbrio entre substâncias promotoras e inibidoras de crescimento parecem estar envolvidos no processo de dormência das sementes. Ainda de acordo com os autores, esses fatores podem atuar de maneira integrada entre si.

Observou-se que a dormência de sementes de videira não pode ser atribuída exclusivamente ao equilíbrio entre substâncias promotoras e inibidoras do processo germinativo, conforme apresentado por Cardoso (2004). Pois, foi possível obter germinação de sementes de uva através de escarificação mecânica, independente da aplicação de substâncias promotoras.

Por outro lado, não se pode afirmar que a causa da dormência de sementes das videiras, aqui estudadas, seja do tipo física, uma vez que outros autores obtiveram germinação através de outros métodos, e não pelo uso dos

tratamentos físicos. Além do que, a aplicação de ácido giberélico neste experimento aumentou a germinação das sementes de uva.

Dessa forma, pode-se afirmar que existe mais de um fator determinante envolvido na dormência de sementes de uva e que os mesmos interagem entre si. Estes fatores são de ordem física, como a barreira imposta pelo tegumento, e fisiológica, como o equilíbrio entre as substâncias inibidoras e promotoras existente durante o estado de dormência, como mencionado por Chohan & Dhillon (1976).

Entretanto, o uso do corte na região da micrópila em sementes de videira pode vir a substituir de modo eficiente à estratificação empregada na superação da dormência destas sementes, uma vez que estas germinaram sem esse tratamento. Contudo, há necessidade de se verificar a possibilidade do emprego deste método de superação da dormência em ambiente *ex vitro*.

Não houve efeito das doses em cada tratamento físico. Entretanto, o tempo médio de germinação das sementes cortadas na micrópila foi inferior ao das sementes seccionadas pela metade.

5. CONCLUSÕES

Pode-se concluir que é possível de obter altas porcentagens de germinação de sementes de uva *in vitro*, aplicando-se tratamentos físicos e químicos às mesmas. O tratamento físico na semente foi essencial à germinação. Destes, o corte na micrópila das sementes foi o que proporcionou a maior precocidade e porcentagem de germinação.

O GA₃ teve efeito significativo na porcentagem de germinação *in vitro* das sementes de uva, entretanto, somente a velocidade de germinação do cv. 'itália' foi aumentada com o uso deste fitorregulador, sendo o seu efeito não significativo para a cultivar 'niágara rosada'.

CAPÍTULO 2

GERMINAÇÃO *IN VITRO* E *EX VITRO* DE SEMENTES DE UVA *VITIS X LABRUSCANA* L.H. BAILEY CV. 'NIÁGARA ROSADA'

RESUMO

O presente trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Cultivo de Células e Tecidos Vegetais do Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Viçosa com o objetivo de verificar o efeito de três fatores na germinação de sementes de uva cv. 'niágara rosada' (*Vitis x Labruscana* L.H. Bailey). Estes fatores foram: tratamentos físicos, tratamentos químicos, e ambiente de germinação. Os tratamentos físicos consistiram em cortes transversais nas regiões medianas e da micrópila das sementes. Os tratamentos químicos foram aplicados mediante imersão das sementes inteiras em solução aquosa de ácido giberélico (GA₃) nas concentrações de 0 e 4000 mg L⁻¹ e deixadas em repouso por 24 horas em ambiente sem luz, antes do tratamento físico. Os ambientes avaliados foram: *in vitro* e *ex vitro*. O substrato utilizado nas condições *in vitro* foi o meio contendo os sais minerais de MS (Murashine & Skoog, 1962), vitaminas de White (1951), 2,5 g L⁻¹ carvão ativado, 30 g L⁻¹ de sacarose, 100 mg L⁻¹ de mio-inositol e ágar Isofar® 8 g L⁻¹, distribuído em tubos de ensaio. O ambiente *ex vitro* consistiu em um aparelho BOD. O substrato utilizado foi o Plantmax®, distribuído em caixas de Gerbox

de dimensões 63 x 98 mm. Foram usados 50 g do substrato por recipiente. As condições de temperatura, fotoperíodo e intensidade luminosa do BOD foram semelhantes às encontradas na sala de cultivo *in vitro*. As sementes usadas foram extraídas de frutos maduros, os quais foram adquiridos no comércio local. As sementes foram removidas, manualmente, das bagas e lavadas em água corrente e seca sobre papel toalha sob condição ambiente, onde permaneceram por uma noite. O experimento foi um fatorial do tipo 2 x 2 x 2 no delineamento em blocos ao acaso com 4 repetições, sendo cada repetição constituída de um Gerbox®, contendo 25 sementes ou uma grade com 25 tubos de ensaio, com 1 semente por tubo. Os parâmetros avaliados foram porcentagem e velocidade de germinação das sementes. O período de avaliação do experimento foi de 28 dias. Os resultados indicaram que a germinação das sementes ocorreu de maneira normal nos dois ambientes. O corte na região da micrópila das sementes foi o tratamento físico que permitiu maior porcentagem e precocidade de germinação. O ácido giberélico, na concentração de 4000 mg L⁻¹, influenciou de maneira significativa na porcentagem de germinação, aumentando a taxa de sementes germinadas.

1. INTRODUÇÃO

Os ambientes mais comumente utilizados para germinação de sementes de videiras têm sido os leitos levantados basicamente com solos ou as bandejas de polietileno ou isopor formadas por células, ou ainda sistemas de tubetes confeccionados para tal finalidade, sendo todos esses recipientes que são enchidos com substratos apropriados e onde são depositadas uma ou duas sementes. A germinação geralmente ocorre, mais satisfatoriamente, no interior de um ripado, telado ou cada de vegetação..

A baixa qualidade das condições dos locais de germinação pode comprometer toda uma seqüência de trabalho dentro de um programa de melhoramento, que vai desde as atividades de polinizações controladas até a obtenção de mudas bem formadas, passando pelo processo de quebra de dormência das sementes. Os substratos utilizados têm servidos, geralmente, apenas como suporte para a fixação e crescimento da plântula, e eventualmente podem ser fonte de inóculo de patógenos, o que reduz a germinação.

A dormência das sementes de uva é considerada um problema dentro dos programas de melhoramento, e sua causa é considerada de ordem fisiológica. No entanto, os métodos atualmente utilizados para a superação do problema não proporcionam porcentagens satisfatórias de germinação, restringindo-se a resultados muitas vezes insuficientes.

A germinação *in vitro* é um procedimento recomendado, por alguns pesquisadores, para trabalhos de germinação com espécies selvagens ou que apresentam dormência, pois possibilita uma disponibilidade estável de umidade ao longo do período de duração dos experimentos, que em muitos casos são relativamente longos; além de permitir um controle eficiente de contaminações microbianas (Vázquez-Yanes & Orozco-Segovia, 1996).

A presença de uma concentração maior ou menor de sais, ou outros compostos osmoticamente ativos, no meio de germinação, de acordo com a espécie e com o potencial osmótico de suas sementes, poderá ser um fator responsável pela adequada hidratação destas. Conseqüentemente, poderá viabilizar ou inviabilizar a ocorrência do processo germinativo a partir de uma embebição adequada ou não da semente (Dodd & Donovan, 1999).

A adição de meios de cultura com nutrientes orgânicos metabolizados também pode contribuir para o aumento da germinação das sementes.

No capítulo 1 foram obtidos altos índices de germinação *in vitro* de sementes de uva cvs. 'itália' e 'niágara rosada'. Porém, não foi discriminado o efeito do ambiente de germinação.. Caso os efeitos observados dos tratamentos se repitam em ambiente *ex vitro*, a técnica desenvolvida nos dois trabalhos para quebra da dormência de sementes de uva passaria a ter um impacto maior nos diversos programas de melhoramento genético da videira, uma vez que a maior parte dos melhoristas não tem a sua disposição um laboratório de cultura de tecidos para a germinação das sementes.

Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do ambiente (*in vitro* e *ex vitro*) e de tratamentos químicos e físicos na velocidade e porcentagem de germinação de sementes de videira, cv. 'niágara rosada'.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi realizado no Laboratório de Cultura de Células e Tecidos Vegetais do Departamento de Fitotecnia, da Universidade Federal de Viçosa, e constituiu no estudo de três fatores para aumentar a germinação de sementes da videira *Vitis x Labruscana* L.H. Bailey cv. 'niágara rosada'.

Estes fatores foram: ambiente de germinação (*ex vitro* e *in vitro*), tratamentos físicos (corte ao meio e corte da região da micrópila - Figura 1) e tratamentos químicos (0 e 4000 mg L⁻¹ de GA₃).

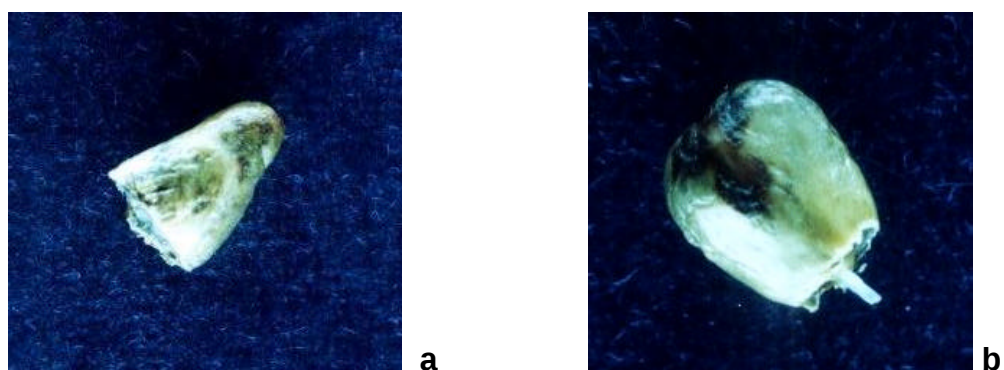


Figura 1 – Tratamentos físicos aplicados às sementes de uva, cvs. 'niágara rosada' e 'itália'. (a) corte na região mediana; (b) Corte na região da micrópila.

Por se verificar em ensaios preliminares que sementes inteiras não germinaram durante o período de avaliação proposto, excluiu-se do experimento as mesmas.

Os tratamentos químicos foram aplicados mediante imersão das sementes inteiras em solução aquosa de ácido giberélico (GA₃) nas concentrações descritas e deixadas em repouso por 24 horas em ambiente sem luz, antes do tratamento físico.

Os tratamentos físicos foram aplicados às sementes, utilizando-se bisturi e alicate de cutícula, sendo os mesmos realizados nas sementes após o período de embebição em GA₃.

O ambiente *in vitro* caracterizava-se pela temperatura e fotoperíodo da sala de cultivo controlados em 27 °C e 16/8h de luz/escuro, respectivamente. A irradiância fornecida por tubos fluorescentes estava em torno de $\pm 52 \mu\text{Mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ fornecidas por tubos fluorescentes com 40 W de potência, luz do dia. O substrato utilizado foi o meio contendo os sais minerais de MS (Murashine & Skoog, 1962), vitaminas de White (1951), 2,5 g L⁻¹ carvão ativado, 30 g L⁻¹ de sacarose, 100 mg L⁻¹ de mio-inositol e ágar Isofar® 8 g L⁻¹. O meio utilizado teve o pH ajustado para $5,7 \pm 0,1$ antes da distribuição nos tubos de ensaio (24,5 x 150 mm), e então autoclavado durante 20 minutos à temperatura de 121 °C. Foram utilizados 10 mL de meio por tubo e uma semente/tubo.

O ambiente *ex vitro* consistiu em um aparelho BOD. O substrato utilizado foi o Plantmax®, distribuído em caixas de Gerbox® de dimensões 63 x 98 mm. Foram usados 50 g do substrato / recipiente. Após a distribuição do substrato, este foi autoclavado durante 30 minutos sob temperatura de 121 °C.

As condições de temperatura, fotoperíodo e irradiância do BOD foram semelhantes às encontradas na sala de cultivo *in vitro*. Estas condições foram garantidas através de aparelhos automático do tipo *timers*, e foram constantemente monitoradas.

O experimento foi um fatorial do tipo 2 x 2 x 2 no delineamento em blocos ao acaso com 4 repetições, sendo cada repetição constituída de um Gerbox®, contendo 25 sementes ou uma grade com 25 tubos de ensaio cada.

As sementes utilizadas neste experimento foram extraídas e selecionadas a partir de frutos maduros, provenientes de vinhedos comerciais e

adquiridos no comércio local. Estas foram removidas, manualmente, das bagas, lavadas em água corrente à continuação, postas a secar sobre papel toalha, sob condição ambiente, onde permaneciam por uma noite.

Passado esse tempo, as sementes inteiras foram desinfestadas e posteriormente, submetidas aos tratamentos com ácido giberélico. O protocolo de desinfestação consistiu na imersão em uma solução de fungicida mais água, na proporção de 2,5% (p/v) por um período de 15 minutos, álcool etílico hidratado 92,8º por um minuto, seguidas de hipoclorito de sódio a 5% por 40 minutos. As imersões em cada uma das soluções eram seguidas de três enxaguaduras com água desionizada estéril.

Após o período de embebição nas soluções de GA₃, as sementes inteiras foram retiradas das soluções, seccionadas e inoculadas nos respectivos substratos.

O período de avaliação do experimento foi de 28 dias, durante o qual foram realizadas 4 leituras do número de sementes germinadas. A primeira leitura ocorreu aos sete dias após a inoculação, e as demais aos 14, 21 e 28 dias.

Foram realizadas as seguintes avaliações: percentagens de germinação e velocidade de germinação (VG), em dias. A velocidade de germinação foi calculada através da fórmula descrita por Vieira & Carvalho (1994):

$$VG = \frac{(N1.G1) + (N2.G2) + \dots + (Nn.Gn)}{G1 + G2 + \dots + Gn} , \text{ onde:}$$

G1, G2, ..., Gn = número de plântulas normais computadas na primeira, segunda e última contagem;

N1, N2, ..., Nn = número de dias de semeadura à primeira, na segunda e última contagem.

Apenas as sementes que originaram plântulas normais foram consideradas na avaliação.

Os dados foram submetidos aos testes de Liliefors e de Cochran para verificação da normalidade e homogeneidade da variância. Atendida a essas

exigências, os dados foram submetidos à análise de variância, utilizando-se o teste F a nível de probabilidade de 1 e 5%.

Para melhor análise dos efeitos dos tratamentos físicos e das doses de ácido giberélico nas variáveis estudadas, convencionou-se avaliar a interação entre os fatores, independente da sua significância.

As médias foram comparadas utilizando o teste de Tukey adotando o nível de 5% de probabilidade.

3. RESULTADOS

No presente trabalho observou-se a germinação de uva cultivar 'niágara rosada', independente dos fatores estudados. Entretanto, a porcentagem e velocidade de germinação, variaram em função dos tratamentos aplicados.

3.1. Porcentagem de germinação das sementes

Os efeitos dos tratamentos testados sobre a porcentagem de germinação das sementes podem ser observados nos Quadros 1 e 2.

A porcentagem de germinação em ambiente *in vitro* foi superior que a obtida em ambiente *ex vitro*. Esta diferença foi mais pronunciada quando comparadas sementes tratadas com GA₃ e submetidas ao corte na região da micrópila. Neste caso, a diferença de germinação chega a 27% (Quadro 1).

Ainda com relação ao Quadro 1, pode-se observar que os efeitos dos tratamentos físicos diferiram entre si. Entretanto, a maior diferença entre os tratamentos físicos foi observada em ambiente *in vitro*, quando as sementes não foram tratadas com GA₃. Neste caso, as sementes cortadas na região da micrópila apresentaram porcentagem de germinação 33,5% superior às cortadas ao meio.

A aplicação do GA₃, também aumentou a porcentagem de germinação de sementes de uva 'niágara rosada'. (Quadro 1).

Quadro 1 – Valores médios da porcentagem de germinação das sementes de uva cv. 'niágara rosada' submetidas ao ambiente e aos tratamentos físicos e químicos

Ambiente	0 mg L ⁻¹		4000 mg L ⁻¹	
	Corte na metade	Corte na micrópila	Corte na metade	Corte na micrópila
In vitro	19,0 b A	52,5 a A	59,0 a A	77,0 a A
Ex vitro	26,0 a A	36,0 a A	43,0 a A	50,0 a B

As médias seguidas de pelo menos uma mesma letra minúscula na linha e maiúscula na coluna para cada dose não difere entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste Tukey.

O maior efeito do ácido giberélico (GA₃) foi observado em ambiente *in vitro*, sendo mais pronunciado entre sementes cortadas ao meio. Neste caso, o incremento na porcentagem de sementes germinadas é de 40 pontos percentuais (Quadro 2). Entre as sementes cortadas na região da micrópila, essa diferença foi 24,5 pontos percentuais (Quadro 2).

Quadro 2 – Valores médios da porcentagem de germinação das sementes de uva cv. 'niágara rosada' submetidas ao ambiente e aos tratamentos físicos e químicos

Ambiente	Corte na metade		Corte na micrópila	
	0 mg.L ⁻¹	4000 mg.L ⁻¹	0 mg.L ⁻¹	4000 mg.L ⁻¹
In vitro	19,0 b	59,0 a	52,5 b	77,0 a
Ex vitro	26,0 a	43,0 a	36,0 a	50,0 a

As médias seguidas da mesma letra na linha não difere entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste Tukey.

3.2. Velocidade de germinação das sementes

Não houve efeito significativo dos tratamentos físicos e químicos na velocidade de germinação das sementes de uva 'niágara rosada' (Quadro 3).

A velocidade de germinação das sementes da videira 'niágara rosada' foi superior em ambiente *in vitro* (Quadro 3).

Quadro 3 – Valores médios da velocidade de germinação, em dias, das sementes de uva cv. 'niágara rosada' submetidas ao ambiente e aos tratamentos físicos e químicos

Ambiente	Corte na metade		Corte na micrópila	
	0 mg L ⁻¹	4000 mg L ⁻¹	0 mg L ⁻¹	4000 mg L ⁻¹
In vitro	11,0 a A	12,00 a A	9,75 a B	8,00 a B
Ex vitro	16,25 a A	16,50 a A	16,25 a A	16,25 a A

As médias seguidas pela mesma letra minúscula na linha e maiúscula na coluna para cada dose não difere entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste Tukey.

Esta diferença é maior entre as sementes cortadas na região da micrópila, chegando 8,25 dias de diferença (Quadro 4).

Quadro 4 – Valores médios da velocidade de germinação, em dias, das sementes de uva cv. 'niágara rosada' submetidas ao ambiente e aos tratamentos físicos e químicos

Ambiente	0 mg L ⁻¹		4000 mg L ⁻¹	
	Corte na metade	Corte na micrópila	Corte na metade	Corte na micrópila
In vitro	11,00 a A	9,75 a B	12,0 a A	8,00 a B
Ex vitro	16,25 a A	16,25 a A	16,50 a A	16,25 a A

As médias seguidas de pela mesma letra minúscula na linha e maiúscula na coluna para cada dose não difere entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste Tukey.

4. DISCUSSÃO

Neste estudo observou-se a porcentagem e velocidade de germinação de sementes de uva 'niágara rosada' em dois ambientes: *in vitro* e *ex vitro*. A germinação foi observada em um período que variou entre 8 e 16,25 dias de incubação.

Observou-se também que o ambiente *in vitro* não é imprescindível à germinação das sementes, e que apesar de apresentar menores porcentagens, a germinação ocorreu normalmente em ambiente *ex vitro*, alcançando índices de até 50%, quando as sementes foram tratadas com 4000 mg L⁻¹ de GA₃ e cortadas na região da micrópila.

Em métodos atualmente empregados por melhoristas, as sementes de videira passam por um período de estratificação em ambiente frio (3-5 °C) por 60 a 90 dias e são levadas a germinarem em ambiente externo. A germinação pós-estratificação é desuniforme, podendo perdurar por alguns meses. Sendo assim, o tempo necessário pode ultrapassar 120 dias. Ademais, há que se somar a isto o fato deste processo proporcionar índices de germinação, geralmente inferiores a 50%.

De acordo com os resultados é evidente o ganho no tempo e na uniformidade de germinação das sementes de uva, que são parâmetros desejáveis em um programa de melhoramento genético. Em instituições que contam com estrutura laboratorial, para a germinação *in vitro*, o ganho do processo é ainda maior, pois a germinação pode ser incrementada em 27%,

alcançando índices de 77% (Quadro 2), e o tempo de germinação reduzido a oito dias (Quadros 3 e 4) neste ambiente.

O ambiente *in vitro* proporciona condições de estabilidade em relação à disponibilidade de luz, umidade e nutrientes, além de permitir o controle de contaminações e do potencial osmótico (Vázquez-Yanes & Orozco-Segovia, 1996). Estes aspectos contribuíram para a melhor germinação das sementes de uva.

O tratamento físico foi imprescindível para o êxito da germinação de sementes de uva, uma vez que sementes que não receberam este tratamento não germinaram dentro do período de avaliação estabelecido. Dentre os tratamentos físicos testados, o corte na região da micrópila das sementes apresentou os melhores resultados. Este tratamento em combinação com a aplicação de GA₃, proporcionou taxas de germinação que alcançaram 50% e 77%, respectivamente, nos ambientes *in vitro* e *ex vitro* (Quadro 1). Com base nestes resultados, pode-se inferir que o corte na região da micrópila da semente de uva, pode substituir com vantagem a estratificação, praticada atualmente para induzir a quebra da dormência de sementes, uma vez que estas sementes germinaram sem o uso deste tratamento.

A ruptura do tegumento das sementes, mesmo sendo um processo muitas vezes trabalhoso, produz aumentos substanciais na velocidade e na porcentagem de germinação de sementes de espécies, como o amendoim do campo (*Pterogyne nitens* Tul.), por exemplo (Nassif e Perez, 1997). O exemplo apresentado por estes autores pode também ser aplicado às sementes de uva, uma vez que as sementes inteiras utilizadas nos experimentos preliminares não germinaram, diferentemente das que foram submetidas aos cortes.

Egley (1989) citado por Perez (2004) relaciona a presença de ceras e compostos graxos sobre a superfície ou de uma camada de células abaixo da cutícula à formação de uma barreira contra a entrada de água nas sementes, inviabilizando a germinação destas. Dessa forma, a escarificação física realizada na forma dos cortes nas regiões mediana e micropilar das sementes das videiras atua na desestruturação desses compostos e estruturas, expondo o embrião à água e ao oxigênio presentes no ambiente.

O melhor desempenho do processo de germinação observado com o corte da região da micrópila pode ser devido à localização do embrião da

videira que está localizado próximo a esta região, o que pode ter contribuído para a expulsão do embrião do interior da semente e justificar os resultados obtidos aqui.

A aplicação de GA_3 aumentou a porcentagem de germinação de sementes de uva (Quadro 2). Entretanto, não foi significativo na velocidade de germinação.

As giberelinas estão relacionadas com a regulação de vários processos fisiológicos, entre os quais a germinação das sementes e a mobilização das reservas do endosperma (Taiz & Zeiger, 1998).

De acordo com Celik (2001), o ácido giberélico é indispensável para a quebra da dormência e promover a germinação de sementes de videira. Na literatura, a função do ácido giberélico na quebra de dormência das sementes está associada à promoção de estímulos que induzem a síntese ou a ativação das enzimas hidrolíticas no endosperma, disponibilizando açúcares solúveis para o embrião (Mayer & Mayber, 1975; Amem, 1987).

5. CONCLUSÕES

O ambiente *in vitro* não é imprescindível ao processo de germinação proposto no 1º Capítulo, podendo este ser realizado em ambiente *ex vitro*.

O tratamento físico é fundamental para a superação da dormência das sementes de uva e pode substituir com vantagens a estratificação, utilizada atualmente para este fim. Contudo, o corte na região da micrópila das sementes é o tratamento mais recomendado para este processo, por apresentar os melhores resultados.

O ácido giberélico na concentração de 4000 mg L⁻¹ influenciou de maneira significativa na porcentagem de germinação, aumentando a taxa de sementes germinadas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVARENGA, A.A.; ABRAHÃO, E.; REGINA, M. de A.; ANTUNES, L.E.C.; PEREIRA, A.F. Origem e Classificação botânica da videira. **Informe Agropecuário**. v. 19, n. 129, p. 5-8, 1998.

AMEN, R.D. The effects of gibberellic acid and scarification on the seed dormancy and germination of *Luzula spicata*. **Physiologia Platarum**, v. 20, p. 6-12, 1987.

CARDOSO, V.J.M. Dormência: estabelecimento do processo. In: **Germinação: do básico ao aplicado**. Org: FERREIRA, A.G.; BORGUETTI, F. Porto Alegre: Artmed, 2004. p. 95-108.

CARVALHO, N.M. de; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. 4. ed. Jaboticabal,: Funep, 2000. 588p.

CELIK, H. Effect of bottom heating, germination médium and gibberellic acid treatments on germination of Isabella (*Vitis labrusca* L.) grapes seeds. **Pakistan Journal of Biological Sciences**. v. 4, n. 8, p. 953-957, 2001.

CHOHAN G.S.; DHILLON, B.S. Seed dormancy and endogenous growth substances in Anab-e- Shahi grapes. **Vitis**, v. 15, p. 5-10. Paris, 1976.

CÔME, D. Problems of embryonal dormancy as exemplified by apple embryo. **Israel Journal of Botany**, Jerusalem, v. 29, p. 145-1456, 1981.

DANTAS, A.C.de M.; MORAES, L.K.A. de; PEDROTTI, E.L., NODARI, R.O.; GUERRA, M.P. Superação *in vitro* da dormência de embriões do porta-enxerto de macieira M9 (*Malus pumilla* Mill.). **Revista Brasileira de Fruticultura**. Jaboticabal, v. 24, n. 1, p. 10-14, 2002.

DUNLAP, J.R.; MORGAN, P.W. Reversal of induced dormancy in lettuce by ethylene, kinetin and gibberellic acid. **Plant Physiology**. v.60, p.222-224, 1977.

DODD, G. L. & L. A. DONOVAN. Water potential and ionic effects on germination and seedling growth of two cold desert shrubs. **American Journal Botanic**, v. 86, n. 8, p. 1146-1153, 1999.

ELLIS, R.H.; HONG, T.D.; ROBERTS, E.H. A note on the development of a practical procedure for promoting the germination of dormant seed of grape (*Vitis* spp.) **Vitis**, v. 22, p. 211-219, 1983.

ERGENOGLU, F.; TANGOLAR, S.; GÖK, S. The effects of some pre-treatments for promoting germination of grape seeds. **Acta Horticulturae**, v. 441, p. 207-212, 1997.

FERRI, M.G. **Fisiologia Vegetal**. 2.ed. São Paulo: Editora Pedagógica Universitária, v. 2, 1986., 392p.

FRAGA, A.C. Dormência de sementes. **Informe Agropecuário**. v. 8, n. 91, p.62-64, 1982.

GALET, P. **Recherches sur les méthodes d'identification et de classification des Vitáceas des zones tempérées**. [s.l.:s.n.], 2 tomes, 566p. 1967. Thèse Doctorat, Sci.

GEORGE, E.F. **Plant propagation by tissue culture: part 1: The Technology**. Edington: Exegetics, 1996. 574p.

GRAY, J.D.; MEREDITH, C.P. Grape. IN: HAMMERSCHLAG, F.A.; LITZ, R.E. (eds.). **Biotechnology of perennial fruits crops**. Wallingforp, 1992, p.229-262.

GIOVANNINI, E. **Produção de uvas para vinho, suco e mesa**. Porto Alegre: Ed. Renascença, 1999, 364p.

HALISKA, A.; SINSKA, I.; LEWAK, S.T. Embryonal dormancy in apple seeds in controlled by free and conjugated gibberellin levels in the embryonic axis and cotyledons. **Physiologia Plantarum**, v. 69, p. 531-534, 1987.

MAYER, A.M.; MAYBER, A.P. **The germination of seeds**. 2. ed., Oxford: Pergamon, 1975, 192p.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, v. 15, p. 473-479, 1962.

NAKAYAMA, F.; RACCA, R.W.; TORROBA, C.A Obtencion de plantulas *in vitro* com embriones imaturos de cultivares precoces de duraznero (*Prunus persica* (L.) Batsch.). **Revista de la Facultad de Agronomía**, v. 1-2, p. 81-93, 1974.

NASSIF, S.M.L.; PEREZ, S.C.J.G. de A. Germinação de sementes de amendoim-do-campo (*Pterogyne nitens* Tul.): influência de tratamentos para superar a dormência e profundidade de semeadura. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 19, p. 172-179, 1997.

PANDEY, S.N.; SINGH.R. Germination of seeds extracted from immature berries of grapes. **Indian Journal Horticulturae**, v. 48, n. 1-2, p. 56-60. 1988.

PASSOS, I.R. da S.; MATOS, G.V. da C.; MELETTI, L.M.M.; SCOTT, BERNACCI, L.C.; VIEIRA, M.A.R. Gibberelic acid utilization for dormancy break in *Passiflora nitida* Kunth seeds in vitro germinated. **Revista Brasileira de Fruticultura**. Jaboticabal, v. 26, n. 2, p. 380-381, 2004.

PEREZ, S.C.J.G. de A. Envoltórios. In: **Germinação: do básico ao aplicado**. Org: FERREIRA, A.G.; BORGUETTI, F. Porto Alegre: Artmed, 2004. p. 125-134.

PINHEIRO, C.S.R.; MEDEIROS, D.N.de.; MACÊDO, C.E.C. de.; ALLOUFA, M.A.I. Germinação *in vitro* de mangabeira (*Harcomia speciosa* Gomez) em diferentes meios de cultura. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 23, n. 2, p. 413-416, 2001.

POMMER, C.V.; MAEDA, J.A.; RIBEIRO, I.J.A. Capacidade de germinação e quebra de dormência em sementes de cultivares de videira. **Bragantia**, v. 47, n. 2, p. 143-157, 1988.

POMMER, C.V. Videira. IN: **Melhoramento de fruteiras de clima temperado**. Ed.: BRUCKNER, C.H.. Viçosa,: UFV, 2002. p.127-186.

POPINIGIS, F. **Fisiologia da semente**. Brasília: AGIPLAN, 1977. 289p.

REISCH, I.B.; PRATT, C. Grapes. IN: JANICKES, J.; MOORE, J. N (Eds) . **Fruit Breeding**. New York: ,vol. II,1996. p. 297-369.

SOUSA, J.S.I. de. **Uvas para o Brasil**. Piracicaba: FEALQ, 1996. 791p.

SOUSA-LANG, V.A.; PINTO JUNIOR, J.E. Efeitos de diferentes açúcares na germinação do pólen de *Araucaria angustifolia*. n. 7, abril, 1996, p. 1-7.

TERRA, M.M.; PIRES, E.J.P.; NOGUEIRA, N.A.M. **Tecnologia para produção de uva 'itália' na região noroeste do Estado de São Paulo**. Campinas, Coordenadoria de Assistência Técnica Integrada (CATI), 1993, 51p.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Plant Physiology**. 2 ed. Sunderlands: Sinauer Associates, 1998, 792p.

WHITE, P.R. Nutricional requirements of isolated plant tissue and organs. **Annual Review of Plants Physiology**, v. 2, p. 213-244, 1951.

WALKER, D.R. Growth substances in dormancy fruit buds and seeds. **HortSciences**, v. 5. p. 414-417, 1970.

VAZQUEZ-YANES, C.; OROZCO-SEGOVIA, A. Comparative longevity of seeds of five tropical rain forest woody species under different moisture conditions. **Canada Journal Botanic**, v. 74, p.1635-1639, 1996.

VIEIRA, R.D.; CARVALHO, N.M. de. **Testes de vigor em sementes**. Jaboticabal: FUNEP, 1994. 164p.

YEOU-DER, K.; WEAVER, R.J.; POOL, R.M. Effect of low temperature and growth regulators on germination of 'Tokay' grapes. **American Society for Horticultural Science**, v. 92, p.323-330, 1977.

ZHANG, Y.X.; LESPINASSE, Y. Removal of embryonic dormancy in apple (*Malus x domestica* Borkh.) by 6-benzylaminopurine. **Scientia Horticulturae**, v. 46, p. 215-223, 1991.

APÊNDICES

Tabela 1 – Constituição química do meio MS (Murashine & Skoog, 1962)

Macro elementos	mg L⁻¹
NH ₄ NO ₃	1650
CaCl ₂ .2H ₂ O	440
MgSO ₄ .7H ₂ O	370
KNO ₃	1900
KH ₂ PO ₄	170
Micro elementos	mg L⁻¹
H ₃ BO ₃	6,2
CoCl ₂ .6H ₂ O	0,025
CuSO ₄ .5H ₂ O	0,025
MnSO ₄ .4H ₂ O	22,3
KI	0,83
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	0,25
ZnSO ₄ .4H ₂ O	8,6
Na ₂ .EDTA	37,3
FeSO ₄ .7H ₂ O	27,8
Adit. orgânicos	g L⁻¹
Sacarose	30
Aminoácidos	mg L⁻¹
Glicina	2,0
Edamina	1000
Myo-inositol	100
Fitorreguladores	mg L⁻¹
ANA	
AIA	
IBA	
2,4-D	
BAP	
Vitaminas	mg L⁻¹
Niacina	0,5
Piridoxina	0,5
Tiamina	0,1
Adit. Complexos	
Água de coco	
Solidificante	g L⁻¹
Ágar	10

CAPÍTULO 1

Quadro 1 – Resumo da análise de variância referente à germinação das sementes do cultivar 'itália' (*Vitis vinifera* L.)

Fonte de Variação	G.L.	Quadrado Médio
Bloco	3	54,40
Tratamentos Físicos	1	4000,00**
Doses	4	412,60**
Tratamentos físicos x Doses	4	267,00*
Resíduo	27	85,51
Média geral		79,200
Coeficiente de variação (%)		11,676

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

Quadro 2 – Resumo da análise de variância referente à germinação das sementes do cultivar 'niágara rosada' (*Vitis x Labruscana* L.H. Bailey)

Fonte de Variação	G.L.	Quadrado Médio
Bloco	3	240,36
Tratamentos Físicos	1	2044,90**
Doses	4	1404,10**
Tratamentos físicos x Doses	4	298,90 ^{NS}
Resíduo	27	252,66
Média geral		56,95
Coeficiente de variação (%)		27,91

**Significativo a 1% de probabilidade pelo teste F; NS – F não significativo a nível 5% de probabilidade.

Quadro 3 – Resumo da análise de variância relativo à velocidade de germinação das sementes do cultivar 'itália' (*Vitis vinifera* L.)

Fonte de Variação	G.L.	Quadrado Médio
Bloco	3	3,43
Tratamentos Físicos	1	49,33 **
Doses	4	4,77 ^{NS}
Tratamentos físicos x Doses	4	0,64 ^{NS}
Resíduo	27	2,14
Média geral		9,190
Coeficiente de variação (%)		15,932

* * Significativo a 1% de probabilidade pelo teste F; NS – F não significativo a nível 5% de probabilidade.

Quadro 4 – Resumo da análise de variância relativo à velocidade de germinação das sementes do cultivar 'niágara rosada' (*Vitis x Labruscana* L.H. Bailey)

Fonte de Variação	G.L.	Quadrado Médio
Bloco	3	6,85
Tratamentos Físicos	1	78,45 **
Doses	4	2,66 ^{NS}
Tratamentos físicos x Doses	4	3,48 ^{NS}
Resíduo	27	5,52
Média geral		10,73
Coeficiente de variação (%)		21,89

**Significativo a 1% de probabilidade pelo teste F; NS – F não significativo a nível 5% de probabilidade

CAPÍTULO 2

Quadro 1 – Resumo da análise de variância relativo à porcentagem de germinação das sementes do cultivar ‘niágara rosada’ (*Vitis x Labruscana* L.H. Bailey)

Fonte de Variação	GL	Quadrado Médio
Bloco	3	201,79
Ambiente	1	1378,12**
Dose	1	4560,12**
Dose x ambiente	1	561,12**
Tratamento físico	1	2346,12**
Tratamento físico x ambiente	1	595,12**
Tratamento físico x dose	1	171,12 ^{NS}
Tratamento físico x dose x ambiente	1	171,12 ^{NS}
Resíduo	21	78,12 ^{NS}
Média Geral		45,31
Coeficiente de variação (%)		16,83

** Significativo a 1% de probabilidade pelo teste F; NS – F não significativo a nível 5% de probabilidade.

Quadro 2 – Resumo da análise de variância relativo à porcentagem de germinação das sementes do cultivar ‘niágara rosada’ (*Vitis x Labruscana* L.H. Bailey)

Fonte de Variação	GL	Quadrado Médio
Bloco	3	0,25
Ambiente	1	300,12**
Dose	1	0,125 ^{NS}
Dose x ambiente	1	0,50 ^{NS}
Tratamento físico	1	15,12 ^{NS}
Tratamento físico x ambiente	1	12,50 ^{NS}
Tratamento físico x dose	1	4,50 ^{NS}
Tratamento físico x dose x ambiente	1	3,12 ^{NS}
Resíduo	21	4,53 ^{NS}
Média Geral		13,25
Coeficiente de variação (%)		16,07

**Significativo a 1% de probabilidade pelo teste F; NS – F não significativo a nível 5% de probabilidade.