

PROTÓCOLOS PARA ACELERAR A PRODUÇÃO DA MUDA DE
GOIABEIRA ENXERTADA: DA MULTIPLICAÇÃO CLONAL DE
PORTA-ENXERTOS HÍBRIDOS À MINIGARFAGEM EM PORTA-
ENXERTOS DE MENOR TAMANHO

MARIANA BARRETO DE SOUZA ARANTES

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE DARCY
RIBEIRO

CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ
MARÇO- 2021

PROTÓCOLOS PARA ACELERAR A PRODUÇÃO DA MUDA DE
GOIABEIRA ENXERTADA: DA MULTIPLICAÇÃO CLONAL DE
PORTA-ENXERTOS HÍBRIDOS À MINIGARFAGEM EM PORTA-
ENXERTOS DE MENOR TAMANHO

MARIANA BARRETO DE SOUZA ARANTES

“Tese de doutorado apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como parte das exigências para obtenção do título de Doutora em Produção Vegetal”

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Cláudia Sales Marinho

CAMPOS DOS GOYTACAZES - RJ
MARÇO-2021

FICHA CATALOGRÁFICA

UENF - Bibliotecas

Elaborada com os dados fornecidos pela autora.

A662 Arantes, Mariana Barreto de Souza.

PROTÓCOLOS PARA ACELERAR A PRODUÇÃO DA MUDA DE GOIABEIRA ENXERTADA : DA MULTIPLICAÇÃO CLONAL DE PORTA-ENXERTOS HÍBRIDOS À MINIGARFAGEM EM PORTA-ENXERTOS DE MENOR TAMANHO / Mariana Barreto de Souza Arantes. - Campos dos Goytacazes, RJ, 2021.

92 f. : il.

Bibliografia: 76 - 85.

Tese (Doutorado em Produção Vegetal) - Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias, 2021.
Orientadora: Claudia Sales Marinho.

1. Porta-enxertos para goiabeira. 2. Regulador de crescimento vegetal. 3. Miniestaquia. 4. Minigarfagem. 5. Enxertia precoce. I. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. II. Título.

CDD - 630

PROCOLOS PARA ACELERAR A PRODUÇÃO DA MUDA DE
GOIABEIRA ENXERTADA: DA MULTIPLICAÇÃO CLONAL DE
PORTA-ENXERTOS HÍBRIDOS À MINIGARFAGEM EM PORTA-
ENXERTOS DE MENOR TAMANHO

MARIANA BARRETO DE SOUZA ARANTES

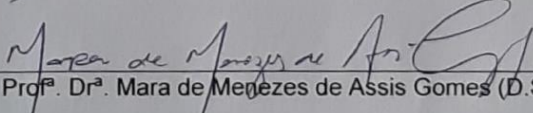
“Tese apresentada ao Centro de
Ciências e Tecnologias Agropecuárias
da Universidade Estadual do Norte
Fluminense Darcy Ribeiro, como parte
das exigências para obtenção do título
de Doutora em Produção Vegetal”

Aprovada em 23 de março de 2021

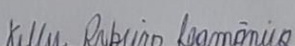
Comissão Examinadora:



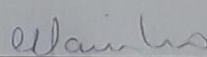
Prof. Dr. Alexandre Pio Viana (D.Sc., Produção Vegetal) – UENF



Prof.ª Dr.ª Mara de Menezes de Assis Gomes (D.Sc., Biologia Vegetal) – UENF



Prof.ª Dr.ª Kelly Ribeiro Lamônica (D.Sc., Produção Vegetal) – IFF



Prof.ª Dr.ª Cláudia Sales Marinho (D.Sc., Produção Vegetal) – UENF
Orientadora

"Quando olhares para trás,
entenderás que a jornada nunca termina.
Pois quem plantou no passado
colherá no futuro
o doce fruto que outrora fora semeado."

Carlos Fabiano de Souza

"Habitue-se a ouvir a voz do seu coração. É através dele que Deus fala conosco e nos dá a força que necessitamos para seguirmos em frente, vencendo os obstáculos que surgem na nossa estrada."

Santa Dulce dos Pobres

"Consulte não seus medos, mas suas esperanças e seus sonhos."

Papa São João XXIII

Dedico a Deus e a Nossa Senhora de Fátima.

Aos meus pais Maria Helena e Enos e a minha irmã Mayara.

Ao meu esposo Marcelo.

Aos meus sobrinhos Arthur e Helena.

E a todos que me auxiliaram durante a jornada.

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao Nosso Senhor Jesus Cristo e a Nossa Senhora que todos os dias me cobrem com suas bênçãos para que eu possa continuar a jornada.

A toda minha família e amigos, obrigada! Sem vocês não seria nada. Agradeço todo carinho e afeto.

Ao meu esposo Marcelo, obrigada meu amor por tudo. Você sabe o quanto é importante a sua presença em todos os momentos da minha vida.

Agradeço aos meus amigos do laboratório em especial a Raudielle Santos, Sydney Galvão e Giuliana Vaz por toda ajuda nos experimentos e companheirismo. Levarei nossa amizade por toda a vida.

Agradeço a minha orientadora de doutorado, professora Cláudia Marinho por não desistir de mim em meio as minhas grandes dificuldades. Obrigada pela orientação e oportunidade de realizar esse trabalho.

Agradeço aos professores da UENF e ao Programa de Produção Vegetal pelos ensinamentos passados ao longo de todos esses anos em que fui aluna da instituição. Agradeço em especial aos seguintes professores: Daniela Oliveira, Olney Motta, Solange Samarão, Silvia Menezes, Silvério Freitas, Glória Cristina Lemos, Cláudia Marinho, Alexandre Pio, Mara Gomes, Deborah Barroso. Muito Obrigada!

Agradeço a todos os funcionários da UENF em especial aos amigos Luís Augusto Azevedo e Alex Fabiano da Unidade de Apoio a Pesquisa (UAP), a assistente social Rosângela Cavalcante e aos técnicos em agropecuária Detony Petri e Guilherme Ribeiro. Muito obrigada pela acolhida e boa vontade de vocês sempre.

Agradeço a Embrapa Semiárido/Petrolina-PE pelo híbrido BRS Guaraçá desenvolvido naquela instituição e utilizado nos dois experimentos desta tese.

Agradeço ao professor Alexandre Pio Viana por ter cedido os híbridos desenvolvidos pela UENF para que o experimento de minigarfagem fosse realizado.

Agradeço a contribuição da banca para esta tese. Obrigada aos professores Mara Gomes, Kelly Lamônica e Alexandre Viana, pela disponibilidade e clareza, paciência e preciosas correções que contribuíram muito na formação final da tese.

Agradeço a minha comunidade paroquial, a Paróquia São Vicente de Paulo, em especial ao padre Lenilson Alves, por suas palavras iluminadas, amizade e carinho de bom pastor.

Ao doutor Meliton Ortiz e a Pâmella Nogueira que tanto cuidam de mim. Obrigada.

Agradeço à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) – Brasil pela concessão de bolsa de estudos, necessária à conclusão deste curso.

SUMÁRIO

RESUMO	vii
1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJETIVOS	4
2.1 Objetivos específicos	4
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	5
3.1 Goiabeira e araçazeiros	5
3.2 Declínio da goiabeira	7
3.3 Propagação da goiabeira	8
3.4 Uso de reguladores vegetais na produção de mudas	13
3.4.1 Auxina	13
3.4.2 Brassinosteroides	14
3.4.3 Ácido giberélico.....	17
4. TRABALHOS.....	20
4.1 Brassinosteroids accelerate the growth of <i>Psidium</i> hybrids during acclimatization of seedlings obtained from minicuttings.....	20
4.2 Management of clonal mini-garden with gibberellic acid in guava rootstock propagation	36
4.3 Anticipating the formation of guava seedlings using mini-grafting onto smaller-diameter clonal rootstocks	55
5. RESUMO E CONCLUSÕES.....	74
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	76
APÊNDICE.....	86

RESUMO

ARANTES, M.B.S.; D.Sc., Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Março de 2021. Protocolos para acelerar a produção da muda de goiabeira enxertada, da multiplicação clonal de porta-enxertos híbridos à minigarfagem em porta-enxertos de menor tamanho. Orientadora: Prof^a. Cláudia Sales Marinho.

A produção comercial da muda de goiabeira tem sido realizada por estaquia herbácea. Entretanto, devida à alta incidência de *Meloidogyne enterolobii* nas principais áreas de cultivo, pesquisas para desenvolvimento de porta-enxertos resistentes têm sido realizadas. Desta forma, a produção de mudas por meio de enxertia se torna necessária. No entanto, esse tipo de muda requer maior tempo de obtenção, e etapas para produção dessas mudas podem ser otimizadas. Uma das estratégias seria a utilização da miniestaquia para multiplicação dos porta-enxertos. A miniestaquia pode ser empregada com alguns reguladores de crescimento, dentre eles o brassinosteróide e o ácido giberélico (AG). Brassinosteróides diminuem o estresse provocado durante a aclimação e o AG promove o crescimento de brotações. Nesse sentido, o uso destes reguladores poderia reduzir o tempo de produção das mudas. Após a obtenção do porta-enxerto por miniestaquia, a minigarfagem pode ser utilizada, com possibilidade do uso de porta-enxerto de menor diâmetro. O objetivo do trabalho foi reduzir o tempo de multiplicação do híbrido BRS Guaraçá com aplicações de brassinosteróide, biobras-16 (BB-16) na aclimação de mudas e aumentar a produtividade de minijardins deste híbrido, por meio da aplicação foliar de AG, bem como, antecipar a formação de mudas de ‘Paluma’ enxertada por

minigarfagem sobre porta-enxerto com diferentes diâmetros de caule. Para o primeiro experimento foram utilizadas cinco concentrações do BB-16 (0; 0,1; 0,3; 0,5 e 1,0 mg L⁻¹), aplicadas em experimentos conduzidos em blocos casualizados (DBC), quatro repetições e cinco mudas por parcela, em duas épocas (inverno e primavera/ verão). O segundo experimento foi em DBC com parcelas subdividas no tempo, onde foram utilizadas as concentrações de AG (0, 50, 100, 150 e 200 mg L⁻¹) e as subparcelas por duas épocas (verão e inverno), quatro repetições e duas plantas por parcela. O terceiro experimento foi em DBC, três repetições e cinco mudas por parcela, os tratamentos foram constituídos por cinco classes de diâmetro de caule do porta-enxerto. Para o primeiro experimento verificou-se, ao final de sessenta dias da aclimatação, que indicadores de crescimento da parte aérea e raízes tiveram incrementos em função da aplicação do BB-16, nas concentrações entre 0,3 a 0,6 mg L⁻¹. Para o segundo experimento foi verificado aumento de comprimento e aumento da produtividade das minitouceiras. Houve encurtamento de internódio nas maiores concentrações, durante o verão. As aplicações crescentes de AG aumentaram o diâmetro do caule nas duas épocas do ano. O AG não interferiu no enraizamento das miniestacas. O maior percentual de enraizamento ocorreu no verão, com média de 95%. Para o terceiro experimento verificou-se que mudas enxertadas sobre porta-enxerto entre 3,68 e 10,32 mm de diâmetro tiveram a mesma sobrevivência, entretanto com maior vigor das mudas enxertadas sendo observado em porta-enxertos de maior calibre. As aplicações foliares de BB-16 proporcionaram efeitos positivos para o crescimento de parte aérea e raízes de BRS Guaraçá. A pulverização do AG via foliar promoveu aumento da produção de miniestacas e não interferiu no enraizamento. A minigarfagem sobre porta-enxertos de menor diâmetro possibilitou a produção de mudas em menor tempo.

ABSTRACT

ARANTES, M.B.S.; D.Sc., Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. March 2021. Protocols to accelerate the production of grafted guava seedlings, from the clonal multiplication of hybrid rootstocks to minigrafting on smaller rootstocks. Advisor: Prof^a. Cláudia Sales Marinho.

Guava seedlings are commercially produced via cuttings from herbaceous plants, but the high incidence of *Meloidogyne enterolobii* in major guava growing areas has prompted research into the development of resistant rootstock and the need for grafting in seedling production. In this way, the production of seedlings by means of grafting becomes necessary. However, this type of seedling requires longer production times, making it important to optimize the stages involved in this process. One such strategy is the use of minigrafting for rootstock multiplication. This technique can be used in conjunction with growth regulators, including brassinosteroids (BR) and gibberellic acid (GA). Brassinosteroids reduce stress caused during acclimatization and GA promotes shoot growth. In this respect, these regulators could shorten seedling production times. Once rootstock has been obtained via minicuttings, minigrafting can be used to accommodate smaller rootstock. The aim of this study was to shorten the multiplication time of the BRS Guaraçá hybrid by applying brassinosteroids, biobras-16 (BB-16) during seedling acclimatization, increase yield in mini-gardens via foliar spraying of GA and accelerate the production of cv. 'Paluma' seedlings grafted onto rootstock with different diameters by minigrafting. Treatments in the first experiment were five BB-16 concentrations (0; 0.1; 0.3; 0.5 and 1.0 mg L⁻¹), applied in a randomized block design (RBD) with four repetitions and five seedlings per plot, in two growing

seasons (winter and spring/summer). In the second experiment (RBD), plots were subdivided according to time and consisted of GA concentrations (0, 50, 100, 150 and 200 mg L⁻¹), with sub-plots for two seasons (summer and winter), four repetitions and two plants per plot. Treatments in the third experiment (RBD) consisted of five rootstock stem diameters, with three repetitions and five seedlings per plot. In experiment one, after 60 days of acclimatization, shoot and root growth indicators increased as a function of BB-16 application, at concentrations between 0.3 to 0.6 mg L⁻¹. The length and yield of mini-stumps increased in the second experiment and internode shortening was observed at high concentrations in summer. Rising GA applications increased stem diameter in the two seasons studied. GA did not influence the rooting of minicuttings. The highest rooting percentage was recorded in summer with an average of 95%. In experiment two, seedlings grafted onto rootstock with diameters between 3.68 and 10.32 mm exhibited the same survival, but greater vigor than those grafted onto larger rootstocks. Foliar spraying of BB-16 positively affected BRS Guaraçá shoot and root growth, improved minicutting production and did not influence rooting. Minigrafting onto smaller rootstocks shortened the production time of guava seedlings.

1. INTRODUÇÃO

A área cultivada de goiabeiras no Brasil em 2018 foi de 21 mil hectares com produção anual de 578 mil toneladas (IBGE, 2020). A goiabeira é uma cultura de grande importância não apenas para o consumo *in natura*, mas também tem se destacado na indústria devido a utilização de seus frutos como matéria prima principal para a fabricação de sucos, compotas, geleias (Kadan et al., 2012) e farinhas enriquecidas (Velasco-Arango et al., 2020).

A produção de mudas de goiabeira para o estabelecimento dos pomares é realizada via propagação vegetativa por meio do enraizamento de estacas de variedades comerciais (Yamamoto et al., 2010; Milhem et al., 2014; Castro et al., 2019). No entanto, esta forma de propagação tem comprometido o cultivo quando as plantas são instaladas em áreas contaminadas com o fitonematoide *Meloidogyne enterolobii* (Pereira et al., 2009; Silva & Oliveira, 2010; Castro, 2019). Isso ocorre, pois o nematoide presente no solo coloniza as raízes e as tornam vulneráveis à presença do fungo *Neocosmospora falciformis* (Sandoval-Denis et al., 2019; Veloso et al., 2020), portanto o 'Declínio da goiabeira' é uma doença sinérgica entre um fitonematoide e um fungo (Carneiro et al., 2001).

A espécie *Psidium guajava* é susceptível a *M. enterolobii* (Carneiro et al., 2001; Carneiro et al., 2007; Miranda et al., 2012; Biazatti et al., 2016), sendo o 'Declínio da goiabeira' verificado com alta severidade na espécie e tem apresentado vários prejuízos para exploração comercial dos pomares contaminados. Sendo assim, a produção de mudas clonais das cultivares

comerciais resulta em plantios de elevado risco financeiro (Pereira et al., 2009). Uma estratégia de controle dessa doença pode ser a enxertia das copas comerciais sobre porta-enxertos resistentes.

Alguns araçazeiros já foram identificados como resistentes a *M. enterolobii*, dentre as espécies *P. cattleianum* (Almeida et al., 2009), *P. friedlischitalianum* (Carneiro et al., 2007) e *P. guineense* (Costa et al., 2012). Os acessos da espécie *P. cattleianum* não confirmaram compatibilidade com a goiabeira (Robaina et al., 2015). Nesse sentido, novas perspectivas para obtenção de porta-enxertos tem surgido, como a obtenção de híbridos interespecíficos, Costa et al. (2012), por exemplo, realizaram cruzamento entre *P. guajava* (genótipo compatível) e *P. guineense* (genótipo resistente) e desenvolveram o híbrido BRS Guaraçá, registrado sob o número 35849 (MAPA, 2020). Híbridos oriundos entre os cruzamentos de *P. guineense* x *P. cattleianum* e *P. guajava* x *P. cattleianum* também foram desenvolvidos visando a possibilidade de utilização como novos candidatos a porta-enxertos (Gomes et al., 2017), aumentando assim a possibilidade de opções.

Os híbridos registrados como resistentes ao *M. enterolobii* e os novos híbridos que vêm sendo gerados têm em comum a necessidade de sua propagação vegetativa para fixar as características desejáveis ou por não produzirem sementes viáveis (Costa et al., 2012). A propagação por estaquia herbácea nem sempre tem se mostrado viável para o resgate de alguns acessos de *Psidium* sp. Entretanto, uma vez estabelecidos em recipientes, a propagação dos novos híbridos pode ser mais eficiente se usada a técnica da miniestaquia (Biazatti et al., 2018).

A miniestaquia consiste em cultivo de matrizes em recipientes instalados sob condições de ambiente protegido. As matrizes são despontadas para emissão de brotações laterais, formando minitouceiras, das quais as brotações herbáceas são utilizadas na produção de miniestacas para enraizamento (Fachinello et al., 1995; Souza & Wendling, 2003;. Souza & Wendling, 2003; Ferriani et al., 2010; Dias et al., 2012), no entanto, a produção de miniestacas e manutenção das mudas recém enraizadas na fase de aclimação ainda precisa ser aprimorada.

A redução das perdas de mudas durante a fase de aclimação e o crescimento da muda podem ser favorecidos através da pulverização via foliar de reguladores como o brassinosteroide (Catunda et al., 2008; Freitas et al., 2012;

Gomes et al., 2018) e o aumento da produção de miniestacas pode ser proporcionado pela pulverização de ácido giberélico (Parween et al., 2019; Porto et al., 2018; Merlin, 2015) sob as minitouceiras.

O brassinosteroide atua no alongamento das células, divisão e diferenciação do xilema, promovendo o crescimento da região do hipocótilo e da parte aérea da planta (Baghel et al., 2019; Yang et al., 2011). Para o método de propagação vegetativa, alguns efeitos como desenvolvimento de raízes, crescimento de mudas em altura e diâmetro já foram relatados para outras culturas (Kin et al., 2019; Freitas et al., 2012; Catunda et al., 2008).

O ácido giberélico promove a emissão das brotações e aumento no comprimento das brotações, estimulando células do meristema apical e promovendo a divisão celular, o que induz o alongamento celular (Parween et al., 2019).

Após a multiplicação do porta-enxerto, a enxertia deve ser realizada, sendo a minigarfagem uma alternativa para a obtenção de novas mudas. A minigarfagem consiste em utilizar segmentos de brotações de minicepas e possui vantagens em relação ao tempo de produção da muda enxertada de forma convencional (Campos et al., 2017), além de possibilitar a utilização de porta-enxertos de diferentes diâmetros, o que pode proporcionar uma redução para o tempo de obtenção da muda.

Nesse sentido, a otimização das etapas de multiplicação dos genótipos, manejo de minijardins clonais, enraizamento do porta-enxerto e enxertia garantiriam a produção de um maior número de mudas de qualidade.

2. OBJETIVOS

O objetivo principal desse trabalho foi estabelecer novos protocolos para acelerar a produção da muda de goiabeira enxertada, utilizando-se reguladores de crescimento na multiplicação de porta-enxertos híbridos e a minigarfagem em porta-enxertos de menor tamanho.

2.1 Objetivos específicos

- Reduzir o tempo de obtenção de mudas do BRS Guaraçá por meio da pulverização foliar de brassinosteróide (BB-16).
- Aumentar a produtividade de minijardim do BRS Guaraçá, utilizando aplicação de solução de ácido giberélico (AG) via foliar, assim como avaliar o efeito da época do ano na sua efetividade.
- Avaliar a viabilidade técnica da realização da minigarfagem sobre porta-enxerto previamente clonado por estaquia herbácea e com diferentes diâmetros de caule, visando à antecipação da formação de mudas enxertadas da goiabeira 'Paluma'.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Goiabeira e araçazeiros

As goiabeiras e araçazeiros pertencem à família Myrtaceae e gênero *Psidium* e possuem grande importância para os biomas do Cerrado e Mata Atlântica brasileira (Pommer et al., 2013). Atualmente foram identificadas 67 espécies, sendo 49 endêmicas (Sobral et al., 2020). O gênero *Psidium* além de agrupar a espécie *Psidium guajava* Linnaeus (goiabeira) também abriga outras espécies de interesse como os araçazeiros *P. cattleianum* Sabine (araçá doce ou araçá-de-coroa) e *P. guineense* Swartz (araçá verdadeiro ou araçá ácido) (Franzon, 2009; Sobral et al., 2020).

Os araçazeiros são consumidos geralmente por comunidades locais e possuem em sua composição substâncias antioxidantes e óleos essenciais (Franzon et al., 2009). Nesse sentido, o interesse destes frutos tem sido aumentado, sobretudo para a incorporação de produtos oriundos da indústria de alimentos (Velasco-Arango et al., 2020; Santos et al., 2020). As primeiras cultivares de araçazeiros já foram desenvolvidas pela Embrapa Clima Temperado, a Ya-cy, frutos amarelos e a Irapuã, frutos vermelhos (Franzon, 2009).

A goiabeira é classificada como planta de clima tropical e subtropical. Quanto ao cultivo, adapta-se bem a solos areno-argilosos, profundos e bem drenados com pH entre 5,5 - 6,5, temperatura entre 23° e 30 °C e precipitação em torno de 1000 a 2000 milímetros ao longo do ano (Silva, 1998).

O fruto da goiabeira possui valor nutricional agregado, pois é rico em

vitaminas A e B, têm alto teor de fibras, carotenoides, substâncias fenólicas e vitamina C (Souza et al., 2011). Na agroindústria a goiaba possui grande versatilidade como matéria-prima base de compotas, goiabadas e sucos (Kadan et al., 2012). Também pode-se obter farinha do epicarpo de goiaba, a qual é rica em carotenoides e substâncias fenólicas (Velasco-Arango et al., 2020) e uma bebida alcoólica fermentada a base de goiaba (Santos et al., 2020). A qualidade nutricional da goiaba, aliada a técnicas empregadas para seu processamento na agroindústria pode estimular o consumo do fruto pela população em geral.

O Brasil é o quarto produtor mundial de goiaba, em classificação liderada pela Índia, China e Paquistão (Altendorf, 2018). A produção brasileira é de 578 mil toneladas e se concentra nos estados de Pernambuco e São Paulo. Em termos de importância econômica, é possível dizer que a maior parte da produção é direcionada para o abastecimento interno. No estado do Rio de Janeiro, as cidades de Cachoeiras de Macacu, São Francisco do Itabapoana e Guapimirim são as maiores produtoras. Na região Norte Fluminense, o município de São João da Barra se destaca como maior produtor do fruto (IBGE, 2020).

As cultivares comerciais de goiabeira são classificadas em dois grupos, sendo os de polpa vermelha e aqueles de polpa branca. A maior demanda do mercado interno é por frutos de polpa vermelha, com destaque para as cultivares mais difundidas: 'Paluma', 'Rica', 'Século XXI', 'Sassaoka', 'Ogawa', 'Pedro Sato', 'Kumagai Vermelha' e 'Cortibel 1', 'Cortibel 2', 'Cortibel 3' (Pommer et al., 2013) que além do consumo *in natura* também são utilizadas na agroindústria, com a maior disponibilidade de frutos da cultivar Paluma.

A cultivar Paluma foi desenvolvida a partir de polinização aberta da 'Ruby Supreme' pelo Programa de Melhoramento Genético da UNESP de Jaboticabal, SP, possui folhas robustas e ramos longos, com crescimento lateral e frutos em torno de 140 e 250 g (Pommer et al., 2013).

3.2 Declínio da goiabeira

A produção de mudas para implantação de pomares de goiabeira é realizada por meio da propagação vegetativa via produção de estacas de variedades comerciais. No entanto, esta forma de produção compromete o cultivo quando as plantas são instaladas em áreas acometidas pela doença denominada 'Declínio da goiabeira', regiões produtoras como Rio de Janeiro, Rio Grande do Norte e Ceará tiveram prejuízo estimado em 112,7 milhões de reais, desencadeando o desemprego de 3.703 trabalhadores rurais em tempo integral (Pereira et al., 2009). O 'Declínio da goiabeira' é causado pela interação sinérgica entre o fitonematoide *Meloidogyne enterolobii* (Carneiro et al., 2001; Gomes et al., 2011; Castro, 2019) e o fungo *Neocosmospora falciformis* (Sandoval-Denis et al., 2019; Veloso et al., 2020).

No início dos anos 2000 houve um aumento significativo de infestação nos pomares de goiabeira do Nordeste brasileiro, a situação pode estar relacionada a grandes inundações que ocorreram nesta época (Castro, 2019). O fitonematoide *M. enterolobii*, presente nos solos brasileiros, foi registrado pela primeira vez em Petrolina (PE) por Carneiro et al. (2001). Atualmente, a presença deste nematoide se difundiu por todo o país (Silva & Oliveira, 2010). Em estudos realizados na região Norte Fluminense do estado do Rio de Janeiro foi verificado que áreas infestadas se tornaram menos produtivas e rentáveis (Pereira et al., 2009).

O controle químico de nematoides ainda não é recomendado para a cultura da goiabeira (AGROFIT, 2020). Alguns estudos revelaram que nematicidas não foram eficazes para o controle de *M. enterolobii* (Moreira & Henriques-Neto, 2001). Desta forma, a procura por genótipos resistentes tem sido objetivo de várias pesquisas, nas quais não foram encontradas fontes de resistência em *P. guajava*, mas encontrou-se resistência ou imunidade em araçazeiros do gênero *Psidium* (Carneiro et al., 2007; Miranda et al., 2012; Biazatti et al., 2016).

Carneiro et al. (2007), Almeida et al. (2009), Miranda et al. (2012) e Biazatti et al. (2016) já relataram resistência ao nematoide das galhas em espécies de araçazeiros como o *P. cattleianum*, por exemplo. Também foram encontradas resistência em *P. friedrichsthalianum* (Carneiro et al., 2007) e em *P.*

guineense (Costa et al., 2012). Quando avaliada a resistência entre espécies de araçazeiros (*Psidium* sp.) e goiabeira (*P. guajava*) foi verificada apenas para araçá (Martins et al., 2013).

Desta maneira, espécies de araçazeiros têm sido avaliadas em programas de melhoramento genético da goiabeira, visando à produção de copas ou porta-enxertos resistentes. A utilização de novos porta-enxertos, que sejam resistentes ao nematoide, podem viabilizar a produção de goiabas em regiões em que a doença já se encontra instalada.

Porém, problemas de incompatibilidade entre a espécie de araçazeiro eleita para utilização como porta-enxerto e a variedade inserida como copa podem comprometer a sobrevivência das plantas. Robaina et al (2015) relataram problemas de incompatibilidade entre *P. cattleianum* e *P. guajava*, o que inviabilizou a utilização desta espécie como porta-enxerto. Nesse sentido, algumas pesquisas têm sido direcionadas para seleção de outros genótipos resistentes, que sejam compatíveis com a goiabeira (Costa et al., 2012; Gomes et al., 2017).

A utilização de híbridos interespecíficos como os de *P. guajava* x *P. guineense* (Costa et al., 2012) e do híbrido entre *P. guineense* x *P. cattleianum* (Gomes et al., 2017), aumentam as opções para seleção de porta-enxertos resistentes e compatíveis.

3.3 Propagação da goiabeira

Os pomares comerciais de goiabeiras antes da década de 1990 eram praticamente compostos por mudas oriundas de forma seminífera. No entanto, foi verificado ao longo do tempo ausência de uniformidade de plantas e frutos, o que fez com que a propagação vegetativa passasse a ser adotada (Pereira & Nachtigal, 1997; Silva et al., 2010).

A propagação vegetativa da goiabeira pode ser realizada por alporquia, estaquia, enxertia e até mesmo por cultura de tecidos, sendo a estaquia com ramos herbáceos e utilização de nebulização intermitente, o método empregado comercialmente (Yamamoto et al., 2010; Milhem et al., 2014; Castro et al., 2019).

A escolha do tipo de estaca (lenhosa, semilenhosa ou herbácea) é um fator de extrema importância para o sucesso da propagação, pois segundo Hartmann et al.(1990) em geral, estacas mais herbáceas enraízam com maior

facilidade que as lenhosas devido a menor lignificação do tecido. Rodriguez et al. (2016) obtiveram 100% de enraizamento em estacas herbáceas de plantas juvenis de *P. cattleianum*. Por outro lado, Ferreira et al. (2013) verificaram que estacas semilenhosas de híbridos resistentes ao *M. enterolobii* apresentaram 57% de sobrevivência.

Na busca por intensificar e otimizar a coleta de estacas, tem sido avaliada a utilização de minijardins clonais e realizada a técnica da miniestaquia para propagar o material. Inicialmente, este método de propagação foi adotado para a produção de mudas florestais, sendo adotada quando não existe número suficiente de matrizes que ofereçam propágulos vegetativos (Dias et al., 2012; Ferriani et al., 2010).

A utilização de minijardins clonais possui vantagens como a possibilidade de maior frequência de coleta do material, além de utilizar um menor espaço de estabelecimento para as plantas, facilitando assim o seu manejo (Ferriani et al., 2010). As mudas que constituem as chamadas minicepas, geralmente podem ficar acondicionadas em vasos, tubetes ou em sistemas de canaletas. Das novas brotações são produzidas as miniestacas e a técnica de propagação do material é chamada de miniestaquia (Souza & Wendling, 2003; Dias et al., 2012; Ferriani et al., 2010). A técnica proporciona o revigoramento dos propágulos como estímulo ao enraizamento das miniestacas, o que beneficia a formação de raízes, visto que estacas mais jovens enraízam com melhor facilidade (Fachinello et al., 1995).

Para realizar o estabelecimento dos minijardins clonais, o resgate de genótipos de interesse, obtidos em programas de melhoramento ou por seleção no campo, torna-se primordial. Por outro lado, o enraizamento de estacas herbáceas ou miniestacas de araçazeiros tem se mostrado difícil e variável de acordo com fatores como as condições fisiológicas das estacas, as condições ambientais durante o enraizamento e diferenças genéticas entre os materiais (Biazatti et al., 2018; Hossel, 2016; Altoé et al., 2011 b), dentre outros fatores.

O enraizamento pode ser favorecido por meio da aplicação exógena de substâncias que tendem a interferir no balanço hormonal das estacas, nesse sentido estes reguladores têm sido bastante investigados (Titon et al., 2003; Frazon et al., 2004; Pio et al., 2010; Pena et al., 2015). Outros fatores como a época de coletas das estacas e a idade da planta matriz são de grande importância para o sucesso do enraizamento (Hartmann et al., 1990).

Biazatti et al (2018) por exemplo, verificaram que a melhor época para enraizamento de miniestacas de genótipos de *P. cattleianum* foi durante o verão, sob condições da região Norte Fluminense do estado do Rio de Janeiro, com percentuais entre 30 a 90%, de acordo com o genótipo. Altoé et al. (2011 b), também verificaram que dezembro foi favorável para a sobrevivência de miniestacas juvenis (100%) de *P. cattleianum*. Hossel (2016) verificou que a melhor época de enraizamento para *P. cattleianum* foi durante o inverno, sob condições da região de Dois Vizinhos- PR e independente do tamanho das miniestacas herbáceas utilizadas os resultados foram próximos a 100%.

Em relação ao método de miniestaquia seriada, coleta de brotações de miniestacas previamente enraizadas, Altoé et al. (2013) verificaram que as goiabeiras 'Paluma', 'Pedro Sato' e 'Cortibel 6' apresentaram sobrevivência e enraizamento semelhantes à miniestaquia convencional, os autores concluíram que o método pode ser empregado na multiplicação dessas cultivares. Também foi verificado que as cultivares avaliadas apresentaram melhor enraizamento durante período de temperaturas mais baixas, no inverno, sob condições da região Norte Fluminense do estado do Rio de Janeiro.

Marinho et al. (2009) ao utilizarem miniestacas oriundas de seedlings da goiabeira 'Paluma' obtiveram 100% de enraizamento. Segundo Altoé & Marinho (2012), não foram verificadas diferenças na sobrevivência e no enraizamento de estacas herbáceas comparados a miniestacas para esta cultivar, cujo enraizamento é mais facilitado em relação a outras cultivares.

Em geral, a produção de mudas de goiabeira não enxertadas tem por duração em torno de cinco meses (Milhem, 2011). A partir da técnica de miniestaquia foi observado que em menos de seis meses as mudas já apresentavam altura e números de folhas mínimos para seu plantio definitivo (Altoé & Marinho, 2012).

A capacidade de rebrota das minicepas é de grande importância para viabilidade da produção de mudas por miniestaquia. Minicepas de *P. guineense*, *P. cattleianum* e *P. guajava* apresentaram a mesma capacidade de emissão de brotações após desponete. As maiores médias do número de brotações emitidas pelas minicepas de *P. guineense*, *P. cattleianum* e *P. guajava* variaram de 3,32 a 3,99; 4,13 a 4,83; e 2,90 a 3,62, respectivamente. Quanto ao enraizamento, foi verificada a porcentagem de 95,8 e 91,7%, respectivamente, o que mostra que a

miniestaquia pode ser uma técnica eficiente para a propagação, por exemplo, de novos híbridos (Altoé et al., 2011 b).

A enxertia consiste em unir tecidos de plantas de espécies ou variedades diferentes por meio da conexão dos tecidos do enxerto e porta-enxerto, de forma que possa haver absorção de água e nutrientes do substrato para a planta (Hartmann et al., 1990).

O método da enxertia é indicado, entre outros fatores, quando existe a necessidade de utilização de porta-enxerto resistente a fatores bióticos e abióticos. Na cultura da goiabeira, por exemplo, a técnica é empregada para cultivares como a 'Cortibel 1' que possui baixo índice de enraizamento (Costa & Costa, 2003) e pode ser usada para proteger o sistema radicular da exposição ao fitonematoide *M. enterolobii* e desta maneira proporcionar o cultivo da goiabeira em áreas infestadas (Souza et al., 2018).

A enxertia pode ser feita por borbulhia, encostia e garfagem (Hartmann et al., 1990). A garfagem consiste em utilizar uma porção de ramo destacado, o enxerto (garfo), sobre um porta-enxerto. A minigarfagem é realizada com segmentos de brotações de minicepas e possui vantagens em relação ao tempo de produção da muda (Campos et al., 2017).

A minigarfagem foi utilizada por Campos et al. (2017) e resultou em taxa de sobrevivência de 82% para a combinação *P. guajava* ('Paluma') / *P. guineense* e de 50% para *P. guajava* ('Cortibel 1') / *P. guineense* aos 120 dias após a enxertia, indicando ser uma técnica promissora para a produção de mudas enxertadas em menor tempo.

Um dos primeiros obstáculos na utilização de enxertia como método propagativo é a incompatibilidade entre copa e porta-enxerto. Sendo assim, após a seleção de porta-enxertos resistentes, existe a necessidade da verificação da compatibilidade com a variedade copa. Os principais sintomas de incompatibilidade são verificados a partir do baixo índice de pegamento das mudas ainda no viveiro ou no campo, as plantas apresentam deficiências nutricionais, queda de folhas/ brotações e rachaduras caulinares, devido à má conexão de vasos condutores de seiva e água (Hartmann et al., 1990). Robaina et al. (2015) por exemplo, verificaram que genótipos de *P. cattleianum* expressaram sintomas clássicos de incompatibilidade tais como: hipertrofia, deficiências nutricionais, rachaduras na casca do porta-enxerto, clorose, paralização do

crescimento e morte das plantas. Esses sintomas foram verificados um ano após o plantio das mudas enxertadas de 'Paluma'.

A incompatibilidade pode ocasionar dificuldades na translocação de carboidratos. Em geral, essa situação não é resolvida com a utilização de interenxertos, ou seja, com o uso de um fragmento vegetal que serve de filtro entre enxerto e porta-enxerto. Um dos indícios da causa da chamada "incompatibilidade translocada" é a redução de células do floema na região de soldadura (Pereira et al., 2014).

Biazatti (2013) verificou que não houve pegamento da enxertia entre a goiabeira 'Pedro Sato' tendo *P. cattleianum* como porta-enxerto. No entanto, ao realizar enxertia entre *P. guineense* e *P. cattleianum* os autores verificaram 25% de pegamento, indicando a necessidade de avaliação por mais tempo da compatibilidade entre as duas espécies. O resultado demonstra maior afinidade entre essas duas espécies e puderam encaminhar estudos para combinações de híbridos que reunissem resistência ao nematoide e compatibilidade de enxertia. Nesse sentido, híbridos entre *P. guineense* e *P. cattleianum* foram desenvolvidos (Gomes et al., 2017). A utilização de porta-enxertos de híbridos interespecíficos que contenham os genes de resistência (Costa et al., 2012; Gomes et al., 2017) e o fenótipo mais semelhante com a variedade copa, poderia aumentar a possibilidade de compatibilidade.

Souza et al. (2014) verificaram que o híbrido entre *P. guajava* x *P. guineense* quando utilizado como porta-enxerto das cultivares Paluma e Pedro Sato proporcionaram bom desenvolvimento das plantas em áreas infestadas com *M. enterolobii* quando comparados com mudas não enxertadas. De maneira que foi possível verificar a existência de compatibilidade entre o porta-enxerto utilizado e as duas variedades comerciais avaliadas, após sessenta dias de realização da enxertia.

A enxertia de variedades comerciais sobre porta-enxertos resistentes a *M. enterolobii* pode favorecer o cultivo em áreas infestadas. Segundo Flori (2011), a produção de mudas de goiabeiras enxertadas sobre plantas resistentes deve ser estudada com a intenção de proporcionar a viabilidade de produção comercial e desta forma, garantir a produção em áreas contaminadas.

3.4 Uso de reguladores vegetais na produção de mudas

Os reguladores vegetais aplicados exogenamente podem produzir efeitos similares aos fitormônios vegetais, no entanto, efeitos diferentes podem ser observados de acordo com o ambiente ao qual as plantas estão inseridas (Catunda et al., 2008), de acordo com a concentração utilizada (Ganino et al., 2018) e com a fenologia da planta (Altoé et al., 2008; Freitas et al., 2015).

Na produção de mudas de goiabeira, os viveiristas têm utilizado solução de auxina para auxiliar o enraizamento adventício das estacas (Titon et al., 2003; Frazon et al., 2004; Pio et al., 2010; Pena et al., 2015). No entanto, as outras etapas que compõe a produção das mudas também podem ser beneficiadas por meio da utilização de outros reguladores, sendo o caso da aclimatação que pode ser acelerada por meio do uso de brassinosteroide. No caso do manejo dos minijardins clonais, dos quais são obtidos os propágulos, ou seja, as miniestacas, estes podem ter a possibilidade de alongar e aumentar o número de brotações (Silva et al., 2019).

3.4.1 Auxina

Para a produção de mudas de goiabeira, o tratamento com auxinas tem sido praticado para auxiliar a indução da formação de raízes adventícias (Hartmann et al., 1990). Desta forma, a utilização de reguladores pode viabilizar a produção de mudas por estaquia quando o material não possui bom enraizamento (Nakhooda et al., 2011).

As auxinas promovem estímulos ao desenvolvimento de primórdios radiculares, com atuação no processo de divisão celular e desta forma proporcionam o desenvolvimento de novos tecidos de raízes. É observado também que a concentração pode alterar o efeito da auxina nas plantas apresentando efeito de herbicida ou indutor de raízes (Taiz & Zeiger, 2009). Outros fatores como a variabilidade genética, tipo de estaca e substrato também atuam na sobrevivência e enraizamento (Fachinello et al., 1995).

Em escala comercial de produção de mudas, as auxinas sintéticas como o ácido indolbutírico (AIB), o ácido naftaleno acético (ANA) e o ácido indolacético (AIA) são bastante empregadas para auxiliar o enraizamento de estacas, e com resultados positivos para alguns genótipos (Titon et al., 2003; Frazon et al., 2004;

Pio et al., 2010; Pena et al., 2015). O AIB é mais estável e persistente nas células quando comparado ao AIA, além de ser menos tóxico, devido a isso é o mais utilizado para indução de enraizamento (Klerk et al., 1999). A aplicação das auxinas pode ser realizada via contato das bases das estacas com soluções de auxina (via líquida) ou na forma em pó (Yamamoto et al., 2010).

A dosagem utilizada do regulador influencia no sucesso do enraizamento da estaca. Em concentrações entre 1000 e 2000 mg L⁻¹ de auxina, por exemplo, houve os melhores índices de enraizamento e sobrevivência de miniestacas de *Eucalyptus grandis* (Titon et al., 2003). Em estacas apicais de figueira, verificou-se que a concentração com melhor efeito no enraizamento foi a de 2000 mg L⁻¹ de AIB (Pio et al., 2010). Em miniestacas de pitangueira, obtidas em minicepas de origem seminal, a melhor concentração para enraizamento foi de 2500 mg L⁻¹ (Pena et al., 2015).

Nachtigal & Fachinello (1995) relatam que em estacas de araçazeiro a concentração de 4000 mg L⁻¹ de AIB apresentou melhores efeitos para enraizamento. O híbrido interespecífico de *P. guajava* × *P. guineense* (Costa et al., 2012) apresentou bom desenvolvimento e enraizamento na concentração de 1500 mg L⁻¹ de AIB (Ferreira et al., 2013).

O modo de preparo da auxina também pode influenciar no efeito sobre a estaca. Na cultivar comercial Século XXI, por exemplo, a aplicação via talco + AIB foi mais eficiente que a solução hidro alcóolica da auxina e foi verificado que a concentração de 2000 mg L⁻¹ resultou em maior enraizamento e sobrevivência (Yamamoto et al., 2010).

3.4.2 Brassinosteróide

O brassinosteróide (Br) é uma classe de fitormônios esteroidais que a nível celular, atuam no alongamento das células, divisão e diferenciação do xilema. De forma visual é verificado crescimento na região do hipocótilo, desenvolvimento da parte aérea, desenvolvimento radicular, florescimento, efeito antiestresse biótico e abiótico e indução ao florescimento (Baghel et al., 2019; Ahammed et al., 2015; Yang et al., 2011).

Para o método de propagação vegetativa, alguns efeitos como desenvolvimento de raízes, crescimento de mudas em altura e diâmetro já foram relatados (Freitas et al., 2012; Kin et al., 2019). O efeito anti-estresse também já

verificado na fase de viveiro, em mudas de abacaxizeiro (Catunda et al., 2008; Freitas et al., 2012).

O Br atua sobretudo no alongamento celular e no crescimento em tamanho das plantas. De forma geral, a ação ocorre no controle das aquoporinas presentes na membrana plasmática, em que a permeabilidade da água é aumentada, ocorrendo assim o aumento da flexibilidade da parede celular e a expansão das células com o posterior crescimento em tamanho das plantas. Nesse sentido, o crescimento celular ocorre devido o afrouxamento da parede rígida e é favorecido pelo transporte osmótico de água para o interior da célula, que mantém a pressão de turgidez (Morillon et al., 2001). O Br também está envolvido na expressão de xiloglucano de endotransglicosilase (XETs) que funcionam para incorporar novo xiloglucano na parede celular em crescimento (Yang et al., 2011).

A ação do Br na parte aérea dos vegetais também foi observada a partir de alterações nos níveis de ácidos orgânicos, ácido graxo e açúcar, ácido mucônico, ácido salicílico, ácido mirístico e xilose que são ácidos importantes para o crescimento das plantas. O ácido mirístico, por exemplo, ativa H⁺-ATPase da membrana plasmática e desta forma ocorre a redução de pH e afrouxamento da parede celular, evento importante para o crescimento das plantas (Pereira-Netto et al., (2009).

Outros fitormônios estão envolvidos nas ações do Br, Oh et al (2014), concluíram que vias gênicas compartilhadas entre auxina e brassinosteroide proporcionavam o alongamento de hipocótilos e que as principais vias de regulação do crescimento, auxina, Br, giberelina e fitocromo, convergiam para controlar o alongamento dessas células, e que essas vias regulavam proteínas da parede celular envolvidas na expansão.

O alongamento celular também está relacionado à promoção do acúmulo de giberelina promovidos por Br. Ocorre que ao realizar tratamentos com aplicação de análogos de Br é verificado a promoção do alongamento celular. Em plantas de arroz, foi verificado que o tratamento com o brassinolídeo foi capaz de promover a ativação de genes relacionados à biossíntese de giberelina e os efeitos observados foram um crescimento da região do coleótilo. Para a observação desse efeito foram utilizados mutantes deficientes de Br, em que foi

identificada uma baixa expressão dos genes relacionados a síntese de giberelina (Tong et al., 2014).

O tratamento com brassinosteróide apresentou efeitos diferentes de acordo com a fase fenológica da planta. Mudas de origem semínifera de tangerineira 'Cleópatra' tiveram efeito positivo sobre o diâmetro do caule quando estas foram tratadas com as concentrações de $0,1 \text{ mg L}^{-1}$, $0,5 \text{ mg L}^{-1}$ e 1 mg L^{-1} (Altoé et al., 2008). Entretanto, na fase após transplântio dessas mudas esse efeito não foi mais observado (Freitas et al., 2015).

Ganino et al (2018), visualizam que o tratamento com baixas concentrações de Br estimularam uma maior quantidade no número de folhas em estacas de oliveira. Zheng et al (2017) verificaram crescimento vegetativo quando plantas de *Moringa oleífera* foram tratadas com um análogo de Br. Da mesma forma, Freitas et al. (2012) verificaram que o tratamento com o análogo de Br (Biobras-16) proporcionou um maior crescimento de mudas retiradas do caule do abacaxizeiro 'Smooth Cayenne'. Em mudas micropropagadas de abacaxizeiro 'Imperial', tratadas com o análogo de Br (Biobras-16) na fase de aclimatação, um incremento significativo na produção de massa seca de mudas também foi verificado, no entanto foi mais efetivo em plantas cultivadas em substrato com maior disponibilidade de nutrientes (Catunda et al., 2008).

O efeito da aplicação de Br relacionados ao crescimento vegetativo também pode ser verificado por meio de micropropagação. A utilização do cultivo *in vitro* para a produção de mudas, principalmente de espécies lenhosas apresentam problemas relacionados aos estímulos para alongamento e proliferação de brotações (Baghel et al., 2018), desta forma a aplicação de reguladores como os análogos de Br pode ser importante para impulsionar esses efeitos.

Basera et al (2018) observaram aumento no número de brotações, número de nós e maior tamanho de folhas, em tecidos de batatas *in vitro* tratados com giberelina + auxina + brassinosteróide. Em porta-enxerto de maçã ('Marubakaido') foi verificado que a utilização do análogo de brassinosteróide 2,8-homocastasterona promoveu o alongamento celular, permitindo assim a proliferação de brotações (Pereira-Netto et al., 2003). Schaefer et al (2002), quando realizaram tratamento de ápices de porta-enxertos de maçã 'Marubakaido' com um Flúor derivado de 2,8-homocastasterona, o 5F-HCTS,

constatarem um aumento da multiplicação no porta-enxerto, em especial do número de ramos laterais primários e secundários, no entanto a concentração de 5F-HCTS pode proporcionar efeitos distintos, visto que em elevadas concentrações essa substância induz a biossíntese de etileno e desta forma pode inibir o alongamento celular.

3.4.3 Ácido giberélico

O ácido giberélico também é um regulador com potencial a ser explorado na produção de mudas, uma vez que atua em vários processos do desenvolvimento vegetal. Alguns efeitos como o controle da floração (Sharma et al., 2013), quebra de dormência em sementes (Botin & Carvalho, 2015), alongamento do caule e internódio, expansão foliar, desenvolvimento de flores (Porto, 2018; Sharma et al., 2013; Botin & Carvalho, 2015) e inibição do florescimento (Jaleel et al., 2007) tem sido relatados.

A emissão de brotações, aumento do comprimento dos brotos e produção de miniestacas são etapas importantes para a propagação de mudas de frutíferas como a goiabeira, por exemplo. No entanto a dificuldade em emissão de brotação, observada em algumas espécies vegetais tem sido um dos problemas que impossibilitam a obtenção de material propagativo (Silva et al., 2019).

A emissão das brotações por minitouceiras se torna mais evidente durante o período de maiores temperaturas. O menor número de brotações em minijardim clonal de *Luehea divaricata* foi verificado nos meses de menor temperatura. As baixas temperaturas diminuem a emissão das brotações, o desenvolvimento vegetativo ocorre então de forma menos pronunciada, ocasionando no menor comprimento dos ramos e na menor produtividade dos mesmos por minitouceiras (Silva et al., 2019).

Além da hipótese de facilitar a emissão das brotações das minitouceiras, a utilização do ácido giberélico tem favorecido acréscimo no comprimento de brotações de *Gladiolus* (Parween et al., 2019). O ácido giberélico atua na expansão celular por meio da atividade da enzima xiloglucano endotransglicosilase (XETs), que realiza a quebra da hemicelulose-celulose. As expansinas promovem o alargamento da parede celular e distanciam as microfibrilas, proporcionando assim o crescimento das células (Taiz e Zeiger, 2009), o que visualmente é possível observar o crescimento das brotações.

A giberelina em sinergismo com outros fitormônios atua no crescimento de parte aérea e radicular das plantas. A giberelina em sinergia com auxina, por exemplo, regula ações como o alongamento celular, proporcionando assim o desenvolvimento dos vegetais (Ahammed et al., 2015). Em plantas de *Arabidopsis* o maior alongamento radicular foi verificado quando baixas concentrações de 24-epicastasterona foram utilizadas e que a giberelina (GA₃) exógena não promoveu maior desenvolvimento radicular de plantas mutantes deficientes em Br (Mussig et al., 2003).

Mudas de araçazeiro ao serem tratadas com concentrações de ácido giberélico (100 mgL⁻¹; 200 mgL⁻¹; 300 mgL⁻¹) exibiram maior desenvolvimento em altura, área foliar e sobrevivência (Porto et al., 2018). Merlin (2012) verificou que o tratamento com 50 mg L⁻¹ de ácido giberélico em porta-enxerto de limão cravo resultou em maiores médias de altura, diâmetro, área foliar e massa seca. A pulverização de ácido giberélico nas concentrações de 50 mg L⁻¹ a 400 mg L⁻¹ foi capaz de alongar plantas de *Dendrobium nobile* (Vichiato et al., 2007).

Oliveira et al. (2005) observaram que o tratamento com pulverização do regulador giberelina (GA₃) em porta-enxerto de maracujazeiro apresentou menor comprimento do caule. Porém, o tratamento de citocinina + giberelina promoveu um aumento significativo na região caulinar, o que pode sugerir um sinergismo positivo quando os dois reguladores são utilizados pulverizados. Outro ponto positivo verificado foi que as plantas atingiram o ponto de enxertia mais rapidamente, aos 63 dias após a semeadura. Também foi verificado no mesmo trabalho, que o tratamento com 100 mg L⁻¹ de giberelina (10% princípio ativo) + citocinina resultou em brotações pequenas e cloróticas indicando efeito de fitotoxidez.

Nas lavouras brasileiras análogos da giberelina são utilizados na cultura da batata para quebrar a dormência das sementes, na citricultura são utilizados para retardar a maturação dos frutos e assim controlar o ataque da mosca das frutas (*Anastrepha fraterculus* e *Ceratitis capitata*) e no milho ocorre o prolongamento do caule, efeito que também é observado na soja (AGROFIT, 2020).

Quanto ao enraizamento, a utilização de um biorregulador contendo cinetina, ácido indolbutírico (AIB) e ácido giberélico, não apresentou efeito sob o enraizamento de estacas de eritrina (Vilarinho & Candido, 2014). No entanto, em

geral, as giberelinas são antagônicas à formação de raízes adventícias (Rahman et al., 2004), pois estas atuam em mecanismos que interferem no transporte polar das auxinas (PAT). Híbridos de álamo transgênico superexpressando a biossíntese de ácido giberélico tiveram interferência no transporte polar de auxina (PAT), principalmente em relação ao efluxo de auxina. Desta forma, alterações nas concentrações de ácido giberélico podem afetar o transporte de auxinas e prejudicar o processo de enraizamento (Mauriat et al., 2014). Porém, Ford et al. (2002) ao realizarem tratamento de brotações de cerejeira com concentrações de 10 µg, 30 µg e 50 µg de ácido giberélico verificaram que não houve comprometimento do enraizamento das estacas.

A utilização de reguladores de crescimento como análogos de brassinosteroide e ácido giberélico podem aperfeiçoar etapas importantes na produção de mudas. A aplicação Br, sobretudo na fase de aclimatação, pode favorecer o crescimento da muda recém enraizada. Quanto à pulverização do ácido giberélico em minitouceiras, a promoção do aumento da produção de miniestacas pode ser esperada. Nesse sentido, a utilização destes reguladores podem otimizar os processos para produção de mudas.

4. TRABALHOS

4.1 Brassinosteroids accelerate the growth of *Psidium* hybrids during acclimatization of seedlings obtained from minicuttings ⁽¹⁾

ABSTRACT

Guava rootstocks can be multiplied by rooting minicuttings in a high relative humidity environment, followed by a period of acclimatization. Certain growth regulators favor acclimatization, with brassinosteroids (BRs) used successfully in other fruit. This study aimed to shorten the multiplication time of the BRS Guaraçá hybrid by applying Biobras-16 (BB-16) during the acclimatization of seedlings obtained from minicuttings. The treatments consisted of five concentrations of BB-16 (0; 0.1; 0.3; 0.5 and 1.0 mg L⁻¹), applied in a randomized block and split-plot design, with four repetitions and five seedlings per plot, repeated at two different seasons: in the winter and spring/summer. After 60 days of acclimatization, shoot and root growth indicators increased as a function of BB-16 application, particularly at concentrations between 0.3 and 0.6 mg L⁻¹. Brassinosteroids can be used to stimulate the growth of BRS Guaraçá seedlings obtained from minicuttings, shortening production time and improving seedling quality.

Keywords: Plant growth regulator, guava rootstock, BRS Guaraçá.

⁽¹⁾ Publicado pela Pesquisa Agropecuária Tropical. Received: July 30, 2020. Accepted: Oct. 27, 2020. Published: Nov. 25, 2020. DOI: 10.1590/1983-40632020v5064743.

RESUMO

Porta-enxertos para goiabeira podem ser multiplicados por miniestaquia em ambiente com alta umidade relativa, sendo necessário um período para aclimação. Alguns reguladores de crescimento favorecem a aclimação, sendo os brassinosteroides utilizados com sucesso em outras frutíferas. O objetivo deste trabalho foi reduzir o tempo de multiplicação do híbrido BRS Guaraçá com aplicações de Biobras-16 (BB-16) na fase de aclimação de mudas obtidas por miniestaquia. Os tratamentos foram constituídos por cinco concentrações do BB-16 (0; 0,1; 0,3; 0,5 e 1,0 mg L⁻¹), aplicadas em delineamento experimental com blocos casualizados, em esquema de parcelas subdivididas, com quatro repetições e cinco mudas por parcela, repetidos em duas épocas do ano: no inverno e na primavera/verão. Ao final de sessenta dias da aclimação, os indicadores de crescimento da parte aérea e raízes tiveram incrementos em função da aplicação do BB-16, notadamente nas concentrações entre 0,3 a 0,6 mg L⁻¹. Brassinosteróide pode ser utilizado para estimular o crescimento de mudas do BRS Guaraçá oriundas de miniestaquia, reduzindo seu tempo de produção e incrementando sua qualidade.

Palavras-chave: Regulador de crescimento vegetal, porta-enxertos para goiabeira, BRS Guaraçá.

INTRODUCTION

Brazil is the world's fourth largest guava producer, after India, China and Pakistan (Altendorf 2018), with annual production of 578,000 metric tons in 2018, concentrated primarily in the states of Pernambuco and São Paulo and aimed predominantly at the domestic market (IBGE 2020).

Guava seedlings are generally produced by vegetative propagation, using herbaceous cuttings of commercial varieties (Yamamoto et al. 2010). The minicutting technique can also be used, since no differences have been found between minicuttings and herbaceous cuttings in terms of survival and rooting (Altoé & Marinho 2012). However, this form of propagation makes crops vulnerable to the nematode *Meloidogne enterolobbi*, which, in synergy with the fungal pathogen *Fusarium* sp., causes plant death (Gomes et al. 2010). Crops infested with *M. enterolobii* sustain high economic losses (Pereira et al., 2009). An alternative for cultivation in contaminated areas is the use of hybrid rootstock developed by cross resistant and compatible genotypes, such as *P. guajava* (L.) × *P. guineense* (Sw.) (Costa et al., 2012), *P. cattleianum* × *P. guineense* and *P. guajava* × *P. cattleianum* (Gomes et al., 2017).

In this respect, the production of grafted guava seedlings should become a new reality in commercial nurseries, with rootstock production as the first step to be optimized. Minicuttings show great potential for guava farming, since they shorten production time and provide propagative material under conditions that allow better disease control (Marinho et al., 2009, Altoé & Marinho 2012, Altoé et al., 2013); however, the technique is incipient in commercial propagation and can be optimized, for example, by applying growth regulators at specific stages of the production process, including rootstock production. When obtained in high relative humidity environments, rootstock requires a period of acclimatization and growth to reach the optimal stage for grafting.

Certain plant growth regulators favor acclimatization and brassinosteroids (BRs) have been shown to be efficient for this purpose in several fruit trees (Catunda et al., 2008, Freitas et al., 2012, Gomes et al., 2018, Zheng et al., 2017). Brassinosteroids (BRs) are a class of plant steroid hormones that act in cell elongation, allowing plant growth (Baghel et al., 2019). However, their effect is dependent on the plant growth stage (Freitas et al., 2015), the concentration

applied (Freitas et al., 2014, Wei & Li 2016) and presence or absence of environmental stress (Tanveer et al., 2019).

The aim of this study was to shorten the production time of BRS Guaraçá seedlings for use as guava rootstock. To that end, applications of different BR concentrations were evaluated during the acclimatization of seedlings produced by rooting minicuttings.

MATERIAL AND METHODS

The study was conducted from June to August 2018, representing the first experimental period (winter), and November to December 2018 as the second period (between spring and summer). A randomized block design was used, with split-plots and four repetitions (five plants per plot), repeated at two different times of the year (experimental periods).

It was carried out in a greenhouse and the minicuttings were rooted in an intermittent mist chamber.

The average maximum and minimum temperatures in the mist chamber were 26.7 °C and 19.7 °C in winter and 27.4 °C and 21.9 °C in spring/summer, with respective maximum and minimum relative humidity (RH) of 89.6% and 55.0%, and 87.0% and 61.7% in these same periods.

Maximum and minimum temperature and RH were also measured in the greenhouse during both experimental periods, with respective values of 26.6 °C and 20.2 °C and 87.6% and 53.7% in spring/summer, and 31.3 °C and 24.4 °C and 86.6% and 59.1% in winter. The measurements were obtained using a digital caliper meter.

The treatments consisted of five concentrations (0; 0.1; 0.3; 0.5 and 1.0 mg L⁻¹) of a brassinosteroid analogue (polyhydroxylated spirostane), under the commercial name Biobras-16 (BB-16), sprayed onto the rootstock seedlings during acclimatization.

The plantlets used in the experiments were produced by vegetative propagation of BRS Guaraçá, a hybrid of *Psidium guajava* (L.) and *Psidium guineense* (Sw.), obtained from the research company Embrapa Semiárido. The material was maintained in a greenhouse, under a clonal mini-garden system. The protocol followed to produce seedlings from minicuttings is described by Altoé &

Marinho (2012). The seedlings were pruned to stimulate new sprouts and produce minicuttings.

The minicuttings were prepared from an herbaceous branch, which was segmented to produce another cutting containing two pairs of leaves. The basal leaves were removed and the apical leaves cut in half. Next, the minicuttings were placed in 280 cm³ tubes containing Basaplant® commercial substrate for vegetables and transferred to a mist chamber for 60 days. Moisture content in the mist chamber was maintained above 70% using a mister (Fogger®) that sprayed for 15 seconds every 10 minutes (flow rate and pressure of 7 L h⁻¹ and 4.0 kgf cm², respectively). After 60 days, the minicuttings were moved to a greenhouse covered in 70% shade cloth to acclimatize for 60 days. On the first day of acclimatization, the seedlings were sprayed with 5 ml of BB-16 per plot, at the different concentrations used in the experiment, and every six days thereafter until day thirty, after which sprout length continued to be assessed over the final 30 days of acclimatization.

The brassinosteroid analogue used was Biobras-16 (BB-16, polyhydroxylated spirostane), provided by the Agronomic Institute of Campinas (IAC), but synthesized by the National Institute of Agricultural Sciences in San José de las Lajas, Havana, Cuba.

Throughout the experiment, the plants in all the treatments were submitted to foliar fertilization with 0.1% of urea applied every two weeks, as well as a nutrient solution containing NaH₂PO₄ (1M); Ca(NO₃)₂·4H₂O (2M); KNO₃ (1M); K₂SO₄ (2M); MgSO₄ (2,5 M); and (NH₄)₂SO₄ (1.5 M) and solution “a” containing H₃BO₃ (0.4122g L⁻¹); MnCl₂·4H₂O (1.98 g L⁻¹); CuSO₄·5H₂O (0.24968g L⁻¹); MoO₃ (0.0431g L⁻¹) and ZnSO₄·7H₂O (0.28755g L⁻¹), corrected to pH 5.5 and applied weekly using a pipette, at a volume of 20 mL per tube via the substrate (Bolle Jones, 1954).

Sprout length was measured every six days after emergence, using a digital pachymeter. When two sprouts emerged, only one was measured and the other removed. After 60 days, sprout diameter (measured in the middle of the sprout), internode length and number of leaves were also assessed. Leaf area was determined using a LICOR® LI-3100 area meter. The roots were processed for scanning using WinRhizo® software and their diameter, volume, length and area

calculated. Leaf, stem and root dry weight were determined using an analytical balance, after the material was dried in a forced air oven at 70° C for three days.

The data were submitted to analysis of variance and, when significant at 5% according to the F-test, the means of BB-16 concentrations underwent regression analysis.

RESULTS AND DISCUSSION

The seedlings treated with BB-16 showed a significant increase ($p < 0.05$) in sprout length, particularly at a concentration of 0.3 mg L⁻¹, exhibiting sprouts 3 (Figure 1 a) to 3.7 times longer (Figure 1 b) in winter and spring/summer, respectively, than these of control, after 54 days of acclimatization.

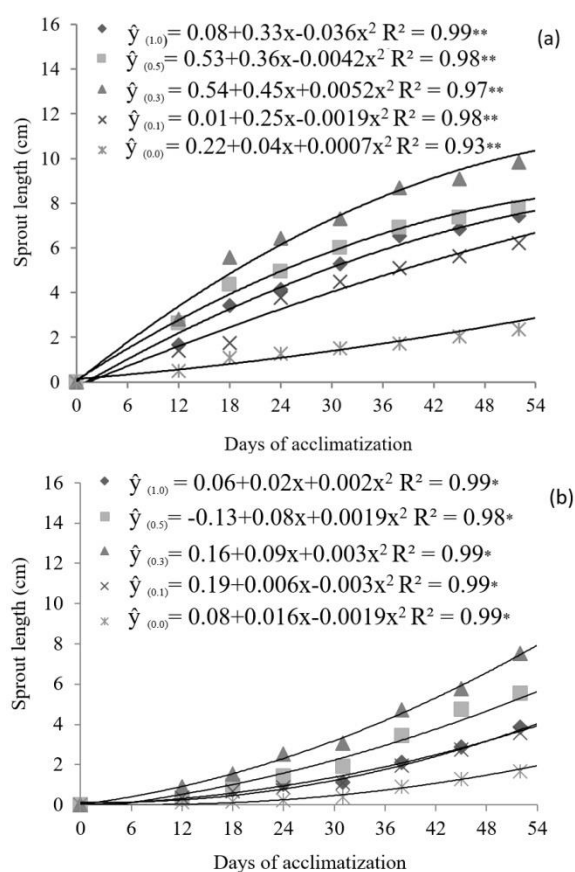


Figure 1. Sprout length of BRS Guaraçá seedlings [*P. guajava* (L.) x *P. guineense* (Sw.)] multiplied via minicuttings and treated with increasing concentrations of BB-16 over a 60-day acclimatization period in winter (a) and spring/summer (b). ** and * significant at 1 and 5% probability, respectively.

In *Tabebuia alba* seedlings, foliar application of a brassinosteroid and gibberellin increased stem and petiole growth rates, related to greater XET activity

(xyloglucan endotransglucosylase), with the brassinosteroid also raising the number of epidermal and mesophyll cells (Ono et al., 2000).

The height of papaya seedlings increased when the plant canopy was treated with BB-16 over three consecutive days, indicating that the regulator may have stimulated shoot apex cells (Gomes et al., 2018). The growth resulting from application of a brassinosteroid analogue to plants may be related to its regulation of aquaporin activity in the plasma membrane, since these proteins improve cell wall flexibility, cell expansion and plant growth (Morillon et al., 2001).

In seedlings treated with BB-16, the rise in leaf area was 4.8 times greater in winter (Figure 2 a) at an estimated concentration of 0.55 mg L^{-1} , and 4.6 times higher in spring/summer at 0.52 mg L^{-1} (Figure 2 b). The number of leaves increased 2-fold in winter at an estimated dose of 0.59 mg L^{-1} (Figure 2 c) and 2.5-fold in spring/summer at 0.56 mg L^{-1} (Figure 2 d).

The maximum sprout diameter was obtained at BB-16 concentrations of 0.56 mg L^{-1} and 0.57 mg L^{-1} de BB-16, representing increases 1.3 and 4.0 times greater than controls for plants treated in winter (Figure 2 e) and spring/summer, respectively (Figure 2 f).

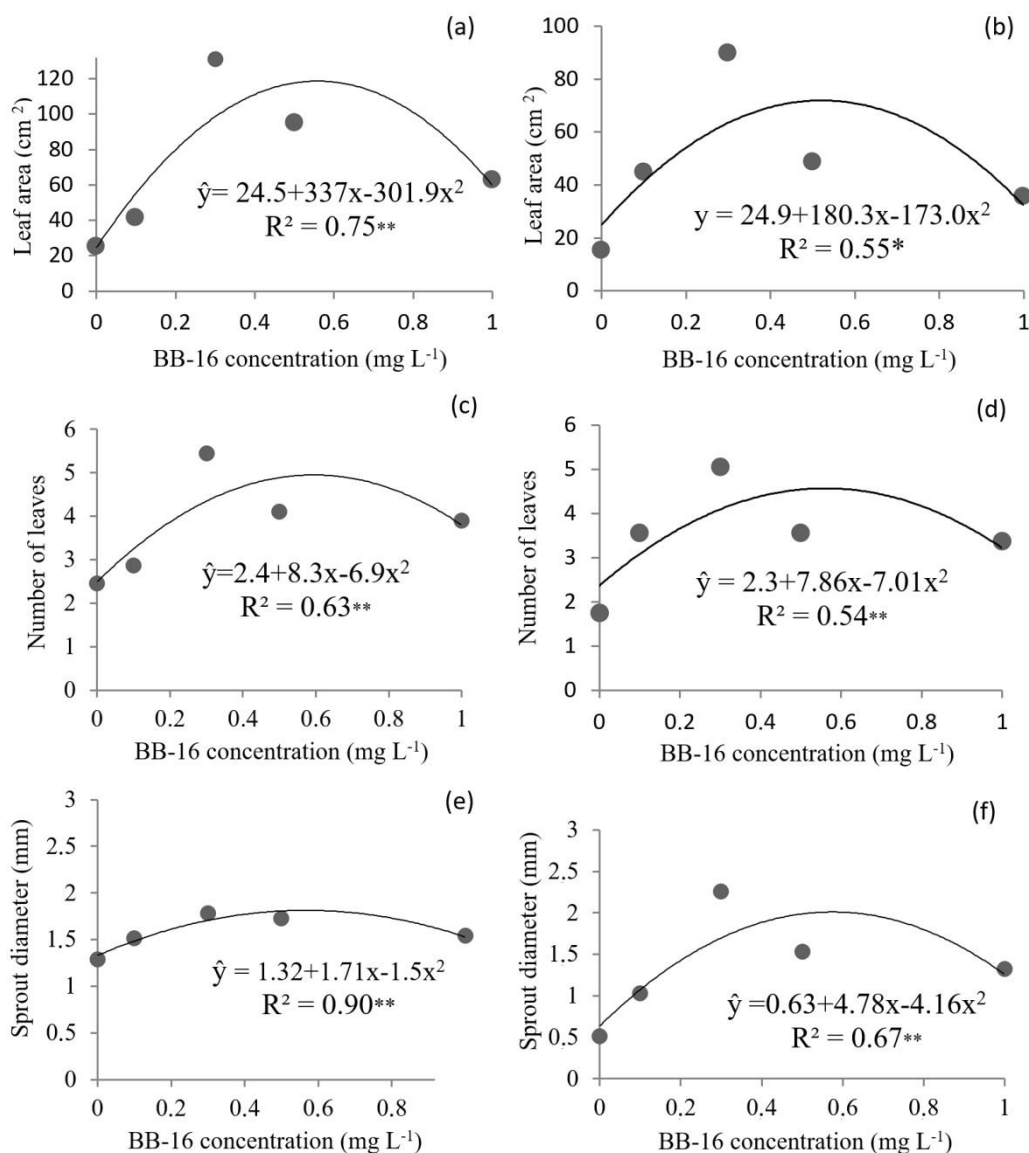


Figure 2. Leaf area in winter (a) and spring/summer (b), number of leaves in winter (c) and spring/summer (d), and sprout diameter in winter (e) and spring/summer (f) of BRS Guaraçá seedlings [*P. guajava* (L.) x *P. guineense* (Sw.)] multiplied via minicuttings and treated with increasing concentrations of BB-16 over a 60-day acclimatization period. ** and * significant at 1 and 5% probability, respectively.

The results indicate that BB-16 application was effective at increasing leaf area, number of leaves and sprout diameter. Oh et al. (2014) observed cell elongation in *Arabidopsis thaliana* with natural concentrations of BR. This effect was related to shared regulation pathways between the plant hormones auxin, brassinosteroid and gibberellin. As such, the increase in the characteristics

assessed may be related to interaction between these pathways, intensified by BB-16 application. The application of brassinosteroid and gibberellin had a positive synergistic effect on the growth of seedlings (Ono et al., 2000). In general, gibberellins promote cell elongation, increasing xyloglucan endotransglucosylase (XET) activity and weakening the cell wall. Cellulose microfibrils are subsequently eradicated and new ones inserted into the cell wall (Taiz & Zeiger 2009). In this context, BR spraying produced an increase in plant mass and size, possibly due to interaction between the growth promoters brassinosteroid and gibberellin.

Carica papaya L. seedlings sprayed with 1 mg L⁻¹ of BB-16 exhibited different results in relation to the number of leaves varying the mode of application. Treatment of the whole canopy provided the greatest increase in number of leaves, with a decline in this variable when only the youngest or oldest leaves were treated. This effect may be related to the fact that BB-16 application delayed leaf senescence in the canopy (Gomes et al., 2018). Zheng et al. (2017) observed greater vegetative growth indicated by canopy diameter, branch length and diameter in *Moringa oleifera* plants treated with 2.4- epibrassinolide (0.8 mg/planta) applied directly to the soil.

Freitas et al. (2014) found that the use of BB-16 in pineapple seedlings increased slip length, leaf area, number of leaves and sprout diameter at estimated doses of 0.79 mg L⁻¹, 0.75 mg L⁻¹, 0.64 mg L⁻¹, 0.68 mg L⁻¹ and 0.68 mg L⁻¹, respectively. On the other hand, Dos Santos et al. (2014) studied the Smooth Cayenne pineapple cultivar and reported that 0.50; 0.75; 1.0; and 1.25 mg L⁻¹ of BB-16, in the presence and absence of humic acid, did not increase leaf area or diameter, number of leaves, root volume or root and shoot dry weight.

In the present study, BRS Guaraçá seedlings treated with BB-16 exhibited a larger leaf area and sprout diameter and more leaves, especially at concentrations between 0.3 mg L⁻¹ and 0.6 mg L⁻¹ (Figure 2). During acclimatization of micropropagated 'Imperial' pineapple seedlings, dry matter accumulation was 2.8 times greater in plants treated with 0.1 mg L⁻¹ of BB-16 when compared to controls grown in commercial substrate. Rosette diameter and leaf width also rose at 0.1 and 0.3 mg L⁻¹, respectively, in seedlings cultivated in commercial substrate (Catunda et al., 2008). Freitas et al. (2012) reported that 0.79 mg L⁻¹ of BB-16

improved seedling growth and 0.64 mg L^{-1} increased the number of leaves, while a dose of 0.75 mg L^{-1} raised leaf area and sprout diameter in seedlings removed from the stem of 'Smooth Cayenne' pineapple plants.

In the present study, seedlings treated with BB-16 exhibited longer roots and higher root dry weight. At an estimated concentration of 0.55 mg L^{-1} , plants treated in winter exhibited 3.0-fold longer roots than control (Figure 3 a), while root growth in those treated with 0.51 mg L^{-1} during spring/summer was 3.4 times higher (Figure b).

In regard to the root dry weight of BB-16-treated seedlings, values were 3 and 4.6 times higher at 0.54 mg L^{-1} in winter (Figure 3 c) and 0.51 mg L^{-1} in spring/summer (Figure 3 d), respectively.

Seedlings obtained from cuttings have difficulty growing during acclimatization because their poorly functional adventitious roots prevent them from absorbing enough water and nutrients (Hoffmann, 2002). In this respect, the use of brassinosteroids during this period is important in improving root volume and quality.

Brassinosteroids have a positive effect on root growth, promoting cell proliferation. *Arabidopsis thaliana* mutants with defective brassinosteroid biosynthesis have shorter roots due to their low cell expansion rate (Wei & Li 2016).

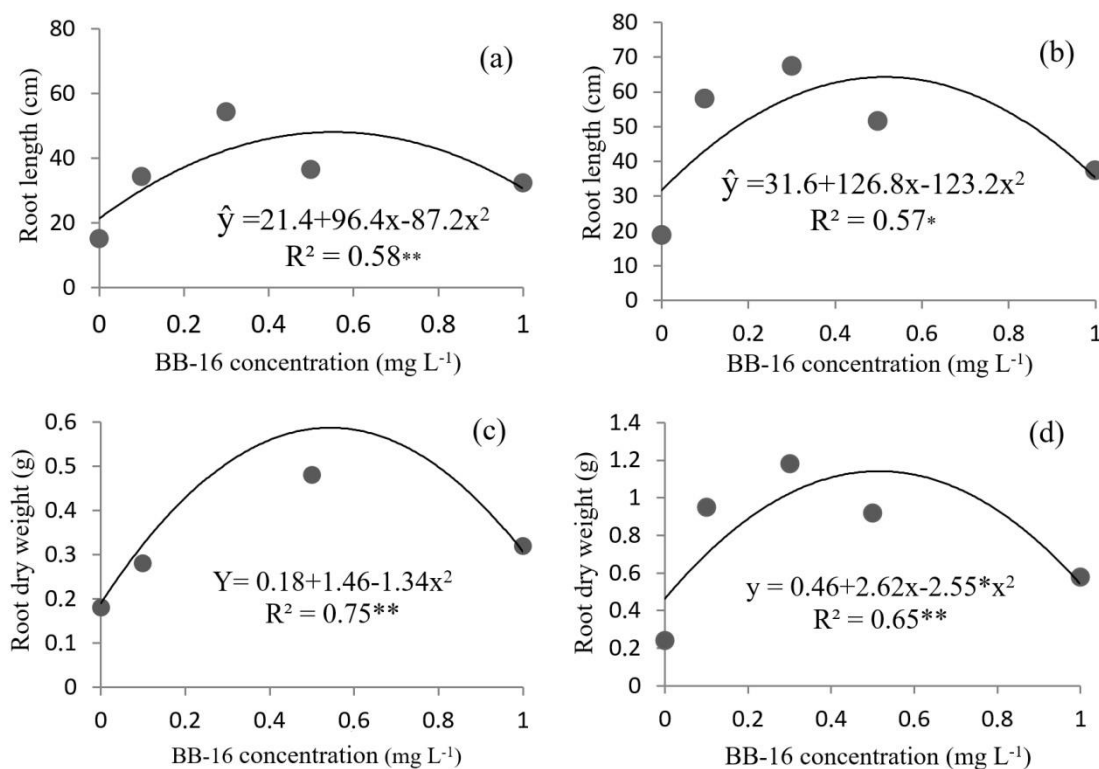


Figure 3. Root length in winter (a) and spring/summer (b), root dry weight in winter (c) and spring/summer (d) in BRS Guaraçá seedlings [*P. guajava* (L.) x *P. guineense* (Sw.)] multiplied via minicuttings and treated with increasing concentrations of BB-16 over a 60-day acclimatization period. ** and * significant at 1 and 5% probability, respectively.

Based on the results obtained, it can be inferred that BB-16 concentrations between 0.3 mg L⁻¹ and 0.6 mg L⁻¹ contributed to shoot and root growth in BRS Guaraçá seedlings in both experimental periods (winter and spring/summer).

The brassinosteroid had a significant effect on leaf and stem dry weight, as well as root volume and area ($p < 0.05$). Leaf and stem dry weight in plants treated in winter were 5.9 and 2.4 times higher at estimated concentrations of 0.52 mg L⁻¹ and 0.5 mg L⁻¹, respectively. Root area and volume were 2.2-fold greater at 0.56 mg L⁻¹ and 0.57 mg L⁻¹, respectively. Root diameter was the only characteristic that showed no significant effect (Table 1).

Seedlings treated in spring/summer showed 4.5 times greater leaf dry weight and 3 times higher stem dry weight at 0.50 mg L⁻¹ and 0.44 mg L⁻¹, respectively, while root volume and area were 2.4 times greater than controls at 0.48 mg L⁻¹ (Table 1).

Catunda et al. (2008) studied the effect of different BB-16 concentrations during acclimatization of micropropagated 'Imperial' pineapple seedlings and found that dry matter production was 2.8 times higher at doses of 0.1 gL⁻¹, with the regulator proving more effective in plants grown in substrate with greater nutrient availability. Freitas et al. (2012) reported that 0.68 mg L⁻¹ of BB-16 increased dry matter and shoot nitrogen content in seedlings removed from the stem of 'Smooth Cayenne' pineapple plants.

Table 1. Polynomial equation of leaf dry weight (LDW), stem dry weight (SDW), root volume (RV), root area (RA), and root diameter (RD) assessed in winter and spring/summer after 60 days of seedling acclimatization

Characteristic assessed	Polynomial equation	R ²
Winter		
LDW	$0.19+3.3x-3.14x^2$	0.73**
SDW	$0.081+0.31x-0.31x^2$	0.45**
RV	$0.46+1.41x-1.24x^2$	0.42**
RA	$34.11+132.16x-115.02x^2$	0.60*
RA	NS	-
Spring/summer		
LDW	$0.37+2.34x-2.32x^2$	0.39**
SDW	$0.061+0.25x-0.28x^2$	0.33**
RV	$0.67+1.95x-2.0x^2$	0.43**
RA	$52.46+136.38x-141.09x^2$	0.41*
RD	NS	-

** and * significant at 1 and 5% probability, respectively.

CONCLUSIONS

- 1- Foliar application of Biobras-16 during acclimatization of BRS Guaraçá, seedlings multiplied, via minicuttings produces significant positive effects on shoot and root growth.
- 2- Concentrations between 0.3 and 0.6 mg L⁻¹ enabled the production of better quality seedlings in less time.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors thank the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes) and Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) for the research grants provided during this study.

REFERENCES

- ALTENDORF, S. *Minor tropical fruits: mainstreaming a niche market*. Rome: FAO, 2018.
- ALTOÉ, J. A. ; MARINHO, C. S. ; FREITAS, I. L. J. Goiabeiras Paluma, Pedro Sato e Cortibel 6 propagadas por miniestaquia e miniestaquia seriada. *Ciência Rural*, v. 43, n.8, p. 1351-1356, 2013.
- ALTOÉ, J. A.; MARINHO, C. S. Miniestaquia seriada na propagação da goiabeira 'Paluma'. *Revista Brasileira de Fruticultura*, v.34, n.2, p. 576-580, 2012.
- BAGHEL, M.; NAGARAJA, A.; SRIVASTAV, M.; MEENA, N. K.; KUMAR, M. S.; KUMAR, A.; SHARMA, R. R. (2019). Pleiotropic influences of brassinosteroids on fruit crops: a review. *Plant Growth Regulation*, v.87, n.2, p.375-388, 2019.
- BOLLE-JONES, E. W. Nutrition of *Hevea brasiliensis*: I. Experimental methods. *Journal of Rubber Research*, v. 14, n. 1, p. 183-191, 1954.
- CATUNDA, P.H.A.; MARINHO, C.S.; GOMES, M.M.A.; CARVALHO, A.J. Brassinosteroid e substratos na aclimação do abacaxizeiro 'Imperial'. *Acta Scientiarum Agronomy*. v. 30, n. 3, p. 345-352, 2008.

COSTA, S.R.; SANTOS, C.A.F.; CASTRO, J.M.C. Assessing *Psidium guajava* × *P. guineense* Hybrids Tolerance to *Meloidogyne enterolobii*. *Acta Horticulturae*, v.954, n.1, p.59-66, 2012.

DOS SANTOS, P. C. ; DA SILVA, M. P. ; FREITAS, S. D. J. ; BERILLI, S. D. S. ; ALTOÉ, J. A.; SILVA, A. D. A.; CARVALHO, A. J. Ácidos húmicos e brassinosteróide no crescimento e estado nutricional de rebentos de coroas de abacaxi. *Revista Brasileira de Ciências Agrárias*, v. 9, n.4, p.532-537, 2014.

FREITAS, J.A.A.; MARINHO, C.S.; FREITAS, I. L. J.; SANTOS, P.C.; SILVA, M.P S.; CARVALHO, A.J .C. Brassinosteróide e fungo micorrízico arbuscular na produção do porta-enxerto tangerineira 'Cleópatra'. *Agrária*, v.10, n.1, p.54-59, 2015.

FREITAS, S.J.; SANTOS, P. C.; BERILLI, S. D. S.; LOPES, L. C.; CARVALHO, A. J. Brotação, desenvolvimento e composição nutricional de mudas de abacaxizeiro provenientes de gemas axilares submetidas ao brassinosteróide. *Agrária* v. 9, n.1, p. 19-24, 2014.

FREITAS, S. J.; SANTOS, P.C; CARVALHO, A.J.C.; BERILLI, S.S.; GOMES, M.M.A. Brassinosteróide e adubação nitrogenada no crescimento e estado nutricional de mudas de abacaxizeiro provenientes do seccionamento de caule. *Revista Brasileira de Fruticultura*, v. 34, n. 2, p. 612-618, 2012.

GOMES V.M.; SOUZA, R.M.; CORRÊA, F.M. DOLINSK, C. Management of *Meloidogyne mayaguensis* in commercial guava orchards with chemical fertilization and organic amendments. *Nematologia Brasileira*, v. 34, n.1, p. 23-30, 2010.

GOMES, V. M.; RIBEIRO, R. M.; VIANA, A. P.; DE SOUZA, R. M.; SANTOS, E. A.; RODRIGUES, D. L.; ALMEIDA, O.F. Inheritance of resistance to *Meloidogyne enterolobii* and individual selection in segregating populations of *Psidium spp.* *European Journal of Plant Pathology*, v. 148, n.3, p. 699-708, 2017.

GOMES, M. M. A.; PINHEIRO, D.T.; BRESSAN-SMITH, R.; CAMPOSTRINI, E. Exogenous brassinosteroid application delays senescence and promotes hyponasty in *Carica papaya* L. leaves. *Theoretical and Experimental Plant Physiology*, v. 30, n.3, p. 193 - 201, 2018.

HOFFMANN, A. Aclimação de mudas produzidas in vitro e in vivo. *Informe Agropecuário*, v.23, p.21-24, 2002.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). Levantamento sistemático da produção agrícola. 2020. Disponível em: www.sidra.ibge.gov. Acesso em: 30 mar. 2020.

MARINHO, C. S.; MILHEM, L. M. A.; ALTOÉ, J.A.; BARROSO, D.G.; POMMER, C.V. Propagação da goiabeira por miniestaquia. *Revista Brasileira de Fruticultura*, v. 31,n.2, p. 607-611, 2009.

MORILLON, R.; CATTEROU, M.;SANGWAN, B.S.; LASSALLES, J.P. Brassinolide may control aquaporin activities in *Arabidopsis thaliana*. *Planta*, v.212, n.2, p.199-204, 2001.

OH, E.; ZHU, J. Y.; BAI, M. Y.; ARENHART, R. A.; SUN, Y.; WANG, Z. Y. Cell elongation is regulated through a central circuit of interacting transcription factors in the *Arabidopsis* hypocotyl. *eLife*, v.3, p. e03031, 2014.

ONO, O. E.; NAKAMURA, T.; MACHADO, S.R.; RODRIGUES, J.D. Application of brassinosteroid to *Tabebuia alba* plants. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal*, v. 12, n. 3, p. 187-194, 2000.

PEREIRA, F. O. M.; SOUZA, R. M.; SOUZA, P. M.; DOLINSKI, C.; SANTOS, G. K. Estimativa do impacto econômico e social direto de *Meloidogyne mayaguensis* na cultura da goiaba no Brasil. *Nematologia Brasileira*, v. 33, n. 2, p. 176-181, 2009.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. Fisiologia vegetal.4.ed. Porto Alegre: Artmed, 2009.

TANVEER, M.; SHAHZAD, B.; SHARMA, A.; KHAN, E. A. 24-Epibrassinolide application in plants: An implication for improving drought stress tolerance in plants. *Plant Physiology Biochemistry*, v.135,n.1, p. 295-303, 2019.

WEI, Z.; LI, J. Brassinosteroids regulate root growth, development, and symbiosis. *Molecular Plant*, v. 49, n. 1, p. 86-100, 2016.

YAMAMOTO, L.Y.; BORGES, R.S.; SORACE, M.; RACHID, B.F.; RUAS, J.M.F.; SATO, O.; ASSIS, A.M.; ROBERTO, S.R. Enraizamento de estacas de *Psidium guajava* (L.) 'Século XXI' tratadas com ácido indolbutírico veiculado em talco e álcool, *Ciência Rural*, v.40, n.5, p. 1037-1042, 2010.

ZHENG, Y.; XU, B.; REN, K.; ZHANG, Y.; WU, J. Impact of soil drench and foliar spray of 24-epibrassinolide on the growth, and quality of field-grown *Moringa oleifera* in Southwest China. *Journal Plant Growth Regulation*, v. 36, n.4, p. 931-941, 2017.

4.2 Management of clonal mini-garden with gibberellic acid in guava rootstock propagation ⁽¹⁾

Manejo de minijardim clonal com ácido giberélico na propagação de porta-enxerto para goiabeira

Highlights:

The guava propagation method is strategic for new crops.

The new 'BRS Guaraçá' rootstock can be propagated by mini-cuttings.

The management of mini-stumps with gibberellic acid increases propagule production.

The season of the year defines the concentration of gibberellic acid to be used.

The greatest rooting potential through mini-cuttings was 95% in the summer.

Abstract: The viability of the mini-cutting technique requires seedling regrowth ability and continuous propagule production. It is hypothesized that the application of gibberellic acid (GA) can stimulate vegetation and increase the production of mini-cuttings. The aim of this study was to increase the mini-cutting yield of *Psidium guajava* (L.) × *Psidium guineense* (Sw.) ('BRS Guaraçá') as a function of foliar application of GA and season of the year. The experiment was laid out in a randomized-block design with split-plots in time, in which the plots consisted of different GA concentrations applied (0, 50, 100, 150 and 200 mg L⁻¹) and the subplots were represented by two application periods or seasons (summer and winter). Four replicates were used, with two plants per plot. After the seedlings were topped, GA was applied at different concentrations and the emerged shoots were evaluated over 30 days. Mini-stump yield was assessed by collecting and evaluating the potential number of mini-cuttings. Shoot length and mini-stump yield increased linearly with the increasing GA concentrations during the summer. In the winter, this response was quadratic, with optimal concentrations estimated at 65.3 mg L⁻¹ for shoot length and 76 mg L⁻¹ for mini-stump yield. The GA concentration of 200 mg L⁻¹ provided shorter internodes in the summer, whereas in the winter the

⁽¹⁾ Publicado pela Revista Semina Ciências Agrárias (Londrina). Received: Nov. 09, 2020- Approved: Jan. 12, 2021. DOI: 10.5433/1679-0359.2021v42n3Supl1p1579.

use of GA did not interfere with this trait. The increasing applications of GA induced a linear increase in stem diameter at both seasons of the year. Gibberellic acid did not interfere with the rooting of the mini-cuttings. The highest rooting percentage occurred in the summer, with an average of 95%. In the winter, this value was 77.2%, demonstrating that mini-cuttings are a promising technique for 'BRS Guaraçá'. Foliar spraying of GA promoted an increase in mini-cutting production, without interfering with their rooting.

Key words: *Psidium guajava* (L.) × *Psidium guineense* (Sw). 'BRS Guaraçá'. GA₃.

Resumo: A viabilidade da mini-estaquia requer capacidade de rebrota das mudas e produção contínua de propágulos. A aplicação de ácido giberélico pode estimular a vegetação e proporcionar aumento na produção de mini-estacas, como hipótese. O objetivo deste trabalho foi aumentar a produtividade de minijardins de *Psidium guajava* (L.) × *Psidium guineense* (Sw.) ('BRS Guaraçá'), em função da aplicação foliar de ácido giberélico (AG) e da época do ano. O delineamento empregado foi em DBC, em parcelas subdivididas no tempo, sendo as parcelas constituídas por plantas submetidas a diferentes concentrações de AG (0, 50, 100, 150 e 200 mg L⁻¹) e as subparcelas constituídas por duas épocas de aplicação (verão e inverno), com quatro repetições e duas plantas por parcela. Após despolpa das mudas, o AG foi aplicado em diferentes concentrações e as brotações emitidas foram avaliadas ao longo de trinta dias. A produtividade das minitouceiras foi avaliada por coleta e avaliação do número potencial de mini-estacas. O comprimento da brotação e a produtividade das minitouceiras aumentaram linearmente em função do aumento das concentrações de AG durante o verão enquanto que no inverno, essa resposta foi quadrática com as concentrações ótimas estimadas em 65,3 mg L⁻¹ para comprimento de brotações e 76 mg L⁻¹ para produtividade das minitouceiras. A concentração de 200 mg L⁻¹ possibilitou o menor comprimento de internódio no verão, no inverno, a utilização do AG não interferiu nessa característica. As aplicações crescentes de AG aumentaram linearmente o diâmetro do caule nas duas épocas do ano. O AG não interferiu no enraizamento das mini-estacas. O maior percentual de enraizamento

ocorreu no verão, com média de 95% e no inverno este valor foi de 77,2%, evidenciando a mini-estaquia como técnica promissora para 'BRS.

Guaraçá'. A pulverização do AG via foliar promoveu aumento da produção de mini-estacas, não interferindo no seu enraizamento.

Palavras-chave: *Psidium guajava* (L.) × *Psidium guineense* (Sw). 'BRS Guaraçá'. AG₃.

Introduction

Brazil is the fourth largest guava producer in the world (Altendorf, 2018). In the 2018 harvest, the country produced 578,000 t of the fruit from a cultivated area of 21,000 ha, with the most representative states being Pernambuco and São Paulo (Instituto Brasileiro de Estatística e Geografia (IBGE), 2020). Guava farming is important for Brazilian agriculture, as it meets the demands of the fresh fruit consumption market and the agribusiness. The fruit is used as main raw material for the manufacture of juices, jams, jellies and enriched flours (Velasco-Arango, Bernal-Martínez, Ordóñez-Santos, & Hleap-Zapata, 2020; Kadam et al., 2012). In view of the importance of this fruit crop for national agriculture, the renovation and implantation of new orchards have a critical point in the success of commercial exploitation.

The propagation of guava has become a strategic process for establishing new crops in areas already contaminated or with the possibility of contamination by the nematode *Meloidogyne enterolobii*. A possible approach to solve this problem is the use of resistant rootstocks, which would allow the continued use of the same cultivars in established markets. A rootstock with this characteristic has been developed from the cross between *Psidium guajava* (L.) and *Psidium guineense* (Sw.), called 'BRS Guaraçá'. However, it does not bear viable seeds (Costa, Santos, & Castro 2012), making vegetative propagation essential for its use. Therefore, propagation techniques that allow an optimized multiplication process for this rootstock must be employed.

The mini-cutting technique consists of cultivating parents of tree plants in containers installed in protected-environment conditions. The parents are topped

for the emergence of lateral shoots, forming mini-stumps, whose herbaceous shoots are used in the production of mini-cuttings to be rooted in an environment with high moisture saturation. This approach, first applied in the propagation of forest species (Dias, Oliveira, Xavier, & Wendling, 2012; Ferriani, Zuffellato-Ribas, & Wendling, 2010), has also been successfully used in the propagation of guava and Cattley guava (*Psidium cattleyanum*) species. As such, it has even been indicated for seedling production (Altoé, Marinho, & Freitas, 2013; Altoé, Marinho, Terra, & Carvalho, 2011a) as well as for the multiplication of accessions for use in breeding or in the recovery of degraded areas (Biazatti, Marinho, Arantes, & Guilherme, 2018; Altoé, Marinho, Terra, & Barroso, 2011b).

Advantages of using clonal mini-gardens include the possibility of a higher frequency of material collection and the use of less space for the establishment of plants, which facilitates management (Ferriani et al., 2010). However, important differences exist in the production of lateral shoots due to topping, which vary according to genotype and environmental factors (Pimentel et al., 2019; Silva, Reiniger, Rabaiolli, Stefanel, & Ziegler, 2019; Altoé et al., 2011a). In this respect, continuous production of mini-cuttings is important for the viability of use of this technique.

In this scenario, substances that can promote such behavior may be employed, e.g., certain growth regulators that promote the emergence and growth of new shoots. The use of some of these substances may favor shoot emergence and elongation. Gibberellic acid (GA), for instance, has been researched in some crops. Porto et al. (2018) found that a species of yellow cattley guava showed increased height, leaf area and survival when subjected to treatment with GA. In sapodilla plants (*Manilkara achras*), treatment with GA provided maximum shoot growth (Malshe, Desai, & Palshetkar, 2016). The time of year also interferes with the propagation and quality of propagules (Pimentel et al., 2019), which can influence the performance of GA on these characteristics.

The analogues have favored an increase in shoot length, since this regulator plays a role in induces cell stretching (Parween, Mishra, Adil, Pal, & Jha, 2019).

The greater number of mini-cuttings produced in response to the GA application management on 'BRS Guaraçá' mini-stumps can optimize the mini-

cutting strategy for the multiplication of this hybrid. To this end, it is important to test it at different times of the year.

This study proposes to increase the mini-garden yield of 'BRS Guaraçá' through foliar application of a GA solution as well as examine the effect of the time of the year or season on its effectiveness.

Material and Methods

The experiment was carried out in a greenhouse shaded with 50% shade cloth (Sombrite®), at the State University of Northern Rio de Janeiro. The temperature and relative humidity (RH) means during the experiment were recorded by a digital thermo-hygrometer. Figure 1A describes the temperatures and RH inside the mist chamber. The average maximum and minimum temperatures were 31.5 and 20 °C, respectively. The highest and lowest RH were 91.6 and 55.6%, respectively. During the experiment, in the summer, the average maximum temperature in the greenhouse was 31 °C, while the average minimum was 24 °C. The highest RH was 87.6% and the lowest 54.8%. In the winter, the highest temperature was 26.3 °C and the lowest 17.9 °C; for RH, 87.4% was the highest recorded mean and 48% the lowest (Figure 1B).

'BRS Guaraçá' originated from the Active Germplasm Bank of Embrapa Semiárid. The seedlings were used to establish a clonal mini-garden (first cultivation) in 7-L pyramidal pots. The pots were filled with the Basaplant® commercial substrate and with single superphosphate fertilizer (6 g L⁻¹), limestone (30 g L⁻¹) and Osmocote® (6.6 g L⁻¹) in the 14-14-14 formulation. Throughout the experiment, the plants were fertilized with 7.6 g urea, 24.7 g single superphosphate and 2.8 g potassium chloride per pot, which were split into three applications at 14-day intervals (Biazatti et al., 2018). Foliar fertilization with Bordeaux mixture was performed every two weeks. The seedlings from the mini-garden were initially trained on a single stem. The first pruning was performed on lignified tissue, leaving approximately four pairs of mature leaves. New shoots formed the mini-stump, which was trained in a three-main-branch system. With each new pruning, the main branches were pruned on lignified tissue. This mini-garden was pruned in the fall for the first time, to produce new shoots, which were

used to produce the mini-cuttings, with two pairs of apical leaves and with the blade cut in half. The base of the mini-cuttings was dipped for 10 s in an indolebutyric acid solution (1500 mg L^{-1}), as recommended by Ferreira et al. (2013) for 'BRS Guaraçá'.

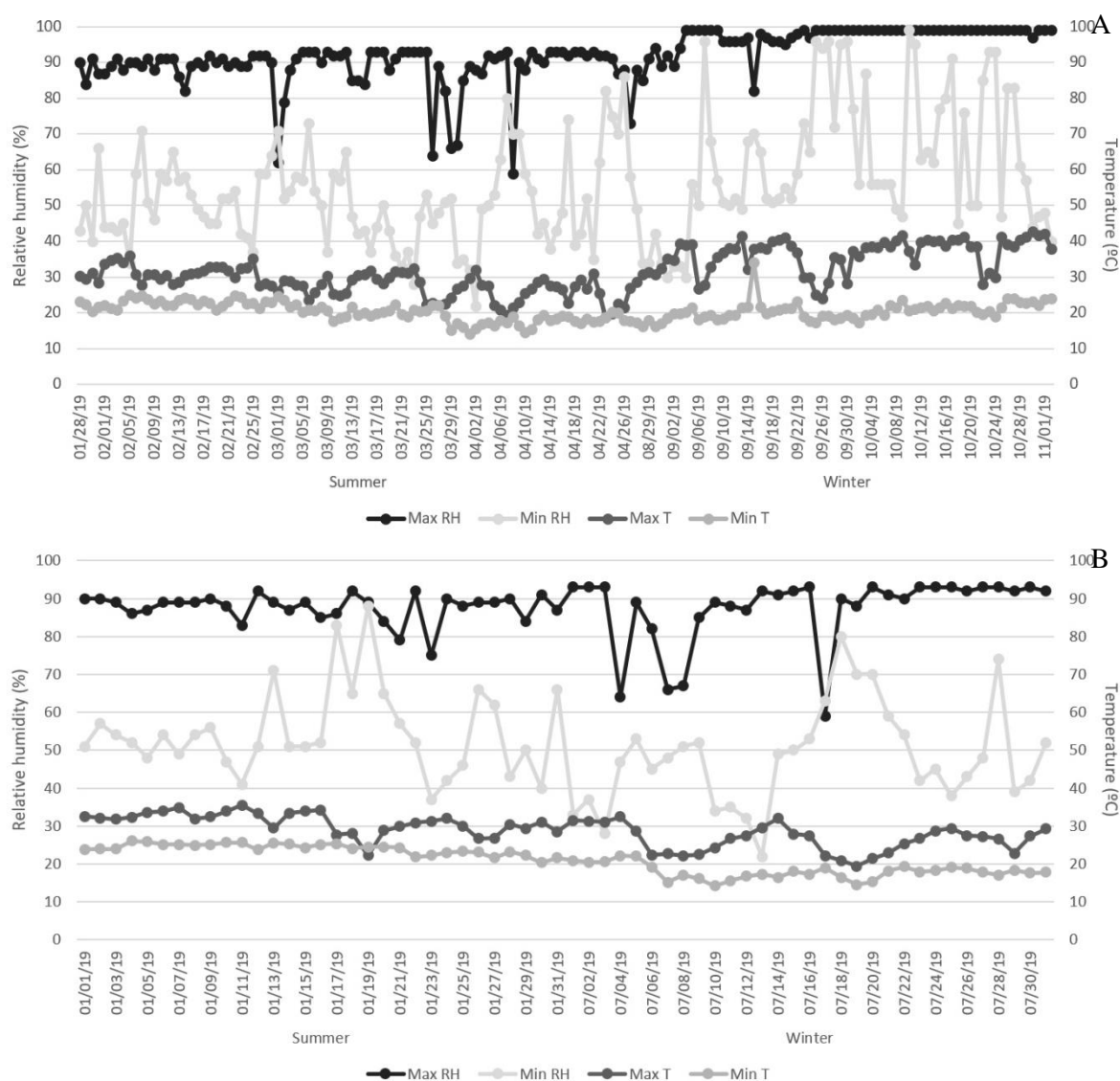


Figure 1. Maximum and minimum relative humidity and temperature recorded inside the mist chamber and measured in the greenhouse during the two evaluation periods: inside the mist chamber (A) and greenhouse (B).

The mini-cuttings were then placed in 280-cm^3 tubes containing Basaplant® as substrate and subsequently taken to the mist chamber in a regime of 15-s spraying time, 10-min intervals, 7-L h^{-1} flow and 4.0 kgf cm^{-2} pressure,

where they remained for 60 days (Altoé et al., 2011a). After this period, the mini-cuttings were taken to acclimatization, during which time newly rooted seedlings were removed from the mist chamber and transferred to a more shaded place (70% shade cloth). Seedlings were irrigated twice a day with a fine-sieve watering can and remained in these conditions for 30 days.

After the previously mentioned period, the new seedlings were transplanted into 3.8-L pots. These pots were filled with the same substrate and fertilized in the same way as in the first cultivation. The plants were irrigated with a water volume of 250 mL twice a day during the summer and once a day during the winter. Seedlings were arranged on a workbench (1.15 m wide × 5 m long), at a height of 1 m from the ground, with 0.70-m spacing between rows and 0.27 m between pots in the same row. The clonal mini-garden of 'BRS Guaraçá' was trained on a single stem with the support of stakes, and when all the plants reached a woody aspect in the region of the fifth pair of leaves, at 240 days after transplanting, pruning was performed for the first time (summer).

The experiment was laid out in a randomized-block design with split-plots in time, in which the plots consisted of five concentrations of GA (0, 50, 100, 150 and 200 mg L⁻¹) and the subplots were represented by the application times (summer and winter). Four replicates were used, with two plants per plot.

After the first pruning, performed in the morning, the GA solutions were applied in the same period, according to each treatment. The plants were sprayed foliarly with 25 mL of Progibb[®] per plot. Progibb[®] is a commercial product containing 40% w/w gibberellic acid (GA₃) and (3S,3aS,4S,4aS,7S,9aR,9bR,12S)-7,12-dihydroxy-3-methyl-6-methylene-2-oxoperhydro-4a,7-methano-9b,3-propenoazuleno [1,2-b] furan-4-carboxylic acid.

Applications were performed in the morning. In the second season (winter), with the mini-stumps already formed, a new pruning procedure was carried out to bring the plants back into a single stem. Immediately after this new pruning, GA application was repeated.

The number of shoots emerged and shoot diameter (mm) were evaluated using a digital caliper. These evaluations were carried out 30 days after the application of GA in January and July of the same year. To determine shoot length and diameter, the shoot was marked with a tape on each mini-stump and

measured weekly, over 28 days. Mini-stump yield, internode length and mini-cutting production were evaluated after the other shoots reached the point indicated for the production of mini-cuttings (leaves fully expanded and branch with herbaceous aspect). Each shoot originated more than one mini-cutting, which was made with two nodes and two pairs of leaves.

To evaluate the rooting potential of the mini-cuttings, shoots were collected in both seasons (summer and winter) 30 days after GA application. The mini-cuttings were made with two pairs of leaves, one of which was removed and the other kept, but with the blade cut in half, using the same methodology described for establishing the second clonal mini-garden. The mini-cuttings were placed in 280-cm³ tubes containing the commercial substrate Basaplant[®] and taken to a mist chamber with the same spraying regime used in the establishment of the second clonal mini-garden, where they remained around 60 days.

After 60 days in the mist chamber, the seedlings were evaluated for the distance between internodes, using a digital caliper, and for rooting percentage.

Number of shoots and rooting percentage data were $(x + 0.5)^{0.5}$ and arcsine $(x + 0.5)^{0.5}$ transformed, respectively, to meet the assumptions of normal distribution. The data were subjected to analysis of variance. Statistical analysis followed the model of split-plots in time. When there was a significant effect of GA concentrations, the means of the concentrations were subjected to regression analysis and the best-fitting curves were chosen, whereas the means of the two seasons were compared by the F test at 5%. In the case of a significant interaction between the two factors, the concentrations were decomposed within each season. Shoot length evaluated weekly at each time of the year was also subjected to analyses in a split-plot-in-time arrangement, adjusting the best fitting curves in case of significance.

Results and Discussion

There was a significant interaction effect between the GA concentrations and the evaluated seasons (winter and summer) for shoot length (Figures 2 and 3). Shoots were longer in the summer than in the winter ($p < 0.05$). In the summer, this variable increased linearly in response to the GA concentrations, whereas in winter, the GA concentration that provided the greatest growth was estimated at 65.3 mg L⁻¹, at 28 days after spraying (Figure 2).

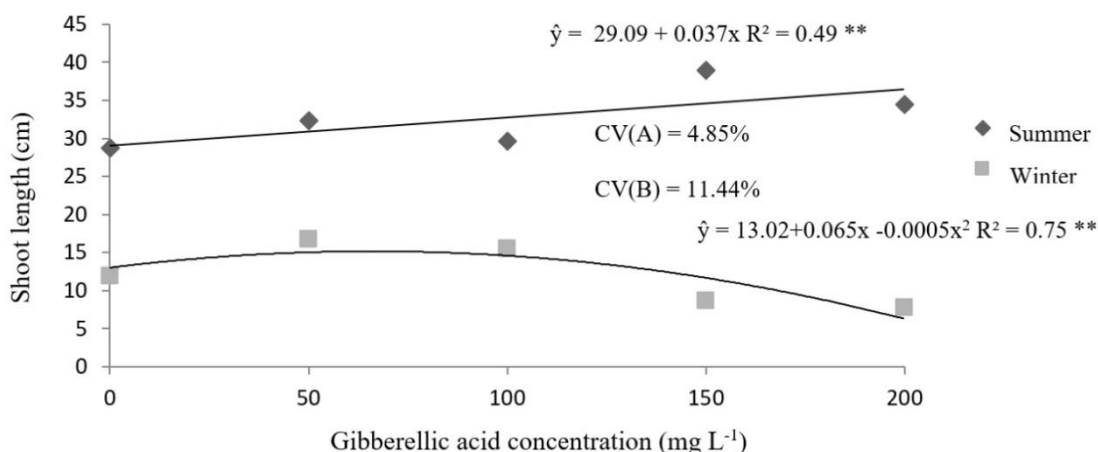


Figure 2. Shoot length of BRS-Guaraçá seedlings maintained in a mini-stump system and treated with increasing concentrations of gibberellic acid in the winter and summer, at 28 days of evaluation, at 1% probability. CV (A) = coefficient of variation in the plot and CV (B) = coefficient of variation in the subplot.

The differences observed for the length of seedlings treated in the summer and winter may be related to the fact that vegetative growth is normally stimulated by higher temperatures. Peña, Zanette and Biasi (2015) found, in mini-gardens of surinam cherry (*Eugenia uniflora* L.), another Myrtaceae, that shoots had greater growth in the summer than in the winter. In the present study, the natural stimulus for greater growth seen in the summer was influenced by an additive effect from of the GA applications.

The greater branch length observed in 'BRS Guaraçá' treated with gibberellin may be related to the application of GA in a period of higher temperature (Figure 2). In the winter, the shoots were shorter, and the use of GA doses contributed to increasing their growth up to the maximum effective concentration, causing a detrimental effect at higher concentrations. During the winter, shoots usually grow less, in which case applications of higher GA concentrations can accumulate in the smaller shoot mass, causing a phytotoxic effect. In the present study, the plants treated with GA showed a less vigorous aspect, with reduced height during this season; however, there were no phytotoxicity effects such as etiolation, yellowing, chlorosis or necrosis. The phytotoxicity of GA was observed by Oliveira et al. (2014) in micro-cuttings of 'Tainung 01' papaya under the treatment consisting of the highest dose used (2.0 mg L⁻¹), which caused damage to leaf development, with symptoms of yellowing.

Figures 3A and 3B illustrate shoot growth at seven-day intervals after the application of GA, for the summer and winter, respectively. At 28 days after application, the concentration of 150 mg L⁻¹ provided the highest average shoot length in the summer (Figure 3A), which was achieved with 50 mg L⁻¹ in the winter (Figure 3B). Lower effective concentrations were also found in other species, as in ‘Tiger Flame’ gladiolus, which responded to the GA concentration of 50 mg L⁻¹, which stimulated greater plant height and leaf width after 20 days of application (Padhi, Sisodia, Pal, Kapri, & Singh, 2018). However, in cattley guava grown in pots, Porto et al. (2018) found that foliar spraying of GA at the concentrations of 100, 200 and 300 mg L⁻¹ provided greater height growth in cattley guava seedlings. Thus, the effective concentrations found in this study are in agreement with the range of effective concentrations of GA observed in other studies. Nonetheless, we found that lower concentrations can be used in the winter.

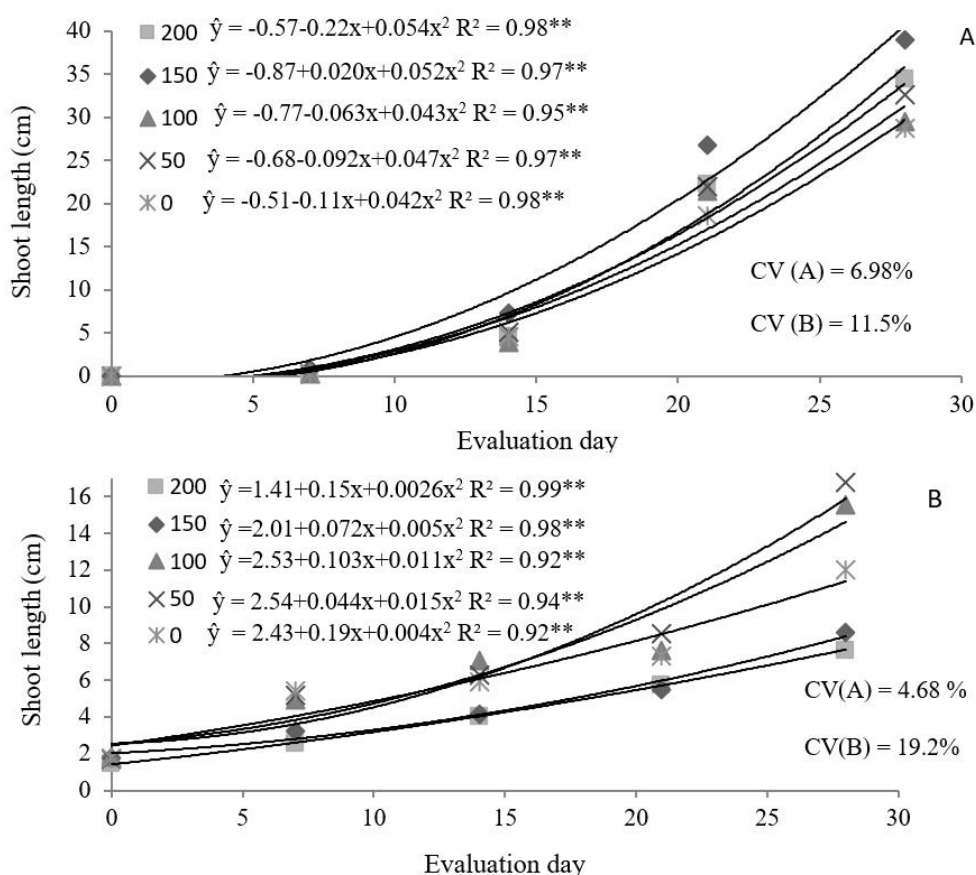


Figure 3. Shoot length of ‘BRS Guaraçá’ seedlings maintained in a mini-stump system treated with increasing concentrations of gibberellic acid in the summer (A) and winter (B), at 28 days of evaluation, at 1% probability. CV (A) = coefficient of variation in the plot and CV (B) = coefficient of variation in the subplot.

Plants have less vegetative development in periods of lower temperatures. The time when shoots are collected from the parental plant for making mini-cuttings interfered with shoot growth, and the period of higher temperatures was the best contributor to this gain (Peña et al., 2015).

The number of shoots per mini-stump was not significantly affected by the GA concentrations or their interaction with the evaluated seasons. However, there was an isolated effect of the application period, with the number of shoots in the summer being almost twice as high as in the winter (Table 1).

In general, mini-stumps are more prone to producing shoots during the period of higher temperatures. Silva et al. (2019) found a lower number of shoots in a clonal mini-garden of *Luehea divaricata* in the lower-temperature months. Low temperatures reduce shoot emergence, and vegetative development then occurs in a less pronounced manner, which results in shorter branches and lower mini-stump yields. However, deleterious effects of higher temperatures can also reduce the yield of guava mini-cuttings, as observed by Altoé et al. (2011).

Table 1
Number of shoots per mini-stump of *P. guajava* (L.) × *P. guineense* (Sw.) treated with gibberellic acid concentrations in two evaluation periods (January and July)

GA concentration	January (Summer)	July (Winter)	Mean
0 mg L ⁻¹	5.37	3.5	4.43 ns
50 mg L ⁻¹	5.5	2.87	4.18
100 mg L ⁻¹	6.0	2.62	4.31
150 mg L ⁻¹	5.87	2.37	4.12
200 mg L ⁻¹	4.87	2.5	3.68
Mean	5.52 A*	2.77 B	
CV (A)	4.4 %		
CV(B)	7.2 %		

ns = not significant by the F test.

*Means followed by the same uppercase letters in the row do not differ by the F test (5%).

Analysis performed after the data were $(x + 0.5)^{0.5}$ transformed.

The displayed means are the original ones.

Mini-cutting production from the mini-stumps increased linearly in the summer and showed a quadratic response in the winter, whose estimated GA concentration for optimal production was 76 mg L⁻¹ (Figure 4 A). On the other hand, internode length exhibited the inverse response, having a quadratic effect in the summer, with the use of 200 mg L⁻¹ GA providing the lowest values, and a

linear increase in the winter (Figure 4B).

The application of higher concentrations of GA favored the increase in vegetative propagules of 'BRS Guaraçá' during the summer. Peña et al. (2015) observed that surinam cherry seedlings produced more shoots during the summer season and concluded that the temperature helped bud development and shoot growth. In the winter, tropical plants such as guava trees tend to have their budding stimulus slowed (Ramos et al., 2011). In the current study, not even the use of GA was able to improve the effects related to the production characteristic of mini-cuttings in the winter, since there was less vegetative development at this time.

Overall, the time of year was found to influence mini-cutting production, and the use of GA provided an increase in this production in hotter or colder periods, although different concentrations were needed for each of these.

A shorter internode length is important to obtain a higher number of propagules. In the present study, at the time of higher temperatures when the experiment took place, the internodes shortened at the highest GA concentration used. This effect is opposite to that reported in the literature for most crops (Zhang et al., 2020; Davies, 2010). The internode elongation observed in the mini-stumps treated in July is the typical action expected when GA is applied, since the use of this regulator tends to favor internode elongation (Davies, 2010). From the treatment with GA, epidermal cells initiate elongation processes provided by divisions in cortex and epidermal cells. Thus, genes that express gibberellin 2-oxidase are highly found among tissues. Elongation is also due to the synergy between gibberellins and auxins, which promotes cell wall growth and expansion (Davies, 2010). In the present study, the shortening of internodes due to the increasing GA concentrations, observed in the summer, did not result in a shorter shoot length, that is, it did not interfere with vigor in general, allowing the production of a greater number of cuttings. Another important result is that shoot diameter responded linearly to the GA concentration applied in both evaluated seasons (Figure 4C).

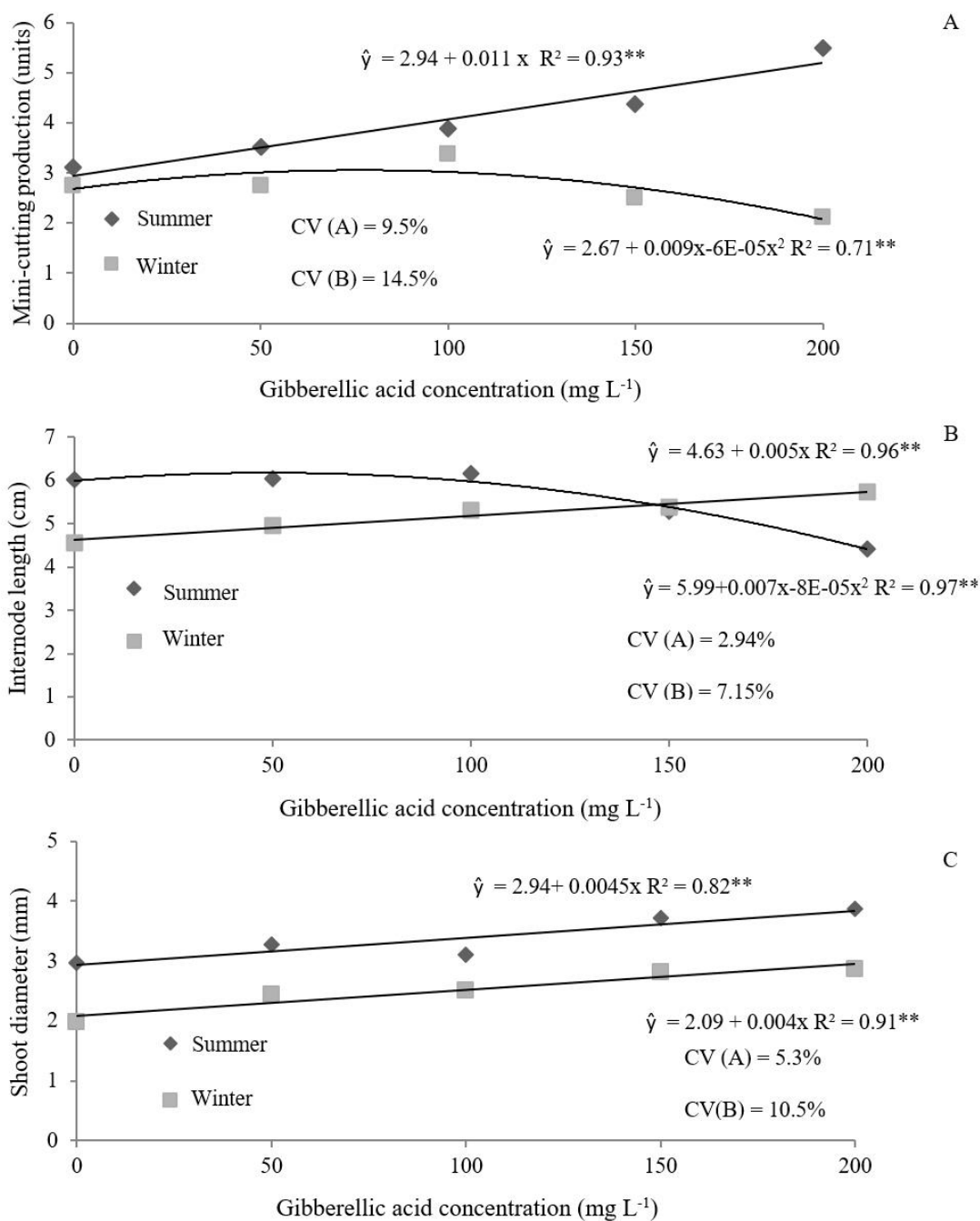


Figure 4. Mini-cutting production, internode length and shoot diameter of ‘BRS Guaraçá’ seedlings maintained in a mini-stump system and treated with increasing concentrations of gibberellic acid, in the summer (A) and winter (B), ** Significant at 1%. CV (A) = coefficient of variation in the plot and CV (B) = coefficient of variation in the subplot.

Shoot diameter is important for making herbaceous mini-cuttings, since, after rooting, if these seedlings are used as rootstocks, this step can occur more quickly according to stem thickness (Gomes et al., 2010; Campos, Marinho, Portella, Amaral, & Carvalho, 2017), as it allows for faster grafting.

Matos et al. (2015) evaluated different concentrations of GA in eucalyptus clones and demonstrated that the treatment with 150 mg L⁻¹ provided a 29% increase in stem diameter in comparison to control. In the present study, the mini-stumps responded linearly, regardless of the time of year, when the GA treatment was performed. This finding suggests that the higher the GA concentration, the greater the stem diameter growth response of emerged shoots.

The GA treatments on the mini-stumps did not interfere with the rooting capacity of the mini-cuttings. However, the mini-cuttings exhibited greater rooting in the summer, with values higher than 95% (Table 2). The mini-cuttings strategy has provided high rooting rates in *Psidium* species (Altoé et al., 2013, 2011a,b), which was confirmed in the present study. According to Biazatti et al. (2018), the summer was the best time for rooting. Altoé et al. (2011) found that 'Cortibel 1' mini-cuttings had the lowest rooting percentages in the months of June and November. In the present study, the rooting percentages were considered high in both seasons, although higher in the summer, which is another positive characteristic for the propagation of this genotype through mini-cuttings.

Table 2
Rooting of mini-cuttings after 60 days of rooting in the mist chamber, in plants treated with GA at two times of the year

GA concentration	January 2019 (Summer)	July 2019 (Winter)	Mean
0 mg L ⁻¹	85.00	80.00	82.5 ns
50 mg L ⁻¹	97.50	80.00	88.7
100 mg L ⁻¹	97.50	80.00	88.7
150 mg L ⁻¹	97.50	73.00	85.2
200 mg L ⁻¹	97.50	73.00	85.2
Mean	95 A*	77.2 B	
CV (A)	3.5 %		
CV (B)	7.6 %		

ns = not significant by the F test.

*Means followed by the same uppercase letters in the row do not differ by the F test (5%).

Analysis performed after the data were arcsine $(x + 0.5)^{0.5}$ transformed.

The displayed means are the original ones.

Gibberellins usually inhibit the formation of adventitious roots, as they act in a way that impairs polar auxin transport (Mauriat, Petterle, Bellini, & Moritz, 2014). However, the spraying of GA 30 days before the collection of the shoots from the 'BRS Guaraçá' hybrids to make the mini-cuttings did not compromise the rooting of the plants during the two periods in which the evaluations took place.

When stimulated for high gibberellin biosynthesis signaling, *Populus* and *Arabidopsis* plants exhibited fewer adventitious roots (Mauriat et al., 2014). However, treatment with 50 mg L⁻¹ GA did not prevent the rooting of the rhizomes of the Tiger Flame cultivar. In this way, the authors conclude that low GA levels are required for rooting to occur (Padhi et al., 2018). Niu et al. (2013) found that GA did not influence polar auxin transport, but high levels negatively regulate rooting, at least in the induction and initiation phase, which consists of biochemical, anatomical and cell multiplication stages.

Conclusion

Foliar spraying of gibberellic acid at the concentrations of 76 and 200 mg L⁻¹ in the winter and summer, respectively, increases the production of mini-cuttings from 'BRS Guaraçá' rootstock and does not interfere with their rooting, allowing percentages greater than 95% in the summer.

Acknowledgments

The authors would like to thank Embrapa Semiárido/Petrolina-PE for BRS-Guaraçá, a hybrid development in that institution and used in that article. Thank to Rio de Janeiro State Research Support Foundation (FAPERJ) for the financial support and the Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel (Capes) and CNPq for the scholarships granted to carry out this study.

References

- Altendorf, S. (2018). *Minor tropical fruits: mainstreaming a niche market*. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations. Retrieved from http://www.fao.org/fileadmin/templates/est/COMM_MARKETS_MONITORING/Tropical_Fruits/Documents/Minor_Tropical_Fruits_FoodOutlook_1_2018.pdf
- Altoé, J. A., Marinho, C. S., & Freitas, I. L. J. (2013). Goiabeiras Paluma, Pedro Sato e Cortibel 6 propagadas por miniestaquia e miniestaquia seriada. *Ciência Rural*, 43(8), 1351-1356. doi: 10.1590/S0103-84782013000800002

- Altoé, J. A., Marinho, C. S., Terra, M. I. C., & Barroso, D. G. (2011b). Propagação de araçazeiro e goiabeira via miniestaquia de material juvenil. *Bragantia*, 70(2), 312-318. doi: 10.1590/S0006-87052011000200009
- Altoé, J. A., Marinho, C. S., Terra, M. I. C., & Carvalho, A. J. C. (2011a). Multiplicação de cultivares de goiabeira por miniestaquia. *Bragantia*, 70(4), 801-809. doi: 10.1590/S0006-87052011000400011
- Biazatti, M. A., Marinho, C. S., Arantes, M. B. S., & Guilherme, D. O. (2018). Multiplication of cattley guava by different techniques and variability among genotypes in vigor and rooting. *Cerne*, 24(4), 379-386. doi: 10.1590/01047760201824042571
- Campos, G. S., Marinho, C. S., Portella, C. R., Amaral, B. D., & Carvalho, W. S. G. (2017). Production of guava mini-grafted on intra or interspecific rootstock. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 39(1), e-635. doi: 10.1590/0100-29452017635
- Costa, S. R., Santos, C. A. F., & Castro, J. M. C. (2012). Assessing *Psidium guajava* × *P. guineense* hybrids tolerance to *Meloidogyne enterolobii*. *Acta Horticulturae*, 959, 59-66. doi: 10.17660/ActaHortic.2012.959.6
- Davies, P. J. (2010). The plant hormones: their nature, occurrence, and functions. In P. J. Davies (Ed.), *Plant hormones* (pp. 1-15). Dordrecht: Springer.
- Dias, P. C., Oliveira, L. S., Xavier, A., & Wendling, I. (2012). Estaquia e miniestaquia de espécies florestais lenhosas do Brasil. *Pesquisa Florestal Brasileira*, 32(72), 453. doi: 10.4336/2012.pfb.32.72.453
- Ferreira, G. O., Nascimento, R. C., Costa, S. R., Nogueira, T. O., Santos, C. A. F., & Flori, J. E. (2013). Propagação vegetativa de plantas originadas do cruzamento entre *Psidium guajava* × *Psidium guineense*, resistentes a *Meloidogyne enterolobii*. *Anais da Jornada de Iniciação Científica da EMBRAPA Semiárido*, Petrolina, PE, Brasil.
- Ferriani, A. P., Zuffellato-Ribas, K. C., & Wendling, I. (2010). Miniestaquia aplicada

a espécies florestais. *Revista Agro@ambiente*, 4(2), 102-109. doi: 10.18227/1982-8470ragro.v4i2.363

Gomes, W. A., Mendonça, R. M. N., Souza, E. P., Estrela, M. A., Melo, V. S., Silva, S. M., & Souza, A. (2010). Garfagem e diâmetro de porta-enxerto na obtenção de mudas de umbuzeiro do acesso Laranja. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 32(3), 952-959. doi: 10.1590/S0100-29452010000300041

Instituto Brasileiro de Estatística e Geografia (2020). *Área destinada à colheita, área colhida, quantidade produzida e valor da produção da lavoura permanente*. Recuperado de <https://sidra.ibge.gov.br/tabela/1613>

Kadam, D. M., Kaushik, P., & Kumar, R. (2012). Evaluation of guava products quality. *International Journal of Food Science and Nutrition Engineering*, 2(1), 7-11. doi: 10.5923/j.food.20120201.02

Malshe, K. V., Desai, B. G., & Palshetkar, M. G. (2016). Effect of different growth regulators on growth of khirni (*Manilkara hexandra* L.) rootstock. *Annual Review of Plant Physiology*, 30(2), 15-17. doi: Retrieved from <http://www.researchgate.net>

Matos, F. S., Silva, D. Z. D., Souza, B. R. D., Moura, D. R., Lopes, V. D. A., Carvalho, D. D. C., & Araujo, M. D. S. (2015). Análise de crescimento, incidência de *Rhizoctonia* sp. e efeito antixenose para a formiga-cortadeira *Atta sexdens rubropilosa* f. em clones de *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus urophylla* tratados com giberelina. *Revista Árvore*, 39(5), 915-922. doi: 10.1590/0100-67622015000500014

Mauriat, M., Petterle, A., Bellini, C., & Moritz, T. (2014). Gibberellins inhibit adventitious rooting in hybrid aspen and Arabidopsis by affecting auxin transport. *The Plant Journal*, 78(3), 372-384. doi: 10.1111/tpj.12478

Niu, S., Li, Z., Yuan, H., Fang, P., Chen, X., & Li, W. (2013). Proper gibberellin localization in vascular tissue is required to regulate adventitious root development in tobacco. *Journal of Experimental Botany*, 64(11), 3411-3424. doi: 10.1093/jxb/ert186

- Oliveira, M. J. V. D., Schmildt, E. R., Amaral, J. A. T. D., Coelho, R. I., & Schmildt, O. (2014). Formas de esterilização do GA₃ e reação morfogênica em microestacas de mamoeiro. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 36(2), 467-471. doi: 10.1590/0100-2945-271/13
- Padhi, M., Sisodia, A., Pal, S., Kapri, M., & Singh, A. K. (2018). Growing media, GA₃ and thiourea stimulates growth and rooting in gladiolus cormels cv. Tiger Flame. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 7(3), 1919-1922. doi: Retrieved from <https://www.phytojournal.com/archives/2018/vol7issue3>
- Parween, N., Mishra, S., Adil, A., Pal, A., & Jha, K. K. (2019). Effect of GA₃ on reproductive growth and cormel production of gladiolus. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 8(6), 1739-1750. doi: 10.20546/ijcmas.2019.806.208
- Peña, M. L.P., Zanette, F., & Biasi, L. A. (2015). Época de coleta e ácido indolbutírico no enraizamento de miniestacas de pitangueira. *Semina: Ciências Agrárias*, 36(5), 3055-3068. doi: 10.5433/1679-0359.2015v36n5p3055
- Pimentel, N., Lencina, K. H., Kielse, P., Rodrigues, M. B., Somavilla, T. M., & Bisognin, D. A. (2019). Productivity of mini-stumps and rooting of mini-cuttings of erva mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.) clones. *Ciência Florestal*, 29(2), 559-570. doi: 10.5902/1980509827009
- Porto, A. H., Wagner, A., Jr., Koserá, C., Neto, Silva, M., Stefani, A. R., & Fabiane, K. C. (2018). Giberelina e substratos na produção e qualidade de mudas de araçazeiros amarelo e vermelho (*Psidium cattleianum* Sabine). *Colloquium Agrariae*, 14(1), 35-48. doi: 10.5747/ca.2018.v14.n1.a188
- Ramos, D. P., Leonel, S., Silva, A. C., Souza, M. E., Souza, A. P., & Fragoso, A. M. (2011). Épocas de poda na sazonalidade, produção e qualidade dos frutos da goiabeira 'Paluma'. *Semina: Ciências Agrárias*, 32(3), 909-918. doi: 10.5433/1679-0359.2011v32n3p909
- Silva, K. B., Reiniger, L. R. S., Rabaiolli, S. D. S., Stefanel, C. M., & Ziegler, A. D.

- F. (2019). Productivity of minicepas and rooting of minicuttings of *Luehea divaricata* Mart. & Zucc. in the different seasons of the year. *Scientia Forestalis*, 47(122), 294-302. doi: 10.18671/scifor.v47n122.12
- Velasco-Arango, V. A., Bernal-Martínez, A. A., Ordóñez-Santos, L. E., & Hleap-Zapata, J. I. (2020). Characterization of guyaba epicarp (*Psidium guajava* L.) as a natural alternative for use in processed food products. *Bioteconología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 18(2), 26-35. doi: 10.18684/bsaa(18)26-36
- Zhang, Y., Wang, Y., Ye, D., Xing, J., Duan, L., Li, Z., & Zhang, M. (2020). Ethephon-regulated maize internode elongation associated with modulating auxin and gibberellin signal to alter cell wall biosynthesis and modification. *Plant Science*, 290, 110196. doi: 10.1016/j.plantsci.2019.110196

4.3 Anticipating the formation of guava seedlings using mini-grafting onto smaller-diameter clonal rootstocks ⁽¹⁾

Abstract- The production of grafted seedlings requires longer periods of time. The technique of mini-grafting onto rootstocks previously obtained from herbaceous cuttings can guarantee the genetic fidelity of scion and rootstock and allows grafting onto smaller-diameter stems, accelerating the time required to obtain seedlings. The aim of this study was to anticipate the formation of 'Paluma' guava seedlings grafted onto clonal rootstocks with smaller-diameter stems. Treatments consisted of grafting onto rootstocks with five stem diameter classes. The experimental design was randomised blocks with three replicates and five seedlings per plot. Rootstocks were produced from cuttings of herbaceous branches of mother plants originating from crossing between *P. guineense* and *P. cattleianum*. Mini-grafts were obtained from a clonal 'Paluma' guava mini-garden. Seedlings grafted onto rootstocks with stem diameters from 3.7 to 10.3 mm presented the same success rate, however the greatest seedling vigour was observed when grafted onto larger-diameter rootstocks. Grafting success and seedling height show that mini-grafting onto clonal rootstocks with diameters from 3.7 to 5.5 mm allows producing seedlings suitable for transplanting 300 days after cutting.

Index terms: *P. guineense* x *P. cattleianum*, early grafting, seedling vigour.

⁽¹⁾ Publicado pela Revista Brasileira de Fruticultura. Received: September 22, 2020 – Accepted: January 18, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1590/0100-29452021211>.

Resumo- A produção de mudas enxertadas demanda maior período de tempo. A técnica da minigarfagem sobre porta-enxertos obtidos previamente por estaquia herbácea pode garantir a fidelidade genética da copa e porta-enxerto e possibilitar a enxertia em caules de menor diâmetro, antecipando o período de obtenção dessas mudas. O objetivo desse trabalho foi a antecipação da formação da muda da goiabeira 'Paluma' enxertada sobre porta-enxertos clonais com caules de menor diâmetro. Os tratamentos foram constituídos pela enxertia sobre porta-enxertos com cinco classes de diâmetros do caule. O delineamento experimental adotado foi em blocos casualizados com três repetições e cinco mudas por parcela. Os porta-enxertos foram produzidos por estaquia de ramos herbáceos de matrizes oriundas de cruzamento entre *P. guineense* x *P. cattleianum*. Os minigarfos foram obtidos de um minijardim clonal da goiabeira 'Paluma'. Mudas enxertadas sobre porta-enxertos com diâmetros de caule entre 3,7 e 10,3 mm tiveram a mesma taxa de pegamento de enxertia, entretanto o maior vigor das mudas foi observado quando estas foram enxertadas sobre porta-enxertos de maior calibre. O pegamento de enxertia e a altura das mudas indicam que a minigarfagem sobre porta-enxertos clonais com diâmetros entre 3,7 a 5,5 mm, permitem a produção de mudas aptas ao transplântio aos 300 dias após o estaqueamento.

Termos para indexação: *P. guineense* x *P. cattleianum*, enxertia precoce, estaquia herbácea

Introduction

Brazil is the world's fourth largest guava producer. Until the 1980s, guava propagation in the country was carried out by seminiferous route, as it is still performed in countries with expressive guava production such as Pakistan, which is the world's third largest producer (PEREIRA et al., 2017; ALTENDORF, 2018). The search for uniform orchards in Brazil caused vegetative propagation to be adopted and herbaceous cuttings to become the most used propagation technique for obtaining guava seedlings (PEREIRA et al., 2017). However, with the advancement of 'Guava decline', a complex disease caused by *Meloidogyne enterolobii* nematode and subsequent infection by *Neocosmospora falciformis* soil fungus (GOMES et al., 2011; CASTRO, 2019; VELOSO et al., 2020), the propagation route of these seedlings has been rethought, as *Psidium guajava* has high susceptibility to this nematode (CARNEIRO et al., 2001; BIAZATTI et al., 2016). In this context, obtaining seedlings through grafting may become mandatory, since the use of rootstocks resistant to *M. enterolobii* would allow the cultivation of guava trees in already contaminated areas (SOUZA et al., 2018) and studies aimed at the selection of interspecific hybrids with resistance genes for the phytonematode and genes that express rootstock compatibility with commercial guava scions have been carried out (COSTA et al., 2012; GOMES et al., 2017).

The availability of grafted seedlings is still limited for guava due to the degree of difficulty of execution and the longer time required to obtain them, with minimum period of fourteen months, when rootstock is obtained by the seminiferous route (ROBAINA et al., 2015), while guava seedlings multiplied by herbaceous cuttings are obtained in less than six months (COSTA AND COSTA, 2003). In order to obtain seedlings grafted onto rootstocks compatible with guava and resistant to the nematode, rootstock propagation would also need to be asexually performed.

Mini-grafting can be used as alternative to reduce the time for obtaining grafted guava seedlings (CAMPOS et al., 2017) and this technique also allows the use of smaller-diameter rootstocks.

Campos et al. (2017) used the mini-grafting technique and obtained the formation of grafted seedlings in shorter time, around 350 days, using rootstocks with diameter of 3.5 mm previously obtained by seminiferous propagation.

P. guineense x *P. cattleianum* hybrids have been reported to be resistant to *M. enterolobii* (GOMES et al., 2017). However, it is still necessary to evaluate its grafting compatibility with guava. The reduction in the time for the production of these seedlings could be achieved through mini-grafting on smaller-diameter clonal rootstocks.

The aim of this work was to evaluate the technical feasibility of mini-grafting onto rootstocks previously cloned by herbaceous cuttings and with different stem diameters, aiming at anticipating the formation of 'Paluma' guava grafted seedlings.

Material and methods

Mother plants were composed of shrubs of three genotypes kept in 50-L pots under screen. These plants are half-sisters and came from seeds obtained by crossing between *P. guineense* and *P. cattleianum* (Gomes et al., 2017). Collections of herbaceous cuttings were carried out at three times to multiply the material. Rootstocks were composed of a mixture of clones of these three genotypes, distributed into five diameter classes. The criterion for distribution between diameter classes followed the age of rootstocks that were cut between June and October 2018. Rootstocks cut in October, for example, were thinner and younger. All steps for seedling production are illustrated in Figure 1.

The collection of sprouts from mother plants was carried out according to methodology described by Biazatti et al. (2018) for the confection of herbaceous cuttings. Cuttings were prepared with two pairs of leaves, from which the basal pair was removed and in the other pair, the limb was cut in half. Cuttings had the base immersed for 10 seconds in IBA (indolbutyric acid) at concentration of 1500 mg L⁻¹ (FERREIRA et al., 2013). Cuttings were inserted in tubes of 280 cm³ containing commercial Basaplant® substrate and then were taken to moist chamber (Figure 1A), equipped with Fogger-type sprayers and timer to adjust the spray interval every 10 minutes and duration of 15 seconds, with flow of 7 L h⁻¹, under pressure of 4.0 kgf cm⁻². Cuttings remained in this environment for about 60

days until rooting. Cutting was performed in three months (June, August and October).

After the rooting period, seedlings were acclimated, and the material was removed from the moist chamber and taken to another environment in greenhouse covered with Sombrite® 70%. Under these conditions, seedlings were irrigated twice a day with fine sieve watering can for 30 days. After this period, rootstocks were transplanted into conical pots with height of 30 cm and volume of 4.8 dm³ (Figure 1B), filled with Basaplant® substrate for vegetables. The substrate was mixed and homogenized with 9.7 g L⁻¹ of simple superphosphate, 30 g L⁻¹ of limestone and 6.6 g L⁻¹ of Osmocote® slow-release fertilizer in 17-07-12 formulation, and cover fertilization with 7.6 g of urea, 24.7 g of simple superphosphate and 2.8 g of potassium chloride per pot, in three plots, with interval of 30 days. Fortnightly, seedlings received foliar applications with Viçosa mixture containing 25 g of copper sulphate; 25 g of quicklime; 40 g of manganese sulphate; 10 g of zinc sulphate; 5 g of boric acid, every 5 L of water.

Rootstocks were conducted on a single stem for subsequent grafting with 'Paluma' guava using the mini-grafting method proposed by Campos et al. (2017). By the aforementioned method, the scion is grafted with mini-grafts, which come from herbaceous sprouts of clonal mini-garden. The stem diameters of rootstocks were measured at height of 15 cm from the seedling stem diameter ratio and these were separated into five diameter classes: from 3.68 to 5.5 mm (class 1); from 5.51 to 6.50 mm (class 2); from 6.51 to 7.21 mm (class 3); from 7.23 to 7.74mm (class 4) and from 7.75 to 10.32 (class 5). Rootstocks had between 0.62 m and 1.79 m in height before grafting (Figure 1C) and were pruned so that grafting could be performed. At that time, plants aged 180-240 days after cutting, and plants of 180 days were those with the smallest diameter. The experimental design used was in RBD, with five treatments (diameter classes), three blocks and five plants per plot.

Mini-grafts were collected from mini-clumps of 'Paluma' cultivar with five years of age. Plants in this mini-garden were pruned 30 days before mini-grafting, so that the stimulus for the emission of new sprouts would occur (Figure 1D). Mini-clumps received the same cover fertilization as plants selected to be used as rootstocks.

The type of grafting adopted was top half-cleft grafting, a technique adapted for grafts that in general have smaller diameters compared to the rootstock (HARTMANN et al., 2013). To perform the grafting, young sprouts were collected and mini-grafts were prepared with two pairs of leaves that had their apical portions cut in half and basal leaves removed to reduce transpiration and dehydration. After preparing mini-grafts, each plant used as rootstock was pruned about 30 cm above the stem, so that grafting could be performed.

Rootstocks were prepared by removing lower leaves and, after topping, mini-grafts were introduced onto the top of the rootstock. The base of the mini-graft was cut into a bevel, adjusted more on the side of the top and the bandage was performed with Parafilm® (Figure 1F). In order for mini-grafts to remain fixed, the grafting region was wrapped with flexible wire. Subsequently, seedlings were taken to the intermittent moist chamber, since herbaceous mini-grafts are very susceptible to dehydration (Figure 1E).

The moist system was composed of Fogger® type micro-sprayers with interval of 10 minutes and duration of 30 seconds for a period of 60 days. Acclimatization started in the moist chamber when the interval between spray applications was increased to 20 minutes and the spray duration was increased to 30 seconds, with plants being kept under these conditions for five days. After this period, the spraying regime was again modified to 30-minute intervals with 30-second spray duration for another five days. After this period, seedlings were removed from the moist chamber and taken to a new location in the same greenhouse covered with 70% sombrite® (1G), where seedlings were manually irrigated between 10:00 am and 12:00 pm. In this phase, the flexible wire used to wrap the grafting region was removed and seedlings were conducted on a single stem (Figure 1 H; 1I).

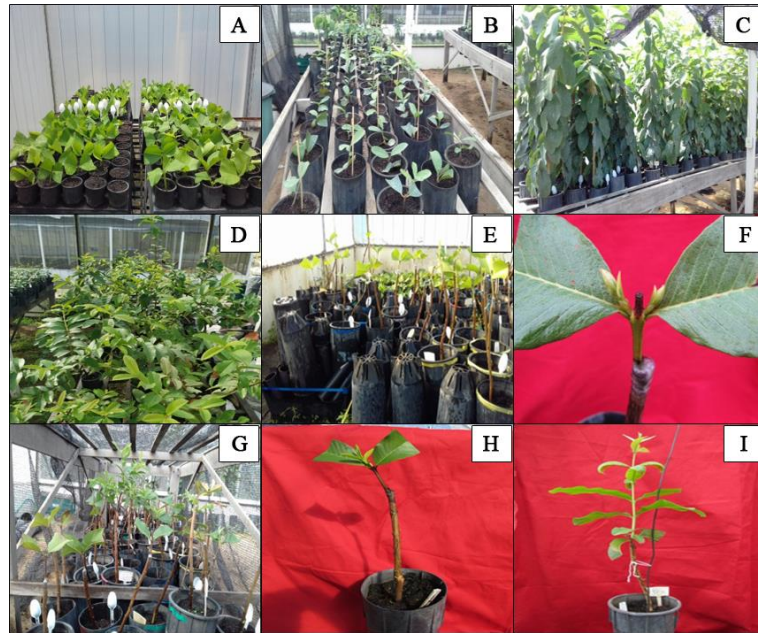


Figure 1. Rooting of rootstocks inside the moist chamber (A); rootstocks transplanted after 60 days of rooting and 30 days of acclimatization (B); rootstock the day before grafting (C); mini-garden of ‘Paluma’ cultivar used to collect mini-grafts (D); Newly grafted seedlings inside the moist chamber (E); Beginning of mini-graft sprouting (F); Acclimation of grafted seedlings (G); Conduction of grafted seedlings on a single stem (H); Seedling grafted at 300 days after rootstock cutting and 120 days after grafting (I).

The averages of maximum and minimum temperatures inside the moist chamber were 31 ° C and 27 ° C, respectively, for about 60 days. The averages of maximum and minimum relative humidity inside the moist chamber in this period were 98% and 87%, respectively. During the cultivation of these seedlings, the averages of maximum and minimum temperatures were 32.8 ° C and 20.3 ° C and the maximum and minimum relative humidity values were 94% and 62%, respectively.

Graft survival was evaluated at 30, 60, 90 and 120 days after grafting. Grafting success was observed at 90 days after grafting. Scion stem and rootstock diameters were measured at three points, 3 cm above and below the grafting region and in the region of the grafting point with the aid of digital caliper. Seedling diameter and height were evaluated at 90, 120, 150, 180 and 210 days after grafting. The minimum pattern of seedling suitable for planting was found at 120

days after grafting (Figure 1I). Data regarding grafting success (%) were transformed according to the arc sine equation $(x / 100)^{1/2}$ and submitted to analysis of variance. Data from evaluations performed at different times were evaluated in a split-time scheme, with averages between treatments and times submitted to regression analyzes and when these were significant at 5% probability, the best fit equations were chosen. The statistical software used was SANEST (ZONTA; MACHADO, 1984).

Results and discussion

At 90 days after grafting, seedling survival stability was reached, which was evaluated at 120 days (Table 1) and the grafting success was verified. At that time, no effect of rootstock diameter on the grafting success was observed, which was, on average, 62.6%.

Robaina et al. (2015) used *P. guajava* rootstock with average of 8.4 mm in diameter and obtained grafting success of 65% at 160 days after grafting by top cleft grafting.

Table 1. Success rate of seedlings (%) grafted onto rootstock from the *P. guineense* x *P. cattleianum* crossing. Treatments consisted of five rootstock stem diameter classes: 3.68 to 5.5 (Class 1); 5.51 to 6.50 (Class 2); 6.51 to 7.21 (Class 3) 7.23 to 7.74 (Class 4) and 7.75 to 10.32 (Class 5)

Treatment Diameter (mm)	Success rate 30 days (%)	Success rate 60 days (%)	Success rate 90 days (%)	Success rate 120 days (%)
Class 1	86.67	80.00	73.33	73.33
Class 2	86.67	80.00	60.00	60.00
Class 3	86.67	60.00	53.33	53.33
Class 4	80.00	80.00	66.66	66.66
Class 5	86.67	80.00	60.00	60.00
CV (%)	21.82	23.54	43.21	43.21
Significance	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

Not significant by F test at 5% probability (n.s.).

Some authors have observed that the use of smaller stem diameters for rootstocks does not compromise grafting success, confirming the results of the present study. Campos et al. (2017) used rootstocks obtained by seminiferous propagation of guava with diameters close to 3.5 mm and observed 84% grafting success for 'Paluma' guava seedlings and 54% for 'Cortibel 1' guava seedlings, demonstrating that under the same conditions and grafting technique, there are grafting success variations between different genetic materials both in the scion and in the rootstock. Thus, the grafting success obtained in this work (62.6%) can be considered satisfactory, since genetic materials are different.

Abbas et al. (2013) grafted 'Gola' cultivar, widespread in Pakistan, by grafting on guava rootstocks from seeds. The technique was directly performed in the field and the rootstock was as thick as a pencil at the time of the procedure. The authors observed that there was about 7.5% grafting success. On the other hand, Singh et al. (2007) found that when 'Allahabad Safeda' and 'Sardar' guava cultivars were grafted onto rootstocks of sexual origin presenting between 5 mm and 10 mm in diameter, seedlings had results above 80% grafting success when the procedure was carried out in greenhouse, indicating that protected environments favour the guava grafting success.

Seedling height was influenced by the interaction between rootstock diameter and time of evaluation (Figure 2A). At 120 days after grafting, seedlings reached between 44 and 60 cm in height, all considered suitable for planting. At 210 days after grafting, seedling height responded linearly to the increase in rootstock diameter (Figure 2B). Larger rootstocks provided greater height growth.

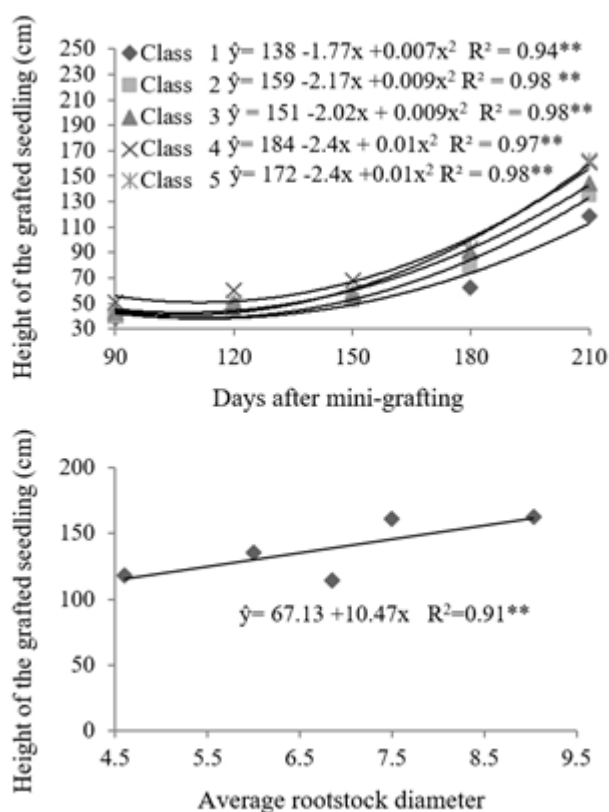


Figure 2. Polynomial regressions for the height of 'Paluma' guava seedlings grafted by mini-grafting onto rootstocks of different diameter classes evaluated between 90 and 210 days after grafting (A). Polynomial regression for average height of 'Paluma' guava seedlings grafted by mini-grafting as a function of the average rootstock diameter (B). ** Significant at 1% probability. Rootstock diameter classes at the time of grafting: 1 (3.68 to 5.5 mm); 2 (5.51 to 6.5 mm); 3 (6.51 to 7.22 mm); 4 (7.23 to 7.74 mm) and 5 (7.75 to 10.32 mm).

It has been observed that the use of different rootstock diameters is important, as this difference can influence seedling vigour and growth (SHARMA et al., 2019). In this sense, the use of rootstocks between 8 mm and 10 mm in diameter is recommended for the performance of grafting by top cleft grafting (COSTA and COSTA, 2003; ROBAINA et al., 2015). More vigorous rootstock provides increase in the transport of water and nutrients and in this sense, the tendency of seedling shoots is to show greater growth (SOMKUWAR et al., 2015; SHARMA et al., 2019). However, the production of more vigorous guava rootstocks requires prolonged time, around 280 days (ROBAINA, 2011).

Costa and Costa (2003) reported that guava seedlings produced by grafting must have between 40 and 60 cm in height and are usually obtained with this pattern in a period from 540 to 780 days after rootstock sowing and grafting by top cleft grafting. However, Campos et al. (2017) used *P. guineense* rootstock, compatible with 'Paluma' guava, obtained by seminiferous route with average diameter of 3.5 mm, at 200 days after sowing, for mini-grafting of scions of 'Paluma' and 'Cortibel 1' cultivars. In this work, the authors obtained, 350 days after rootstock sowing, seedlings that reached 50.9 cm and 40 cm in height, respectively, for 'Paluma' and 'Cortibel 1' cultivars.

In the present study, the thinnest rootstocks were obtained 180 days after cutting, which is less time than that observed in previously mentioned works. After grafting by mini-grafting with 'Paluma' guava, seedlings reached height close to that necessary for planting at 120 days after grafting (Figure 2 A). When counting the time required for grafting and the time elapsed from grafting to seedling formation, it was observed that plants were able for planting from 300 days after cutting. Seedlings grafted onto thicker rootstock had greater height, indicating the possibility of better performance after planting.

The differences between stem diameter classes of rootstocks remained after mini-grafting, with reduction in these differences between 90 and 210 days after mini-grafting (Figure 3A). This reduction in the difference between stem diameters of grafted seedlings was provided by the higher growth rate of smaller-diameter rootstocks. Although smaller-diameter rootstocks provide greater growth speed for the grafted seedling, at 180 days after mini-grafting, the most vigorous rootstock provided greater development in plant stem diameter (Figure 3B).

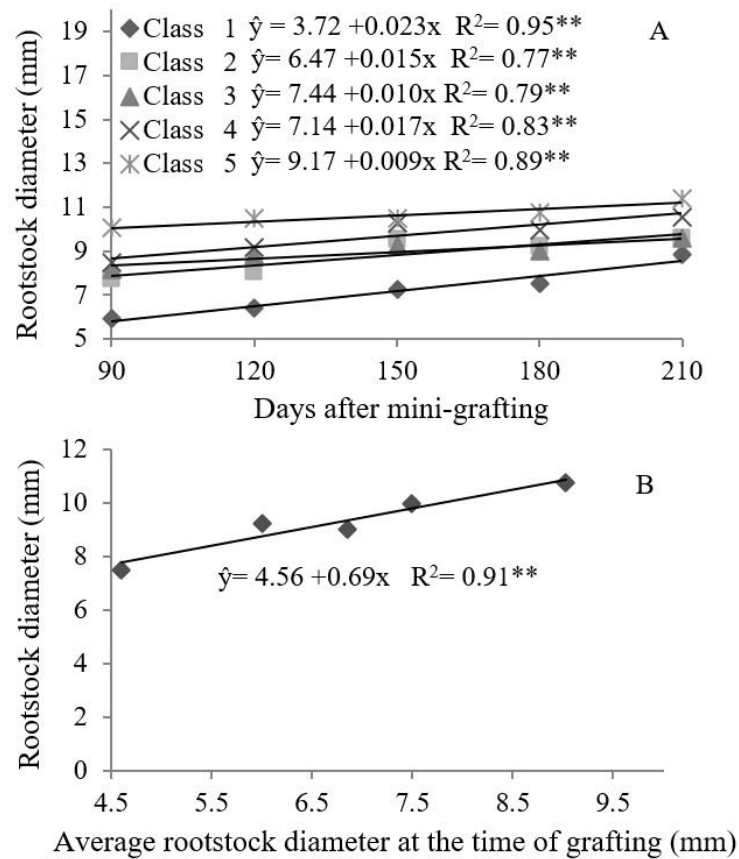


Figure 3. Polynomial regression for the average rootstock diameter between 90 and 210 days after grafting 'Paluma' guava by mini-grafting (A). Polynomial regression for the seedling stem diameter below the grafting region as a function of rootstock diameter at the time of grafting (B). ** Significant at 1% probability.

The possibility of using smaller-diameter rootstocks varies according to the species, because depending on the species, the lower rootstock vigour may impair grafting or result in inadequate seedling growth after grafting (SHARMA et al., 2019; CAMPOS et al., 2017), which may impose the need to use larger-diameter rootstocks. In the present study, rootstocks with diameter between 3.68 to 5.5 mm provided satisfactory vigour and reduced the time for seedling formation. This type of seedling, although less vigorous, can facilitate obtaining and also transporting from nursery to producer. In addition, earlier grafting could speed up the

implementation of experimental orchards to evaluate new rootstocks under field conditions.

Seedlings showed similar behaviours regarding the relationship between height growth and stem diameter, with no indication of etiolation due to treatments (Figure 4A). A characteristic that can indicate seedling quality is the ratio between height and diameter of the plant stem. In general, seedlings that show greater height growth and lower thickness are considered of poor quality and are less likely of surviving in the field (CARNEIRO et al., 2007; PINTO et al., 2016).

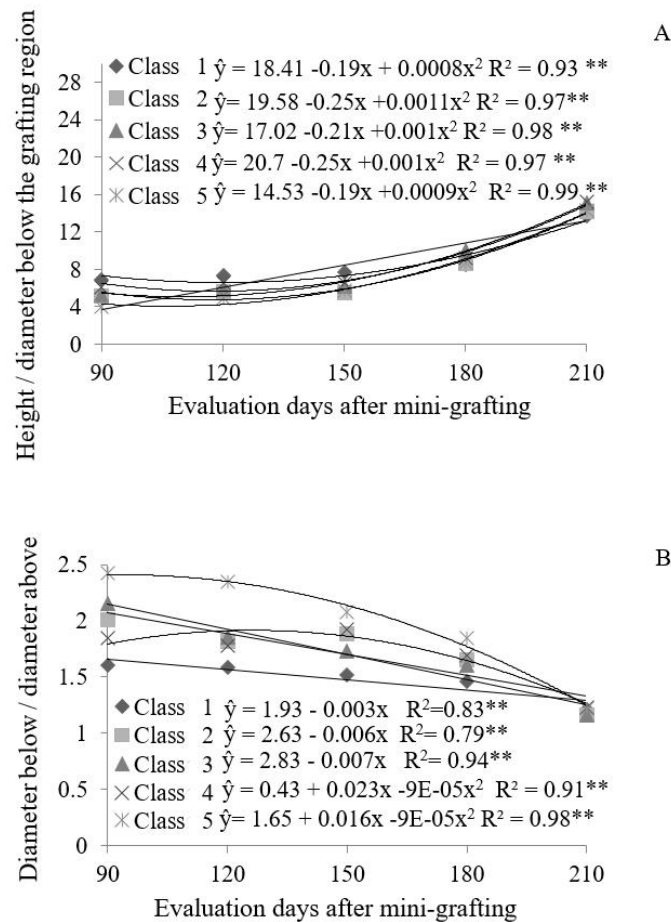


Figure 4. Polynomial regressions for ratios between height and diameter of 'Paluma' guava seedlings grafted by mini-grafting onto rootstocks of different diameter classes evaluated between 90 and 210 days after grafting (A). Polynomial regressions for ratios between diameter below and diameter above the grafting region of 'Paluma' guava seedlings grafted by mini-grafting onto rootstocks of different diameter classes evaluated between 90 and 210 days after grafting (B). ** Significant at 1% probability. Rootstock diameter classes at the time of grafting: 1 (3.68 to 5.5 mm); 2 (5.51 to 6.5 mm); 3 (6.51 to 7.22 mm); 4 (7.23 to 7.74 mm) and 5 (7.75 to 10.32 mm).

At 210 days after mini-grafting, all treatments showed ratio between diameter below and above the graft approaching the unit, indicating that over time, mini-graft and rootstock diameters tended to be equal in all treatments (Figure 4 B).

The use of smaller-diameter rootstock can anticipate the availability of seedlings for the formation of new orchards. The present work showed viability for obtaining rootstocks using herbaceous cuttings. The time required to obtain smaller-diameter rootstocks was 180 days after cutting. Campos et al. (2017) used seeds as a source of propagule for rootstocks and performed grafting 200 days after sowing. Robaina (2011) used seeds to obtain rootstocks and carried out top cleft grafting about 428 and 390 days after the sowing of araçai and guava, respectively. In the present work, the vegetative propagation of the rootstock by herbaceous cuttings associated with early grafting by mini-grafting provided grafting anticipation and seedling formation period that could be obtained at 300 days after rootstock cutting.

In the case of the development of hybrid rootstocks resistant to *M. enterolobii*, rootstock propagation must be carried out vegetatively, so that the resistance of the genetic material is not lost. In this sense, preliminary rootstock propagation by herbaceous cuttings and subsequent grafting by mini-grafting is a proposal to obtain seedlings with genetic fidelity both of scion and rootstock under better nutritional and phytosanitary management conditions.

Conclusion

Vegetative rootstock propagation by herbaceous cuttings associated with grafting by mini-grafting on rootstocks with diameter between 3.7 to 5.5 mm provides the anticipation of grafting and seedling formation period, which can be obtained at 300 days after rootstock cutting.

Acknowledgments

The authors would like to thank the Research Support Foundation of the State of Rio de Janeiro (FAPERJ) for the financial assistance and the Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel (Capes) and CNPq for scholarships granted to carry out this study.

References

ALTENDORF, S. **Minor tropical fruits: mainstreaming a niche market**. Roma: FAO, 2018. p.67-74. Disponível em <www.fao.org>. Acesso em: 30 de mar. 2020

ABBAS, M. M.; JAVED, M. A.; ISHF, A.Q., M.; ALVI, M. A. Grafting techniques in guava (*Psidium guajava*). **Journal of Agricultural Research**, v.51, n.4, p.465-471, 2013.

BIAZATTI, M. A; MARINHO, C. S; ARANTES, M. B. S; GUILHERME, D. O. Multiplication of cattley guava by different techniques and variability among genotypes in vigor and rooting. **Cerne**, Lavras, v. 24, n. 4, p. 379-386, 2018.

BIAZATTI, M. A.; SOUZA, R. M; MARINHO, C. S.; GUILHERME, D. O; CAMPOS, G. S.; GOMES, V. M.; BREMENKAMP, C. A. Resistência de genótipos de araçazeiros a *Meloidogyne enterolobii*. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.46, n. 3, p. 418-420, 2016.

CAMPOS, G.S.; MARINHO, C. S. ; PORTELLA, C.R. ; AMARAL, B.D. ; CARVALHO, W. S. G. Production of guava mini-grafted on intra or interspecific rootstock. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 39, n.1,p. e-635, 2017.

CARNEIRO, R.M.D.G.; MOREIRA, W.A; ALMEIDA, M.R.A.; GOMES, A.C.M.M. Primeiro registro de *Meloidogyne mayaguensis* em goiabeira no Brasil. **Nematologia Brasileira**, Brasília, v. 25, n. 2, p. 223-228, 2001.

CARNEIRO J. G. A.; BARROSO D. G.; SOARES L. M. S. Crescimento de mudas em raiz nua de *Pinus taeda*, L. produzidas em cinco densidades no viveiro. **Scientia Agricola**, v. 64 n.1, p. 23- 29, 2007.

CASTRO, J. M. C. *Meloidogyne enterolobii* e sua evolução nos cultivos brasileiros. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.40, n.306, p.41-48, 2019.

COSTA, A. F. S.; COSTA A. N. **Tecnologias para produção de goiaba**. Vitória: INCAPER, 2003, 341p. Disponível em < <http://biblioteca.incaper.es.gov.br/> > Acesso em: 15/09/20.

COSTA, S.R.; SANTOS, C.A.F.; CASTRO, J.M.C. Assessing *Psidium guajava* × *P. guineense* Hybrids Tolerance to *Meloidogyne enterolobii*. **Acta Horticulturae**, Leuven, v. 959, p.59-66, 2012.

FERREIRA, G.O.; NASCIMENTO, R.C.; COSTA, S.R.; NOGUEIRA, T.O.; SANTOS, C.A.F.; FLORI, J.E. Propagação vegetativa de plantas originadas do cruzamento entre *Psidium guajava* x *Psidium guineense*, resistentes a *Meloidogyne enterolobii*. In: Jornada de iniciação científica da Embrapa Semiárido, 8, Petrolina, 2013. **Resumos...** Jornada de iniciação científica da Embrapa Semiárido, Petrolina, 2013, p. 15-19.

GOMES, V.M.; SOUZA, R.M., MUSSI-DIAS, V.; SILVEIRA, S.F.; DOLINSKI, C. Guava decline: a complex disease involving *Meloidogyne mayaguensis* and *Fusarium solani*. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v.159, n. 1, p.45-50, 2011.

GOMES, V. M.; RIBEIRO, R. M. ; VIANA, A. P. ; SOUZA, R. M. ; SANTOS, E. A. ; RODRIGUES, D. L. ; ALMEIDA, O. F. Inheritance of resistance to *Meloidogyne enterolobii* and individual selection in segregating populations of *Psidium* spp. **European Journal of Plant Pathology**, Wageningen, v.10, p.345-350, 2017.

HARTMAN, H. T.; KESTER, D.E.; DAVIES, F. T.; GENEVE, R. **Plant propagation: principles and practice**. 8 th, Essex: Pearson New International Edition, 2013, 928 p.

PEREIRA, F. M. P.; USMAN, M.; MAYER, N. A.; NACHTIGAL, J. C.; MAPHANGA, O. R.; WILLEMSE, S. AVANÇOS NA PROPAGAÇÃO DA GOIABEIRA. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 39, n. 4, p. e-358, 2017.

PINTO, A. V. F.; ALMEIDA, C. C. S.; BARRETO, T. N. A.; SILVA, W. B.; PIMENTEL, D. J. O. Efeitos de substratos e recipientes na qualidade das mudas de *Tabebuia aurea* (Silva Manso) Benth. & Hook. F. Ex S. Moore. **Revista Biociências**, Taubaté, v.22, n.1, p.100-109, 2016.

ROBAINA, R.R., CAMPOS, G.S., MARINHO, C.S., SOUZA, R.M., BREMENKAMP, C. A. Grafting guava on cattley guava resistant to *Meloidogyne enterolobii*. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.5 n.9, p.1579-1584, 2015.

ROBAINA, R.R. **Enxertia de copa e subenxertia entre a goiabeira 'Paluma'(Psidium guajava L.) e araçazeiros (Psidium cattleianum) visando á produção de mudas resistentes a Meloidogyne enterolobii**. 2011.40f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal), Campos dos Goytacazes, 2011.

VELOSO, J.S.; CÂMARA, M.P.S.; SOUZA, R.M. Guava decline: updating its etiology from '*Fusarium solani*' to *Neocosmospora falciformis*. **European Journal of Plant Pathology**, v. 158, n. 4, p.1-6, 2020.

SHARMA, M. K. ; BHAT, R.; NAZIR, N.; KHALIL, A.; SIMNANI, S.A.; SUNDOURI, A.S. Influence of Rootstocks on Scion Growth and Vigour, Production, Water Relations, Physiology and Leaf Nutrient Status of Temperate Fruit Crops-A Review. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, Nova Delhi, v.8, n.2, p.1089-1104, 2019.

SINGH, G.; GUPTA, S.; MISHRA, R.; SINGH, A. Technique for rapid multiplication of guava (*Psidium guajava* L.). **Acta Horticulturae**, v.735, n.1,p.177-183,2007.

SOUZA, R.R.; SANTOS,C. A.F.; COSTA, S.R. Field resistance to *Meloidogyne enterolobii* in a *Psidium guajava* x *P. guineense* hybrid and its compatibility as guava rootstock. **Fruits**, Leuven, v.73, n.2, p.118–124, p.2018.

SOMKUWAR, R. G.; TAWARE, P. B.; BHANGE, M. A.; SHARMA, J.; KHAN, I. Influence of Different Rootstocks on Growth, Photosynthesis, Biochemical Composition, and Nutrient Contents in 'Fantasy Seedless' Grapes. **International Journal of Fruit Science**, Filadélfia, v.15, n. 3, p.1-16, 2015.

ZONTA, E. P.; MACHADO, A. A. **SANEST: sistema de análises estatísticas para microcomputadores**. Pelotas:UFPel, 1984. 75p.

5. RESUMO E CONCLUSÕES

A elevada infestação da praga de solo *M. enterolobii* tem comprometido pomares de goiabeira, pois não é encontrada resistência para a espécie *P.guajava*, utilizada para confecção de estacas herbáceas na produção de mudas. Nesse sentido, a busca por uma nova técnica para obtenção de mudas se torna obrigatória. Desta forma, a enxertia se torna necessária, pois porta-enxertos resistentes podem ser utilizados para que a produção de goiabeira seja realizada em locais onde já ocorra a infestação pelo nematoide. Híbridos entre *P. guineense*, *P. cattleianum* e *P. guajava* foram desenvolvidos visando à possibilidade de utilização como novos candidatos a porta-enxertos. A multiplicação deste material pode ser aprimorada por meio do estabelecimento dos híbridos em recipientes, com formação de minijardim clonal e posterior propagação dos novos híbridos pela técnica da miniestaquia. A produção de miniestacas e manutenção das mudas recém-enraizadas na fase de aclimação ainda precisa ser aprimorada. Nesse sentido, a utilização do brassinosteroide (BB-16) favoreceu o crescimento das mudas acelerando o tempo para a formação de plantas para a minigarfagem. O aumento de propágulos pode ser obtido por meio da pulverização foliar de ácido giberélico (AG). Após a multiplicação e enraizamento do porta-enxerto, a enxertia deve ser realizada e a minigarfagem é uma técnica indicada, por ser promissora para a obtenção de mudas de goiabeira. A minigarfagem consiste em utilizar segmentos de brotações de minicepas e possui vantagens em relação ao tempo de produção da muda enxertada de forma convencional, além de possibilitar o uso de porta-enxertos de diferentes

diâmetros, o que reduz o tempo de obtenção da muda. Foram conduzidos três experimentos que tiveram como objetivo otimizar a multiplicação do porta-enxerto BRS Guaraçá e a produção de muda enxertada por minigarfagem com o uso de *P. guineense* x *P.cattleianum*. O primeiro experimento consistiu em avaliar o efeito da aplicação foliar de biobras-16 sob mudas recém-enraizadas do porta-enxerto BRS Guaraçá. No segundo experimento o objetivo foi aumentar a eficiência de minijardim clonal de BRS Guaraçá por meio da aplicação de ácido giberélico (GA₃). No terceiro experimento o objetivo foi antecipar a formação de mudas de goiabeira, por meio do uso da técnica de enxertia. Foi utilizado o porta-enxerto *P. guineense* x *P.cattleianum* distribuído em cinco classes de diâmetros. Portanto, pode ser concluído para o primeiro trabalho que o uso de Biobras-16 na aclimatação de mudas do porta-enxerto proporcionou efeitos positivos para o crescimento da parte aérea e das raízes. Em relação ao segundo experimento, a pulverização via foliar do ácido giberélico aumentou a produção de miniestacas, o que proporcionou uma melhor eficiência para a propagação destes propágulos por meio da miniestaquia. Por fim, no último experimento, a utilização de diferentes classes de diâmetros do porta-enxerto *P. guineense* x *P. cattleianum* promoveu crescimento e aumento de vigor para as mudas de goiabeira 'Paluma'.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGROFIT. Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários. http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons em 20 de março de 2019.
- Ahammed, G. J., Xia, X, Li, X, Shi, K, Yu, J, Zhou, Y (2015) Role of brassinosteroid in plant adaptation to abiotic stresses and its interplay with other hormones. *Current Protein and Peptide Science*, 16:462-473.
- Altoé, J.A., Marinho, C.S., Muniz, R.A., Rodrigues, L.A., Gomes, M.M.A. (2008) Tangerineira „Cleópatra” submetida a micorrização e a um análogo de brassinosteróide. *Acta Scientiarum*, 30 (1): 13-17.
- Altoé, J.A., Marinho, C.S., Terra, M.I.C., Carvalho, A.J.C. (2011 a) Multiplicação de cultivares de goiabeira por miniestaquia. *Bragantia*, 70(4).
- Altoé, J.A., Marinho, C.S., Terra, M.I.C., Barroso, D.G. (2011 b) Propagação de araçazeiro e goiabeira via miniestaquia de material juvenil. *Bragantia*, Campinas, 70(2):312-318.
- Altoé, J.A., Marinho, C.S. (2012) Miniestaquia seriada na propagação da goiabeira „Paluma”. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 34(2): 576-580.
- Altoé, J.A., Marinho, C.S., Freitas, I.L.J. (2013) Goiabeiras Paluma, Pedro Sato e Cortibel 6 propagadas por miniestaquia e miniestaquia seriada. *Ciência Rural* (UFSM. Impresso), 43: 1351-1356.

- Almeida, E.J., Martins, A.B.G., Santos, J.M. (2009) Resistência de goiabeiras e araçazeiros a *Meloidogyne mayaguensis* e estudo da compatibilidade na enxertia. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 44(4): 421-423.
- Altendorf, S. Minor tropical fruits: mainstreaming a niche market. <http://www.fao.org/> em 10/03/2020 página mantida pela Food and Agriculture Organization.
- Baghel, M., Nagaraja, A., Srivastav, M., Meena, N.K., Kumar, M.S., Kumar, A., Sharma, R.R. (2019) Pleiotropic influences of brassinosteroids on fruit crops: a review. *Plant Growth Regulation*, 87 (2):.375-388.
- Basera, M., Chandra, A., Kumar, V.A., Kumar, A. Effect of brassinosteroids on in vitro proliferation and vegetative growth of potato (2018) *The Pharma Innovation Journal*. 7(4):4-9.
- Biazatti M.A. (2013) *Potencial de enraizamento, vigor, enxertia interespecífica e resistência a Meloidogyne enterolobii em genótipos de araçazeiros*. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) - Universidade Estadual do Norte Fluminense- UENF, 67p.
- Biazatti, M.A., Souza, R.M, Marinho, C.S., Guilherme, D.O, Campos, G.S.; Gomes, V.M., Bremenkamp, C.A. (2016) Resistência de genótipos de araçazeiros a *Meloidogyne enterolobii*. *Ciência Rural*, 46 (3):418-420.
- Biazatti, M.A., Marinho, C.S., Arantes, M.B.S., Guilherme, D.O. (2018) Multiplication of cattley guava by different techniques and variability among genotypes in vigor and rooting. *Cerne*, 24(4):379-386.
- Botin, A.A., Carvalho, A. (2015) Reguladores de crescimento na produção de mudas florestais , *Revista de Ciências Agroambientais*, 13(1): 83-96.
- Botelho, R.V., Müller, M.M.L. (2007) Extrato de alho como alternativa na quebra de dormência de gemas em macieiras cv. Fuji Kiku. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 29 (1): 37-41.
- Botelho, R.V. (2008) Uso de bioestimulante para quebra de dormência de macieira cv. Castalgala. *Scientia agrária*, Curitiba, 9 (3): 399-403.
- Campos, G.S., Marinho, C.S., Portella, C.R., Amaral, B.D., Carvalho, W.S.G. (2017) Production of guava mini-grafted on intra or interspecific rootstock. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 39 (1): e-635.

- Carneiro, R.M.D.G., Moreira, W.A., Almeida, M.R.A., Gomes, A.C.M.M., Primeiro registro de *Meloidogyne mayaguensis* em goiabeira no Brasil (2001) *Nematologia Brasileira*, 25 (2): 223-228.
- Carneiro, J.G.A., Barroso, D.G., Soares L.M.S. (2007) Crescimento de mudas em raiz nua de *Pinus taeda*, L. produzidas em cinco densidades no viveiro. *Scientia Agricola*, 64 (1): 23- 29.
- Castro, J.M.C. (2019) *Meloidogyne enterolobii* e sua evolução nos cultivos brasileiros. *Informe Agropecuário*, 40 (306): 41-48.
- Catunda, P.H.A., Marinho, C.S., Gomes, M.M.A., Carvalho, A.J.C. (2008) Brassinosteroide e substratos na aclimação do abacaxizeiro 'Imperial'. *Acta Scientiarum Agronomy*. 30 (3):345-352.
- Costa, A.F.S., Costa A.N. (2003) Tecnologias para produção de goiaba. Vitória: Incaper, 341p.
- Costa, S.R., Santos, C.A.F., Castro, J.M.C. (2012) Assessing *Psidium guajava* x *P. guineense* Hybrids Tolerance to *Meloidogyne enterolobii*. *Acta Horticulturae*, p.59-66.
- Dias, P.C., Oliveira, L.S., Xavier, A., Wendling, I. (2012) Estaquia e miniestaquia de espécies florestais lenhosas do Brasil. *Pesquisa florestal brasileira*, 32 (72): 453-462.
- Fachinello, J.C., Hoffmann, A.; Nachtigal, J.C.; Kersten, E.; Fortes, J.R.L. (1995) Propagação de plantas frutíferas de clima temperado. 1 ed. Pelotas: 179 p.
- Ferreira, G.O.; Nascimento, R.C.; Costa, S.R.; Nogueira, T.O.; Santos, C.A.F.; Flori, J.E. (2013) Propagação vegetativa de plantas originadas do cruzamento entre *Psidium guajava* x *Psidium guineense*, resistentes a *Meloidogyne enterolobii*. *Jornada de iniciação científica da Embrapa Semiárido*, Petrolina: Embrapa Semiárido, p 15-19.
- Ferriani, A.P., Zuffellato-Ribas, K.C., Wendling, I. (2010) Miniestaquia aplicada a espécies florestais. *Revista Agro@ambiente*, 4(2):102-109.
- Franzon, R.C., Antunes, L.E.C., Raseira, M.C.B. (2004) Efeito do AIB e de diferentes tipos de estaca na propagação vegetativa da goiabeira-serrana (*Acca sellowiana* Berg). *Revista Brasileira de Agrociência*, 10 (4): 515-518.

- Franzon, R.C., Campos, L.Z. O., Proença, C.E.B., Sousa-Silva, J.C. (2009) Araças do gênero *Psidium*: principais espécies, ocorrência, descrição e usos. Planaltina: *Embrapa Cerrados*, Documentos, 266: 48p.
- Freitas, S. J. , Santos, P.C., Carvalho, A.J.C., Berilli, S.S., Gomes, M.M.A. (2012) Brassinosteróide e adubação nitrogenada no crescimento e estado nutricional de mudas de abacaxizeiro provenientes do seccionamento de caule. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 34 (2): 612-618.
- Freitas, J.A.A., Marinho, C.S., Freitas, I.L.J., Santos, P.C., Silva, M.P.S., Carvalho, A.J.C. (2015) Brassinosteróide e fungo micorrízico arbuscular na produção do porta-enxerto tangerineira 'Cleópatra'. *Agrária* (Recife.Online), 10: 54-59.
- Flori, J.E. (2011) Processo de Enxertia pelo Método de Garfagem de Topo na Produção de Mudas de Goiabeira. Instruções Técnicas da *Embrapa Semiárido*. Instruções Técnicas, p 4.
- Ford, Y.Y., Taylor, J.M., Blake, P.S., Marks, T.R. (2002) Gibberellin A₃ stimulates adventitious rooting of cuttings from cherry (*Prunus avium*). *Plant growth regulation*, 37(2):127-133.
- Ganino, T., Chiancone, B., Beghè, D., Rodolfi, M., Fabbri, A., Petruccelli, R., Ughini, V. (2018) Influence of (22S,23S)-homobrassinolide on olive rooting. *Acta Horticulturae*, (1199), 333–338.
- Gomes, V.M., Souza, R.M., Mussi-dias, V., Silveira, S.F., Dolinski, C. (2011) Guava decline: a complex disease involving *Meloidogyne mayaguensis* and *Fusarium solani*. *Journal of Phytopathology*, 159 (1): 45-50.
- Gomes, V.M., Ribeiro, R.M., Viana, A.P., Souza, R.M., Santos, E.A., Rodrigues, D.L., Almeida, O.F. (2017) Inheritance of resistance to *Meloidogyne enterolobii* and individual selection in segregating populations of *Psidium* spp. *European Journal of Plant Pathology*, 148 (3): 699-708.
- Gomes, M.M.A., Pinheiro, D.T., Bressan-smith, R., Campostrini, E. (2018) Exogenous brassinosteroid application delays senescence and promotes hyponasty in *Carica papaya* L. leaves. *Theoretical and Experimental Plant Physiology*, 30 (3): 193 – 201.
- Hartmann, H.T., Kester, D.E., Davies J.R., F.T.,Geneve, R.L. (1990) Plant propagation: Principles and practices. 7.ed. New Jersey: *Prentice Hall*, 880p.
- Hossel, C. *Enraizamento de mini-estacas de jabuticabeiras, pitangueira, araçazeiro amarelo e sete capoteiro* (2016) Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná.132p.

- IBGE- Instituto brasileiro de geografia e estatística (2020) Levantamento sistemático da produção agrícola. Disponível em www.sidra.ibge.gov. Acesso em 30/03/2020.
- Jaleel, C.A., Gopi, R., Manivannan, P., Sankar, B., Kishorekumar, A., Panneerselvam, R. (2007) Antioxidant potentials and ajmalicine accumulation in *Catharanthus roseus* after treatment with gibberellic acid. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 60: 195–200.
- Kadam, D.M., Kaushik, P., Kumar, R. (2012) Evaluation of guava products quality. *International Journal of Food Science and Nutrition Engineering*, 2(1): 7-11.
- Kim, H.J., Ku, K., Choi, S., Cardarelli, M. (2019) Vegetal derived biostimulant enhances adventitious rooting in cuttings of basil, tomato, and chrysanthemum via brassinosteroid. *Mediated Processes. Agronomy*, 9(74).
- Klerk, G.J.; Van der kriecken, W.; Jong, J (1999) The formation of adventitious roots: new concepts, new possibilities. *In Vitro Cell Dev Biol Plant*, 35: 189–199.
- Lang, G.A., Early, J.D., Martin, G.C., Darnell, R.L. (1987) Endopara and ecodormancy: physiological terminology and classification for dormancyresearch. *Hortscience*, 22: 371-378.
- Marinho, C.S., Milhem, L.M.A., Altoé, J.A., Barroso, D.G., Pommer, C.V., (2009) Propagação da goiabeira por miniestaquia. *Revista Brasileira de Fruticultura* (Impresso), 31: 607-611.
- Martins, L.S.S., Santos, R., Souza, A.G., Resende, L.V., Maluf, W.R. (2013) Parasitismo de *Meloidogyne enterolobii* em espécies de Myrtaceae. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 35 (2): 477-484.
- MAPA. Cultivarweb. Ministério da Agricultura do Governo Federal: http://sistemas.agricultura.gov.br/snpc/cultivarweb/cultivares_registradas.php em 30 de março de 2020.
- Mauriat, M., Petherle, A., Bellini, C., Moritz, T. (2014) Gibberellins inhibit adventitious rooting in hybrid aspen and *Arabidopsis* by affecting auxin transport. *The plant journal*, 78(3):372-384.
- Merlin, T.P.A. (2012) *Uso de reguladores vegetais e bioestimulantes para a abreviação de produção do porta-enxerto limoeiro “cravo” (Citrus limonia Osbeck)*. Tese (Doutorado em Agronomia)- Botucatu- SP, Universidade Estadual Paulista, 90p.
- Milhem, L.M.A. (2011) *Ambientes de enraizamento e substratos de cultivo para mudas de goiabeira produzidas por miniestaquia*. Dissertação (Mestrado em

Produção Vegetal)- Campos dos Goytacazes-RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense, 52p.

- Milhem, L.M.A., Marinho, C.S., Guilherme, D. O., Freitas, S.J., Freitas, J.A.A. (2014) Ambientes de enraizamento para goiabeiras propagadas por estaquia ou miniestaquia. *Vértices*, Campos dos Goytacazes, 16(3):75-85.
- Miranda, G.B., Souza, R.M., Gomes, V.M., Ferreira, T.F., Almeida, A.M. (2012) Avaliação de acessos de *Psidium* spp. quanto à resistência a *Meloidogyne enterolobii*. *Bragantia*, 71 (1):52-58.
- Moreira, W.A., Henriques-Neto, D. (2001) Attack by gall nematode (*Meloidogyne mayaguensis*) to seedlings of guava obtained from cuttings and grafting. *Embrapa Semi-Árido*, 107:4.
- Morillon, R., Catterou, M., Sangwan, R.S., Sangwan, B.S., Lassalles, J.P. (2001) Brassinolide may control aquaporin activities in *Arabidopsis thaliana*. *Planta*, 212(2): 199-204.
- Mussig, C., Shin, G.H., Altmann, T. (2003) Brassinosteroids promote root growth in *Arabidopsis*. *Plant Physiol* 133: 1261–1271.
- Nakhooda, M., Watt, M.P., Mycock, D. (2011) Auxin stability and induction and development in *Eucalyptus grandis*. *Plant Growth Regulation*, 65: 263-271.
- Oh, E., Zhu, J.Y., Bai, M.Y., Arenhart, R.A., Sun, Y., Wang, Z.Y. (2014) Cell elongation is regulated through a central circuit of interacting transcription factors in the *Arabidopsis hypocotyl*. *eLife*, 3.
- Oliveira, A., Ferreira, G., Rodrigues, J.D., Ferrari, T.B., Primo, A., Poletti, L.D. (2005) Efeito de reguladores vegetais no desenvolvimento de mudas de *Passiflora alata* Curtis. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 27(1): 9-13.
- Parween, N., Mishra, S., Adil, A., Pal, A., Jha, K.K. (2019) Effect of GA₃ on Reproductive Growth and Cormel Production of *Gladiolus*. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 8(6): 1739-1750.
- Peña, M.L.P., Zanette, F., Biasi, L.A. (2015) Época de coleta e ácido indolbutírico no enraizamento de miniestacas de pitangueira. *Semina Ciências Agrárias*, 36 (5): 3055-3068.
- Pereira, F.M., Nachtigal, J.C. (1997) Propagação da goiabeira. In: Simpósio brasileiro sobre a cultura da goiabeira, Jaboticabal: Funep, 17-32 p.

- Pereira, F.O.M., Souza, R.M., Souza, P.M.; Dolinski, C., Santos, G. K. (2009) Estimativa do impacto econômico e social direto de *Meloidogyne mayaguensis* na cultura da goiaba no Brasil. *Nematologia Brasileira*, 33 (2):176-181.
- Pereira-Netto, A.B., Schaefer, S., Galagovsky, L.R., Ramirez, J.A., Hayat S., Ahmad, A. (2003) Brassinosteroid-driven modulation of stem elongation and apical dominance: applications in micropropagation, Brassinosteroids: Bioactivity and Crop Productivity. *Dordrecht Kluwer Academic Publishers*, 129–157.
- Pereira-Netto, AB., Roessner, U., Fujioka, S., Bacic, A., Asami, T., Yoshida, S., Clouse, SD. (2009) Shooting control by brassinosteroids: metabolomic analysis and effect of brassinazole on *Malus prunifolia*, the Marubakaido apple rootstock. *Tree Physiology*, 29:607–620.
- Pereira, I.S., Fachinello, J.C., Antunes, L.E.C., Campos, A.D., Pina, A. (2014) Incompatibilidade de enxertia em *Prunus*. *Ciência Rural*, 44 (9).
- Pio, R., Ohland, T., Chagas, E.A., Barbosa, W., Dalastro, I.M., Campagnolo, M.A., Bettiol-Neto, J.E. (2010) Enraizamento de estacas apicais de figueira Roxo de Valinhos submetidas à estratificação a frio úmido e AIB. *Ceres*, 57(3):401-404.
- Pommer, C.V., Oliveira, O.F., Santos, C.A.F. (2013) Goiaba: recursos genéticos e melhoramento. 1. ed. Mossoró: UFRS, 126p.
- Porto, A.H., Wagner-Júnior, A., Koseira-Neto, C., Silva, M., Stefani, A.R., Fabiane, K.C. (2018) Giberelina e substratos na produção e qualidade de mudas de araçazeiros amarelo e vermelho (*Psidium cattleianum* Sabine). *Colloquium Agrariae*, 14(1):35-48.
- Rahman, N., Tehsinullah, G., Nab, I., Taslin, J. (2004) Effect of different growth regulators and types of cuttings on rooting of guava (*Psidium guajava* L.). *Science Vision*, 9(1-2):1-5.
- Robaina, R.R., Campos, G.S., Marinho, C.S., Souza, R.M., Bremenkamp, C. A. (2015) Grafting guava on cattley guava resistant to *Meloidogyne enterolobii*. *Ciência Rural*, 5 (9):1579-1584.
- Rodriguez, E.A.G., Padrella, E.A., Souza, P.V.D., Shafer, G. (2016) Propagação assexuada de araçazeiro (*Psidium cattleianum* Sabine) por estacas de folhas e ramos jovens. *Revista Árvore*, 40 (4): 707-714.

- Sandoval-Denis, M., Lombard, L., Crous, P.W. (2019) Back to the roots: a reappraisal of *Neocosmospora*. *Persoonia: Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi*, 43: 90-185.
- Santos, E.A.S., Moreira, T.L., Rosa, R.D.A., Souza, D.S., Pereira, E.S., Mões, R. S., Reis, M.F.T. (2020) Bebida alcoólica fermentada de goiaba *Psidium guajava* L.): processamento e caracterização. *Brazilian Journal of Development*, 6(5):31785-31798.
- Schaefer, S., Medeiro, S.A., Ramirez, J.A., Galagovsky, L.R., Pereira-Netto, A.B. (2002) Brassinosteroid-driven enhancement of the *in vitro* multiplication rate for the marubakaido apple rootstock [*Malus prunifolia* (Willd.) Borkh.]. *Plant Cell Rep* 20:1093–1097.
- Sharma, A., Wali, V.K., Sharma, M.J., Sharma, B. (2013) Effectiveness of various crop Regulation Treatments in Guava (*Psidium guajava*) cv. L- 49. *Madras Agricultural Journal*, 100 (1-3): 747-750.
- Silva, D.N.A. (1998) cultura da goiabeira. Vitória. Emater- ES, 15p.
- Silva, R.V., Oliveira, R.D.L. Ocorrência de *Meloidogyne enterolobii* (sin. *M. mayaguensis*) em Goiabeiras no Estado de Minas Gerais, Brasil (2010) *Nematologia Brasileira*, 34 (3): 172-177.
- Silva, K.B., Reiniger, L.R.S., Rabaiolli, S.D.S., Stefanel, C.M., Ziegler, A.D.F. (2019) Productivity of minicepas and rooting of minicuttings of *Luehea divaricata* Mart. & Zucc. in the different seasons of the year. *Scientia Forestalis*, 47(122):294-302.
- Sobral, M., Proença, C., Souza, M., Mazine, F., Lucas, E. (2020) Myrtaceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro.
- Souza Junior, L., Wendling, I. (2003) Propagação vegetativa de *Eucalyptus dunnii* via miniestaquia de material juvenil. *Boletim de Pesquisa Florestal*, 46: 21-30.
- Souza, H.A., Natale, W., Rozane, D.E. (2011) Avaliação agronômica da aplicação do resíduo da indústria processadora de goiabas em pomar comercial de goiabeiras. *Revista Brasileira Ciência do Solo*, 35: 969-979.
- Souza, R.B.C., Santos, C.A.F., Flori, J.E., Castro, J.M.C., Costa, S.R., Silva, J.M., Aquino, D.A.L., Miranda, C.G.S. (2014) Avaliação aos 6 meses de transplante em áreas de produtores de híbrido interespecífico de *Psidium* resistente ao *Meloidogyne enterolobii*. In: Jornada de Iniciação Científica da Embrapa Semiárido, 9, Petrolina: *Embrapa Semiárido*.

- Souza, de R.R.C., Fernandes Santos, C.A., Costa, S.R. (2018) Field resistance to *Meloidogyne enterolobii* in a *Psidium guajava* × *P. guineense* hybrid and its compatibility as guava rootstock. *Fruits*, 73:118-124.
- Taiz, L., Zeiger, E (2009) Fisiologia vegetal. Porto Alegre: Artmed, 449-484 p.573-574 p.
- Titon, M., Xavier, A., Otoni, W.C., Reis, G.G. (2003) Efeito do AIB no enraizamento de miniestacas e microestacas de clones de *Eucalyptus grandis* W. Hill ex Maiden. *Revista Árvore*, 27 (1): 1-7.
- Tong, H., Xiao, Y., Liu, D., Gao, S., Liu, L., Yin, Y., Yun, Y., Qian, J., Chu, C. (2014) Brassinosteroid regulates cell elongation by modulating gibberellin metabolism in rice. *Plant Cell*, 26:4376–4393.
- Vichiato, M.R.M., Vichiato, M., Castro, D.M., Dutra, L.F., Pasqual, M. (2007) Alongamento de plantas de *Dendrobium nobile* Lindl. com pulverização de ácido giberélico. *Ciência e Agrotecnologia*, 31(1): 16-20.
- Vilarinho, M.K.C., Cândido, A.K.A.A. (2014) Efeito de biorregulador no enraizamento de estacas de eritrina-verde-amarela (*Erythrina indicapicta*), *Dourados*, 7 (24): 251-256.
- Velasco-Arango, V.A., Bernal-martínez, A.A., Ordóñez-santos, L.E., Hleap-Zapata, J.I. (2020) Characterization of guayaba epicarp (*Psidium guajava* L.) as a natural alternative for use in processed food products. *Bioteconología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 18(2):26-35.
- Veloso, J.S., Câmara, M.P.S., Souza, R.M. (2020) Guava decline: updating its etiology from '*Fusarium solani*' to *Neocosmospora falciformis*. *European Journal of Plant Pathology*, 1-6.
- Yamamoto, L.Y., Borges, R.S., Sorace, M., Rachid, B.F., Ruas, J.M.F., Sato, O., Assis, A.M., Roberto, S.R. (2010) Enraizamento de estacas de *Psidium guajava* (L.) 'Século XXI' tratadas com ácido indolbutírico veiculado em talco e álcool. *Ciência Rural*, 40 (5):1037-1042.
- Yang, C., Zhang, C., Lu, Y., Jin, J., Wang, X. (2011) The mechanisms of brassinosteroids action: from signal transduction to plant development. *Molecular Plant* 4(4):588-600.

Zheng, Y., Xu, B., Ren, K., Zhang, Y., Wu, J. (2017) Impact of soil drench and foliar spray of 24-epibrassinolide on the growth, and quality of field-grown *Moringa oleifera*. *Journal Plant Growth Regulation*, 36: 931-941.

APÊNDICE



Foto 1: Minijardim clonal de *P. guajava* (L.) x *P. guineense* (Sw.), BRS Guaraçá.



Foto 2: Miniestacas no interior da câmara de nebulização (a), local em que permaneceram por 60 dias. Mudanças recém-enraizadas estabelecidas na etapa de aclimatização, no interior de um ambiente protegido (70 % de luminosidade).

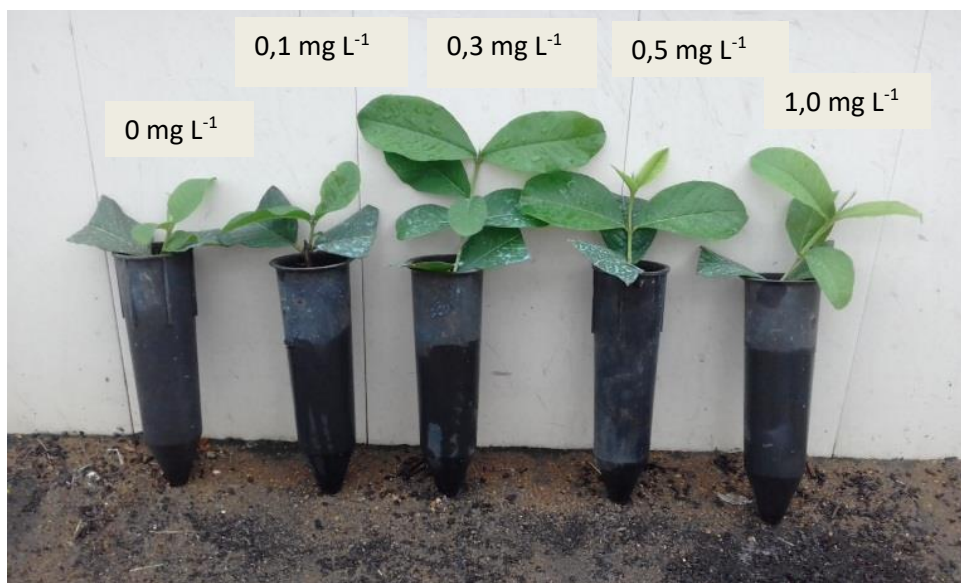


Foto 3: Mudanças de BRS Guaraçá aos 60 dias de aclimatização, tratadas com concentrações de (0; 0,1; 0,3; 0,5 e 1,0 mg L⁻¹) do Biobras-16.



Foto 4: Minijardim clonal de BRS Guaraçá estabelecido em citrovvasos de 3,8 L. A fotografia foi realizada antes do desponte e tratamento com as concentrações de ácido giberélico.



Foto 5: Minijardim clonal de BRS Guaraçá podado no quinto par de folhas e tratado com as concentrações de ácido giberélico (0, 50, 100, 150 e 200 mg L⁻¹).



Foto 6: Minijardim clonal de BRS Guaraçá 30 dias após a poda e o tratamento com as concentrações de ácido giberélico, durante o período do verão (a) e do inverno (b).



Foto 7: Mudas dos híbridos *P. guineense* x *P. cattleianum* e *P. guajava* x *P. cattleianum* recém transplantadas.



Foto 8: Mudas dos híbridos *P. guineense* x *P. cattleianum* e *P. guajava* x *P. cattleianum*, antes de serem enxertadas (março 2019).



Foto 9: Goiabeira 'Paluma' recém-enxertada sob porta-enxertos de híbridos híbridos *P. guineense* x *P. cattleianum* e *P. guajava* x *P. cattleianum*, por meio de minigarfagem, as plantas foram fotografada no interior da câmara de nebulização.



Foto 10: Mudas de goiabeira 'Paluma' (tratamento 4), após 120 dias de minigarfagem (a), detalhe na região do ponto de enxertia (b).