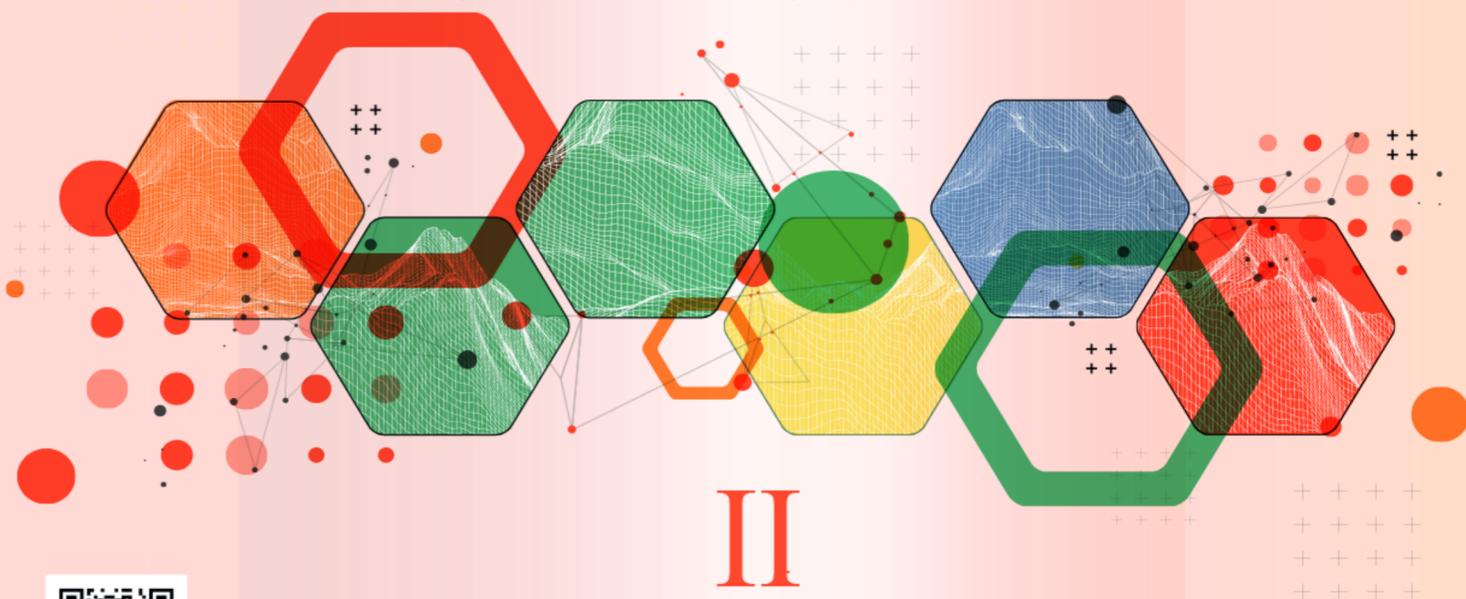




# Open Science Research



editora  
científica digital



**EDITORA CIENTÍFICA DIGITAL LTDA**  
Guarujá - São Paulo - Brasil  
[www.editoracientifica.org](http://www.editoracientifica.org) - [contato@editoracientifica.org](mailto:contato@editoracientifica.org)

Diagramação e arte	2022 by Editora Científica Digital
Equipe editorial	Copyright© 2022 Editora Científica Digital
Imagens da capa	Copyright do Texto © 2022 Os Autores
Adobe Stock - licensed by Editora Científica Digital - 2022	Copyright da Edição © 2022 Editora Científica Digital
Revisão	Acesso Livre - Open Access
Os autores	

## Organização

O conteúdo dos capítulos e seus dados e sua forma, correção e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva dos autores. É permitido o download e compartilhamento desta obra desde que pela origem e no formato Acesso Livre (Open Access) com os créditos atribuídos aos respectivos autores, mas sem a possibilidade de alteração de nenhuma forma, catalogação em plataformas de acesso restrito e utilização para fins comerciais.



Esta obra está licenciada com uma Licença Creative Commons Atribuição-Não Comercial-Sem Derivações 4.0 Internacional (CC BY-NC-ND 4.0).

## Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

061 Open science research II / Editora Científica Digital (Organização: Volume 2). – Guarujá-SP: Científica Digital, 2022.

Formato: PDF  
Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader  
Modo de acesso: World Wide Web  
Inclui bibliografia  
ISBN 978-65-5360-080-5  
DOI 10.37885/978-65-5360-080-5

1. Ciências. 2. Coletânea multidisciplinar. I. Editora Científica Digital (Organização). II. Título.

CDD 501

# Reguladores de crescimento e época de inoculação dos óvulos no resgate de embriões de uvas sem sementes

| **Bruna Thais Gonçalves Nunes**  
UEFS

| **Nataniel Franklin de Melo**  
Embrapa Semiárido

| **Patrícia Coelho de Souza Leão**  
Embrapa Semiárido

# RESUMO

O presente estudo teve por objetivo avaliar a aplicação de regulares de crescimento e da época de coleta e inoculação *in vitro* de óvulos de videira em diferentes cruzamentos sobre a percentagem e número de embriões resgatados e germinados. Dois experimentos foram realizados na Embrapa Semiárido, Petrolina, PE. No primeiro experimento os tratamentos foram representados pelos reguladores de crescimento ANA, BAP, GA3 e a combinação ANA + BAP e BAP + GA3 aplicados aos 10 dias antes da floração e 7 dias após a polinização. No segundo experimento, foram avaliadas três épocas de coleta e inoculação dos óvulos (6, 7 e 8 semanas após a polinização). Os resultados obtidos permitem concluir que as respostas variam em função dos genótipos parentais, mas a pulverização das inflorescências da videira com GA3 (50 + 50 mg.L<sup>-1</sup>) aos 10 dias antes da floração e 7 dias após a polinização, como também a inoculação dos óvulos 7 a 8 semanas após a polinização aumentaram o número de óvulos inoculados e a percentagem de resgate e germinação de embriões em cruzamentos entre cultivares de uvas sem sementes.

**Palavras-chave:** Melhoramento Genético de Videira, uva, Biotecnologia.

## ■ INTRODUÇÃO

A viticultura destaca-se como uma das mais importantes cadeias produtivas da agricultura irrigada no Nordeste brasileiro, sendo que, em 2018, 31% da produção nacional e 14% da área cultivada estavam concentrados no Submédio do Vale do São Francisco (IBGE 2021).

A uva é a terceira fruta na pauta de exportações do Brasil, atrás da manga e do melão, e o Submédio do Vale do São Francisco responde por 99% do total das exportações brasileiras dessa fruta desde o ano de 2002, com volumes que atingiram 49,3 mil toneladas em 2020, o que representou um aumento de 9% em relação à 2019 (COMEXTAT, 2021).

Nesta última década, as cultivares tradicionais Thompson Seedless, Sugraone e Crimson Seedless foram substituídas por cultivares de uvas de mesa melhor adaptadas ao ambiente tropical semiárido desenvolvidas pelos programas de melhoramento genético da Embrapa e de empresas privadas internacionais. Esta forte demanda do setor produtivo evidencia a necessidade de fortalecimento dos programas locais de melhoramento genético para desenvolvimento de cultivares de uvas sem sementes adaptadas ao ambiente tropical semi árido do Brasil.

O caráter apirenia ou ausência de sementes tem determinação genética e pode ser do tipo partenocarpia ou estenoespermocarpia (Pratt, 1971). Na partenocarpia, ocorre o desenvolvimento do fruto sem que haja fecundação das flores, não havendo vestígios de sementes. Na estenoespermocarpia, o desenvolvimento da semente não se completa devido ao aborto do embrião e degeneração do endosperma, ocorrendo a formação de sementes-traço no fruto, que são imperceptíveis na degustação (Damião Filho; Môro, 2001), sendo este tipo característico das cultivares comerciais.

O método de melhoramento mais utilizado na obtenção de novas cultivares de uvas sem sementes é a hibridação controlada utilizando-se como parentais duas cultivares ou genótipos de uvas sem sementes, o que aumenta a frequência de indivíduos sem sementes na progênie (Emershad & Ramming 1984). Nesses cruzamentos ocorre o aborto do embrião em períodos variáveis após a fertilização, o que torna necessário o uso da técnica de resgate de embriões. Entretanto, a eficiência na obtenção de plantas a partir da utilização das sementes-traço de cruzamentos entre genitores apirenos ainda é baixa, representando um aproveitamento que varia entre 2 à 15% (Amaral *et al.*, 2001), sendo esta dificuldade da técnica também observada nos trabalhos realizados no Vale do Submédio São Francisco (Leão *et al.*, 2013; Nunes *et al.*, 2014; Nunes *et al.*, 2015a,b).

O sucesso no resgate embriões imaturos na videira depende em grande parte da sua fase de maturidade, idade do óvulo e composição do meio de crescimento (Sharma *et al.*, 1996; Li *et al.*, 2014). A aplicação de reguladores de crescimento, antes ou depois da floração, tem sido utilizada com bastante sucesso para aumentar o desenvolvimento das

sementes-traço em cruzamentos de uvas estenoespermocárpicas (Bordelon, 1994; Bharathy *et al.* 2003; Khoshandan *et al.*, 2017), assim como estudos para determinar melhores épocas para a sua coleta em campo, considerando também a influência do genótipo utilizado (Guo *et al.*, 2011; Ji *et al.*, 2013; Liu *et al.*, 2013).

Aguero *et al.* (1995) e Bharathy *et al.* (2003), utilizando pulverizações com benziladenina (BA) em cachos resultantes de cruzamentos realizados em cultivares sem sementes, observaram o aumento no tamanho dos óvulos no momento do resgate de embriões, e maior percentagem na obtenção de plantas híbridas. O uso de pulverizações com giberelina também tem mostrado resultados satisfatórios, Ledbetter & Shonnard (1990) obtiveram um percentual de 56% na germinação de sementes-traço da cultivar 'C35-33', quando comparado ao tratamento controle, que obteve apenas 12,4%.

Entretanto, os trabalhos reportados na literatura são limitados e não existem informações sobre resultados de pesquisas realizadas no Brasil, buscando otimizar o método para aumentar a taxa de resgate de embriões e germinação de plântulas no melhoramento genético de uvas de mesa.

Dessa forma, objetivou-se no presente trabalho estudar a influência da aplicação de reguladores de crescimento antes e após a floração, bem como da época para inoculação dos óvulos, sobre a percentagem e o número de embriões resgatados e germinados, visando aumentar a eficiência do método de resgate de embriões no melhoramento genético de uvas de mesa no semi árido brasileiro.

## ■ MATERIAL E MÉTODOS

### **Experimento 1: Avaliação do resgate de embriões em cachos de videira tratados com reguladores de crescimento**

Os cruzamentos foram realizados em videiras cultivadas no Campo Experimental de Bebedouro da Embrapa Semiárido em Petrolina, PE (09°09' S e 40°22' W e altitude de 365,5 m). O método de melhoramento utilizado foi hibridação controlada conforme descrito por Leão & Borges (2009). O polén previamente coletado foi colocado em dessecador contendo sílica gel e armazenado em geladeira a uma temperatura aproximada de 5°C. Como genitor feminino utilizou-se a cultivar 'Marroo Seedless' e como genitor masculino, as cultivares 'CG 351' e 'Jupiter'. Estas cultivares foram selecionadas de acordo com trabalhos preliminares para seleção de genótipos mais promissores. Dois cruzamentos foram realizados: 'Marroo Seedless' x 'CG 351' (cruzamento 1) e 'Marroo Seedless' x 'Jupiter' (cruzamento 2).

Os tratamentos foram representados pela aplicação de ácido naftalenoacético (ANA), benzilaminopurina (BAP) e ácido giberélico (GA3) isolado ou combinado entre si e uma

testemunha, na qual não se utilizou reguladores de crescimento. As pulverizações dirigidas aos cachos foram realizadas em dois períodos: 10 dias antes da floração e 7 dias após a polinização, em 5 plantas com a mesma época de poda, conforme Tabela 1.

**Tabela 1.** Concentrações de reguladores de crescimento e épocas de aplicação em cachos de cruzamentos de videira na Embrapa Semiárido, Petrolina-PE, 2017.

Tratamentos	1ª aplicação (daf <sup>1</sup> )	Doses (mg.L <sup>-1</sup> )	2ª aplicação (dap <sup>1</sup> )	Doses (mg/L)
ANA	10	20	7	20
BAP	10	50	7	50
GA3	10	50	7	50
ANA+BAP	10	20+50	7	20+50
BAP+GA3	10	50+50	7	50+50
Testemunha		0		0

<sup>1</sup>daf: dias antes da floração; dap: dias após a polinização.

As soluções com os fitorreguladores foram preparadas no mesmo dia da aplicação. Os compostos químicos foram pesados, diluídos em seus solventes apropriados e colocados em pulverizadores de spray individuais. Foram adicionadas duas gotas de espalhante adesivo para melhor fixação e absorção do produto.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com seis tratamentos e cinco repetições, sendo a unidade experimental representada por uma planta.

## **Experimento 2: Avaliação de diferentes épocas de inoculação e resgate de embriões na obtenção de populações híbridas de videira**

Os cruzamentos foram realizados no período de 08/08/2016 a 31/08/2016, em videiras cultivadas no Campo Experimental de Bebedouro da Embrapa Semiárido, utilizando-se o procedimento clássico de emasculação do genitor feminino seguido de polinização manual (Leão & Borges, 2009). Como genitores femininos foram utilizados os genótipos de uvas sem sementes 'CNPUV 24' e 'Marroo Seedless', e como genitores masculinos, 'BRS Vitória' e 'CG 102295', em dois cruzamentos: 'Marroo Seedless' x 'BRS Vitória' e 'CNPUV 24' x 'CG 102295'. Dezoito cachos de cada cruzamento foram emasculados e polinizados, os quais formaram três grupos com seis cachos cada um, submetidos a três tratamentos de épocas de coleta das sementes traço: seis, sete e oito semanas após a polinização (sap).

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 2 x 3 (dois cruzamentos e três épocas de coleta da semente traço) em três repetições.

Em ambos experimentos, as bagas foram colhidas e levadas ao laboratório de biotecnologia da Embrapa Semiárido. A desinfestação das bagas foi realizada em câmara de fluxo laminar por meio de lavagem em água destilada autoclavada, imersão em álcool a 70% (v/v) por 1 minuto e em hipoclorito de sódio a 0,2% por 20 minutos sob agitação. Após

a desinfestação das bagas, os óvulos foram extraídos e inoculados em tubos de ensaio contendo meio de cultura proposto por Galzy (1964), suplementado com PVP (0,0015 g/L), inositol (0,1 g/L), glicina (0,002g/L), ágar (4,0 g/L) sacarose (30g/L), e pH ajustado para 5,9 antes da autoclavagem a 120 °C por 20 min. Posteriormente, o material foi mantido em sala de crescimento com fotoperíodo de 16h e temperatura de 23±27 °C.

Aos 45 dias após a inoculação dos óvulos foi realizado o isolamento e a inoculação dos embriões em meio de cultura WPM (Lloyd & McCown, 1980), suplementado com sacarose (30g/L), inositol (0,1g/L), glicina (0,002g/L), BAP (1mg/L), PVP (0,1g/L), ágar (5,0 g/L), sendo o pH ajustado para 5,9 antes da autoclavagem. O material foi cultivado durante 90 dias em sala de crescimento com fotoperíodo de 16 h, temperatura de 25±2 °C e radiação fotossintética ativa de 40  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ .

As variáveis avaliadas em ambos experimentos foram o número de bagas e de óvulos mediante contagem no momento da inoculação de bagas, o número de embriões resgatados por contagem no momento do resgate de embriões, e após 30 dias de cultivo, o número de embriões germinados de cada tratamento nos dois experimentos. A partir destes resultados foram calculados a percentagem de embriões resgatados e germinados.

Os dados obtidos foram transformados para raiz ( $x + 0,5$ ), submetidos a análise de variância e as médias comparadas a 5% de significância pelo teste de Tukey.

## ■ RESULTADOS E DISCUSSÃO

### **Experimento 1: Avaliação do resgate de embriões em cachos de videira tratados com reguladores de crescimento**

O ácido giberélico (GA3) aplicado antes e após a floração (50 + 50 mg.L<sup>-1</sup>) favoreceu o resgate de embriões imaturos de videira nos dois cruzamentos avaliados neste estudo, entretanto no cruzamento 'Marroo Seedless' x 'CG 351', a percentagem de embriões resgatados nos cachos tratados com GA3 (63,23%) foi similar àqueles tratados com ANA (63,33%), o que não foi observado no cruzamento 'Marroo Seedless' x 'Jupiter', onde o tratamento GA3 diferiu significativamente de todos os demais tratamentos. Aguero *et al.* (2000), estudaram os efeitos da aplicação de reguladores de crescimento em cultivares de uvas sem sementes, e demonstraram que o uso de giberelina foi eficaz para o desenvolvimento de sementes-traço, confirmando a ação indutiva de crescimento das giberelinas. Os menores valores percentuais de resgate de embrião foram observados na combinação ANA + BAP no cruzamento 'Marroo Seedless' x 'CG 351' e na testemunha, no cruzamento 'Marroo Seedless' x 'Jupiter'.

Na Tabela 2 observa-se ainda que no cruzamento 'Marroo Seedless' x 'CG 351', as aplicações de ANA e GA3 foram mais eficiente do que a aplicação de BAP, a combinação

entre eles (ANA + BAP e GA3 + BAP) e a testemunha para induzir a germinação de embriões, com diferenças significativas entre eles. No cruzamento ‘Marroo Seedless’ x ‘Jupiter’, maior percentagem de germinação foi encontrada também no tratamento com GA3, diferindo de todos os demais tratamentos, sendo que na testemunha, sem utilização de reguladores de crescimento, obteve-se a menor percentagem de germinação de embriões de videira (Tabela 2). Resultados satisfatórios com aplicações em campo de giberelinas também foram reportadas por, Ledbetter e Shonnard (1990) que obtiveram um percentual de 56% na germinação de sementes-traço da cultivar ‘C35-33’, quando comparado ao tratamento controle, que obteve apenas 12,4%.

O efeito de cada regulador também tem interação com o genótipo, podendo induzir respostas diferentes em função das cultivares de videira em estudo. Como exemplo, podemos citar os resultados relatados por Barathy *et al* (2005) e Khoshandan *et al* (2017), que observaram uma maior percentagem de germinação de embriões quando os cachos das cultivares ‘Thompson Seedless’ e ‘Flame Seedless’ foram tratados com a citocinina BAP, obtendo 47,5% e 33% de germinação, respectivamente, o que não foi observado neste trabalho, na cultivar Marroo Seedless, independente do genitor masculino utilizado.

**Tabela 2.** Efeito de reguladores de crescimento em cachos resultantes do cruzamento de videiras sobre o resgate e germinação *in vitro* de embriões zigóticos<sup>1</sup>.

Tratamento	Embriões resgatados (%)	Embriões germinados (%)	Embriões resgatados (%)	Embriões germinados (%)
	‘Marroo Seedless’ x ‘CG 351’		‘Marroo Seedless’ x ‘Jupiter’	
Testemunha	36.46 c	21.76 b	25.15 d	18.55 d
ANA	63.33 a	48.33 a	50.91 b	27.97 c
BAP	31.94 c	21.75 b	48.10 b	32.91 b
GA3	63.23 a	47.05 a	56.11 a	40.72 a
ANA + BAP	23.26 d	12.79 c	38.16 c	17.10 d
GA3 + BAP	51.90 b	27.82 b	49.72 b	28.13 c
CV (%)	6,68	13,18	3,71	5,80
Média	45,02	29,93	44,69	27,56

<sup>1</sup>Médias seguidas das mesmas letras em cada coluna, não diferem pelo teste de Tukey a 5% de significância.

## Experimento 2: Avaliação de diferentes épocas de inoculação e resgate de embriões na obtenção de populações híbridas de videira

Na Tabela 3 pode-se observar maior número de óvulos inoculados no cruzamento ‘Marroo Seedless’ x ‘BRS Vitória’, quando os mesmos foram coletados 8 semanas após a polinização (sap. Por sua vez, no cruzamento ‘CNPUV 24’ x ‘CG 102295’ maior número de óvulos foi obtido 7 sap. Considerando-se a média dos dois cruzamentos, maior número de óvulos foram inoculados 8 sap (54,9 óvulos) e no cruzamento ‘CNPUV 24’ x ‘CG 102295’ (46 óvulos). Em trabalhos realizados por Ji *et al* (2013), as melhores épocas para obtenção de óvulos foram distintas para cada cruzamento realizado, variando de 5 até 9 sap.

**Tabela 3.** Números de óvulos produzidos e inoculados, de embriões resgatados e de embriões germinados em dois cruzamentos de videira, com inoculação das sementes traço na sexta, sétima e oitava semanas após a polinização. Campo Experimental de Bebedouro da Embrapa Semiárido, Petrolina – PE, 2017<sup>1</sup>.

Número de óvulos inoculados				
Cruzamento	6 sap	7 sap	8 sap	Média
'CNPUV 24' x 'CG 102295'	36,6 cC	61,9 aA	41,3 bB	<b>46,0 A</b>
'Marroo Seedless' x 'BRS Vitória'	16,6 bB	17,3 bB	77,6 aA	<b>32,3 B</b>
<b>Média</b>	<b>26,6 c</b>	<b>39,6 b</b>	<b>59,4 a</b>	
<b>CV (%)</b>		<b>3,15</b>		
Número de embriões resgatados				
Cruzamento	6 sap	7 sap	8 sap	Média
'CNPUV 24' x 'CG 102295'	4,89 bB	8,66 aA	4,16 bB	<b>5,76 B</b>
'Marroo Seedless' x 'BRS Vitória'	2,62 cC	4,14 bB	26,21 aA	<b>8,68 A</b>
<b>Média</b>	<b>3,7 c</b>	<b>6,4 b</b>	<b>15,2 a</b>	
<b>CV (%)</b>		<b>7,35</b>		
Número de embriões germinados				
Cruzamento	6 sap	7 sap	8 sap	Média
'CNPUV 24' x 'CG 102295'	1,36 aA	2,15 aA	2,31 aA	<b>1,92 B</b>
'Marroo Seedless' x 'BRS Vitória'	0,93 bB	1,08 bB	14,7 aA	<b>3,99 A</b>
<b>Média</b>	<b>1,14 b</b>	<b>1,61 b</b>	<b>8,5 a</b>	
<b>CV (%)</b>		<b>12,16</b>		

<sup>1</sup>Médias seguidas por letras distintas minúsculas na linha e maiúsculas na coluna diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância.

Em relação ao número médio de embriões resgatados, houve diferença significativa entre as três épocas de inoculação dos óvulos nos dois cruzamentos. Mantendo o comportamento já observado na variável número de óvulos inoculados, a inoculação 7 sap promoveu aumento significativo no número de óvulos resgatados no cruzamento 'CNPUV 24' x 'CG 102295', mas no cruzamento 'Marroo Seedless' x 'BRS Vitória', os melhores resultados foram observados 8 sap.

Não houve diferença estatística significativa entre as três épocas de inoculação dos óvulos no cruzamento 'CNPUV 24' x 'CG 102295'. Por outro lado, no cruzamento 'Marroo Seedless' x 'BRS Vitória' maior germinação ocorreu quando os óvulos foram inoculados 8 sap. As diferentes respostas obtidas nos resultados observados entre os dois tipos de cruzamento podem estar relacionados com diferenças genotípicas e de compatibilidade genética, resultantes de hibridações anteriores, bem como com as taxas de fertilização de cada indivíduo (Liu *et al* 2003; Sun *et al*, 2011). Entretanto, os resultados obtidos no cruzamento 'Marroo Seedless' x 'BRS Vitória' estão de acordo com Emershad *et al.* (1984), que mencionaram que para a maioria das cultivares avaliadas o a degeneração do endosperma tem início na oitava semana após a fecundação.

## ■ CONCLUSÃO

Duas aplicações de ácido giberélico nas fases pré e após floração aumentaram a porcentagem de embriões resgatados e germinados em dois cruzamentos de uvas sem sementes tendo a cultivar Marroo Seedless como genitor feminino.

A inoculação dos óvulos 7 e 8 semanas após a polinização aumentou o número de óvulos inoculados, embriões resgatados e germinados, respectivamente nos cruzamentos 'CNPUV 24' x 'CG 102295' e 'Marroo Seedless' x 'BRS Vitória'.

As repostas aos tratamentos variam em função dos genótipos parentais utilizados nos cruzamentos de uvas sem sementes.

## ■ REFERÊNCIAS

1. IBGE (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA). Pesquisa Produção Agrícola Municipal. In: Sidra: sistema IBGE de Recuperação Automática. Rio de Janeiro, 2021. Disponível em: <<https://sidra.ibge.gov.br/pesquisa/pam/tabelas>>. Acesso em: dezembro de 2021.
2. Aguero, C. et al. Effect of gibberellic acid and uniconazol on embryo abortion in the stenopermocarpic grape cultivars Emperatriz and Perlon. **Plant Growth Regulation**, v. 30, n. 1, p. 9-16, 2000.
3. Aguero, C.; Riquelme, C.; Tizio, R. Embryo rescue from seedless grapevines (*Vitis vinifera* L.) treated with growth retardants. **Vitis**, v. 34, n. 2, p. 73-76, 1995.
4. Amaral, A. L.; Oliveira, P. R. D. D.; Czermainski, A. B. C.; Camargo, U. A. Embryo growth stages on plant obtention from crosses between seedless grape parents. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 23, n. 3, p. 647-651, 2001.
5. Bharathy, P. V., Karibasappa, G. S., Biradar, A. B., Kulkarni, D. D., Solanke, A. U., Patil, S. G., Agrawal, D. C. Influence of pre-bloom sprays of benzyladenine on in vitro recovery of hybrid embryos from crosses of Thompson Seedless and 8 seeded varieties of grape (*Vitis* spp.). **VITIS Journal of Grapevine Research**, n. 42, p. 199-202, 2003.
6. Bharathy, P. V., Karibasappa, G. S., Patil, S. G., Agrawal, D. C. In ovulo rescue of hybrid embryos in Flame Seedless grapes—Influence of pre-bloom sprays of benzyladenine. **Scientia horticulturae**, v. 106, n. 3, p. 353-359, 2005.
7. COMEXSTAT. Sistema de Estatísticas do Comércio Exterior. Exportação e importação geral. Disponível em <http://comexstat.mdic.gov.br/pt/geral>. Acesso em dezembro de 2021.
8. Damião Filho, C. F.; Môro, F. V. **Morfologia externa das espermatófitas**. FCAV/UNESP, Jaboticabal-SP, p. 52, 2001.
9. Emershad, R. L.; Ramming, D. W. In-ovulo embryo culture of *Vitis vinifera* L. cv. 'Thompson Seedless'. **American Journal of Botany**, New York, v. 71, n. 6, p. 873-877, 1984.
10. Galzy, R. Technique de thermothérapie des virus de la vigne. **Annales des Epiphyties**, Paris, v. 15, p. 245-256, 1964.

11. Guo, Y., Zhao, Y., Li, K., Liu, Z., Lin, H., Guo, X.; Li, C. In vitro embryo rescue culture of F1 progenies from crosses between tetraploid grape and *Vitis amurensis* Rupr. **African Journal of Agricultural Research**, 6(21), 4906-4909, 2011.
12. Ji, W.; Li, Z. Q.; Zhou, Q.; Yao, W. K.; Wang, Y. J. Breeding new seedless grape by means of in vitro embryo rescue. **Genetics and Molecular Research**, 12, 859-869, 2013.
13. Khoshandam, L.; Baneh, H. D.; Marandi, R. J.; Darwishzadeh, R. Effect of BA and ovule developmental stages on embryo rescue in Perlette grape (*Vitis vinifera* L.) cultivar. **European Online Journal of Natural and Social Sciences**, v. 6, n. 1, p. 1, 2017.
14. Leao, P. C. S. de; Oliveira, V. R.; Nunes, B. T. G.; Martins, B. E. S. Eficiência na obtenção de híbridos por meio da técnica de resgate de embriões para desenvolvimento de cultivares de uvas sem sementes no Semiárido brasileiro: 2011-2012. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MELHORAMENTO DE PLANTAS, 7., 2013, Uberlândia. **Variedade melhorada: a força da nossa agricultura: anais**. Viçosa, MG: SBMP, p. 146-149, 2013.
15. Leão, P. C. S.; Borges, R. M. E. **Melhoramento genético da videira**. Petrolina: Embrapa Semiárido, 61 p. il. (Embrapa Semiárido. Documentos, 224), 2009.
16. Ledbetter, C. A.; Shonnard, C. B. Improved seed development and germination of stenospermic grapes by plant growth regulators. **Journal of Horticultural Science**, v. 65, n. 3, p. 269-274, 1990.
17. Li, J.; Wang, X.; Wang, X.; Wang, Y. Embryo rescue technique and its applications for seedless breeding in grape. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Hague, v. 120, n. 3, p. 861-880, 2014.
18. Liu, S. M., Sykes, S. R., Clingeleffer, P. R. Improved in ovulo embryo culture for stenospermocarpic grapes (*Vitis vinifera* L.). **Australian Journal of Agricultural Research**, 54(9), 869-876, 2003.
19. Lloyd, G.; McCown, B. Commercially-feasible micropropagation of Mountain laurel, *Kalmia latifolia*, by use of shoot tip culture. **International Plant Propagation Society Proceedings**, Washington, v.30, p.421-427, 1980.
20. Nunes, B. T. G.; Pedroso, A. D. das D.; Melo, N. F. de.; Leão, P. C. de S. Obtenção de híbridos de uvas sem sementes por meio da técnica de resgate de embriões durante o período de 2014-2015. In: JORNADA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA EMBRAPA SEMIÁRIDO, 10., 2015, Petrolina. **Anais...** Petrolina: Embrapa Semiárido, p.185-190, 2015a.
21. Nunes, B. T. G., Pedroso, A. D. das D.; Leao, P. C. de S. Influência do genótipo no desenvolvimento de híbridos de uvas de mesa por meio da técnica de resgate de embriões. In Embrapa Semiárido-Resumo em anais de congresso (ALICE). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MELHORAMENTO DE PLANTAS, 8., 2015, Goiânia. O melhoramento de plantas, o futuro da agricultura e a soberania nacional: anais. Goiânia: UFG: SBMP, 2015b.
22. Nunes, B. T. G.; Pedroso, A. D. das D.; Melo, N. F.d.; Leão, P. C. de S. Obtenção de híbridos de uvas sem sementes por meio da técnica de resgate de embriões durante o período de 2013-2014. In: JORNADA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA EMBRAPA SEMIÁRIDO, 9., 2014, Petrolina. **Anais...** Petrolina: Embrapa Semiárido, p.103-108, 2014.
23. OIV – International organisation of vine and wine. Databases and statistics. 2017. Disponível em: <<http://www.oiv.int/en/databases-and-statistics/statistics>>. Acesso em: 19 set 2017.

24. Pratt, C. Reproductive anatomy in cultivated grapes - a review. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v. 22, n. 2, p. 92-109, 1971.
25. Sharma, D. R.; Kaur, R.; Kumar, K. Embryo rescue in plants – a review. **Euphytica**, Wageningen, v. 89, p. 325-337, 1996.
26. Souza, A. R. E.; Ribeiro, V. G.; Lima, F. B. F. Formação de mudas de videira enxertada sob coberturas no submédio vale do São Francisco. *Revista Verde*, v. 9, n. 4, p. 10-15, 2014.
27. Sun, L., Zhang G.J., Yan, A., Xu, H. The study of triploid progenies crossed between different ploidy grapes. **Afr. J. Biotechnol.** 10: 5967-5971, 2011.