

DIFERENTES MEIOS DE CULTIVO NO ENRAIZAMENTO *in vitro* DE PORTA-ENXERTOS DE *Prunus* sp.

DIFERENTS CULTIVATION MEDIA ON *in vitro* ROOTING OF *Prunus* sp. ROOTSTOCKS

TIBOLA, Casiane S.¹; RADMANN, Elizete B.²; RODRIGUES, Alexandre C.³; FORTES, Gérson R. de L.⁴; Fachinello, José C.⁵

RESUMO

A cultura do pessegueiro vem se destacando na fruticultura brasileira, e a utilização de mudas com características desejáveis de copa, são importantes para o sucesso do pomar. A micropropagação, constitui-se em técnica alternativa para produção de mudas com qualidade. Neste contexto, objetivou-se testar combinações de meios de cultura (ágar 5,5 g L⁻¹, vermiculita 10 ml/frasco e ágar 5,5 g L⁻¹ + vermiculita 10 ml/frasco), no enraizamento *in vitro* de porta-enxertos de *Prunus* sp. (Mr.S 2/5 e Marianna comum). Como explantes, utilizou-se brotações terminais, com aproximadamente 1,0 cm de comprimento, com 6-8 folhas, oriundas da multiplicação *in vitro*. Como meio básico, foi utilizado o meio MS com ¼ dos sais, vitaminas, 30 g L⁻¹ de sacarose e 100 mg L⁻¹ de mio-inositol, acrescido de 10 mg L⁻¹ de ácido ascórbico e 1,5 mg L⁻¹ de ácido indolbutírico (AIB), com pH ajustado para 5,8. Após a inoculação dos explantes, os frascos foram transferidos para câmara de crescimento, com fotoperíodo de 16 horas, densidade de fluxo luminoso de 31,41 w m² e temperatura de 25 ± 3°C, por um período de 30 dias. Posteriormente, as plantas foram aclimatizadas em casa de vegetação, em bandejas com substrato comercial 'plantmax'. As avaliações compreenderam: percentagem de enraizamento, número de raízes, comprimento de raiz, aspecto geral das raízes e percentagem de sobrevivência na aclimatização. O meio ágar + vermiculita proporcionou maior percentagem de enraizamento (99,78%). Os tratamentos vermiculita e ágar + vermiculita apresentaram maior número de raízes (4,94 e 3,33), respectivamente. Ambos os porta-enxertos emitiram raízes mais longas nos tratamentos com ágar: 2,46cm e 1,32cm, respectivamente. Plantas enraizadas em meios com ágar + vermiculita e vermiculita apresentaram maiores taxas de aclimatização.

Palavras-chave: Micropropagação, ágar, vermiculita.

INTRODUÇÃO

No Sul do Brasil plantam-se anualmente em torno de 500 mil mudas de pessegueiro. A obtenção dos porta-enxertos é realizada por sementes, e as mudas obtidas não atendem a demanda tanto em quantidade quanto em qualidade. Portanto, necessita-se não só de um grande volume, mas de porta-enxertos compatíveis com as cultivares copa e adaptados à diversas condições como cultivos adensados, ocorrência de pragas e doenças de solo, solos encharcados e outras características (SILVEIRA, 2000).

A oferta de porta-enxertos de origem clonal, tais como o Mr.S 2/5, proporciona a possibilidade de contenção do vigor da planta, podendo ser utilizado em cultivos adensados. Além desses aspectos, este porta-enxerto tem demonstrado boa resistência à asfixia radicular (LORETI & MASSAI, 1998).

A propagação vegetativa constitui-se em importante método para a multiplicação de plantas lenhosas (ASSIS & TEIXEIRA, 1998), tendo em vista que, por meio da propagação sexuada, ocorre segregação genética gerando desuniformidade entre as plantas. Neste sentido, a micropropagação constitui-se em técnica alternativa, pois possibilita o desenvolvimento de plantas sob condições assépticas e controladas, visando maior rapidez de proliferação e da capacidade de enraizamento, assim como maiores índices de sobrevivência na fase de aclimatização. Através desta técnica é possível obter mudas saudáveis quando associada ao cultivo de meristemas, independente da época do ano e diminuir a possibilidade de disseminação de patógenos (HARTMANN, et al. 1997). Além disso, garante a manutenção de características desejáveis como resistências a pragas e doenças e tolerância às condições de solo e clima, sendo, portanto, de grande importância para a viabilização econômica no processo de produção de mudas de frutíferas.

Em explantes de *Prunus* ssp., as maiores limitações ao uso da micropropagação têm sido o baixo enraizamento das partes regeneradas *in vitro*. Diferentemente das plantas herbáceas, na maioria das espécies lenhosas, o processo de rizogênese não foi ainda elucidado (ASSIS & TEIXEIRA, 1998).

Outro fator limitante à aplicação comercial da micropropagação é a baixa taxa de sobrevivência das mudas após o transplante, na fase de aclimação, devido às características próprias das raízes formadas nos meios solidificados com ágar (LEITE, 1995), não possuírem pêlos radiculares devidamente desenvolvidos, pela falta de oxigênio.

O uso de substratos inertes como a vermiculita, a perlita ou espumas de poliuretano, embebidos com meio nutritivo, podem ser alternativas eficientes e mais baratas do que o ágar. No meio de cultivo *in vitro*, tem sido indicado o uso da vermiculita pela propriedade de melhorar a aeração do substrato e favorecer o desenvolvimento das raízes adventícias (LEITE, 1995). As raízes desenvolvidas em vermiculita possuem estrutura semelhante às raízes de

¹ Eng^a Agr^a Doutoranda em Agronomia, Área de Concentração Fruticultura de Clima Temperado/UFPel. C. P. 354, 96010-900. Pelotas-RS. E mail: casiane@ufpel.tche.br

² Eng. Agr. M.Sc., Bolsista CNPq/DTI – Embrapa transferência de Tecnologia de Passo Fundo. Rua Santana, 3390/303, Centro, 97510-470, Uruguaiana/RS eradmann@hotmail.com

³ Eng. Agr. Dr. Bolsista CNPq recém-doutor. rcale@ufpel.tche.br

⁴ Eng. Agr. Dr. Pesq. Embrapa Clima Temperado. gerson@cpact.embrapa.br

⁵ Eng. Agr. Dr. Prof. Titular - Departamento de Fitotecnia /FAEM/UFPel. jfachin@ufpel.tche.br

(Recebido para Publicação em 21/08/2003, Aprovado em 30/03/2004)

plantas obtidas através de sementes, como pêlos absorventes, córtex mais compacto e espaços intercelulares menores (SIMÕES, 1988).

Com base nestas informações, realizou-se o presente trabalho com o objetivo de estudar o efeito da substituição do ágar pela vermiculita, bem como a interação dos mesmos, no meio de enraizamento *in vitro* dos porta-enxertos Marianna comum e Mr.S 2/5.

MATERIAL E MÉTODOS

No trabalho, conduzido no Laboratório de Cultura de Tecidos da Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS, Brasil, foram utilizados explantes de brotações terminais, com aproximadamente 1,0cm de comprimento, com 6-8 folhas, oriundos da multiplicação *in vitro*, de duas ameixeiras utilizadas como porta-enxertos de *Prunus* sp.; a) 'Mr.S 2/5', clone obtido de polinização aberta do porta-enxerto Mirabolano (*Prunus cerasifera* Ehrh), b) 'Marianna comum'

híbrido obtido pelo cruzamento de *Prunus cerasifera* com *Prunus munsoniana*.

Como meio básico, foi utilizado o MS (MURASHIGE & SKOOG, 1962) (Tabela 1) com ¼ dos sais, vitaminas, 30 g L⁻¹ de sacarose e 100 mg L⁻¹ de mio-inositol, acrescido de 10 mg L⁻¹ de ácido ascórbico e 1,5 mg L⁻¹ de ácido indolbutírico (AIB), com pH ajustado para 5,8. Junto a este meio de cultura, foram adicionados os tratamentos, a) 40 ml de meio de cultura por frasco e 5,5 g L⁻¹ de agar; b) 30 ml de meio de cultura e 10 ml de vermiculita; e c) 30 ml de meio de cultura, 5,5 g L⁻¹ de ágar + 10 ml de vermiculita. A vermiculita utilizada foi a n° 2, de granulometria média. Distribuíram-se 30 ml de meio de cultura em cada frasco com capacidade para 250 ml, vedados com papel alumínio, sendo esterilizados, em autoclave à pressão de 1,5atm, na temperatura de 121°C por 20 minutos. Posteriormente, sob condições assépticas, ou seja, em câmara de fluxo laminar os explantes dos porta-enxertos foram inoculados nos diferentes tratamentos de enraizamento *in vitro*.

Tabela 1 - Composição do meio de cultura MS (Murashige & Skoog, 1962)

Solução estoque	Nutrientes	Concentração solução estoque	Concentração final	Concentração no meio de cultura
A	NH ₄ NO ₃	82,5g L ⁻¹	1,650g L ⁻¹	20ml L ⁻¹
B	KNO ₃	95,0g L ⁻¹	1,900g L ⁻¹	20ml L ⁻¹
C	MgSO ₄ .7H ₂ O	74,0g L ⁻¹	0,370g L ⁻¹	5,0ml L ⁻¹
	MnSO ₄ .H ₂ O	3,38g L ⁻¹	0,0017g L ⁻¹	
	ZnSO ₄ .7H ₂ O	1,72g L ⁻¹	0,0086g L ⁻¹	
	CuSO ₄ .5H ₂ O	5,00g L ⁻¹	0,025mg L ⁻¹	
D	CaCl ₂ . 2 H ₂ O	88,0g L ⁻¹	440,0mg L ⁻¹	5,0ml L ⁻¹
E	H ₃ BO ₃	1,24g L ⁻¹	6,200mg L ⁻¹	5,0ml L ⁻¹
	KH ₂ PO ₄	34,0g L ⁻¹	170,0mg L ⁻¹	
	KI	0,16g L ⁻¹	0,830mg L ⁻¹	
	Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	0,05g L ⁻¹	0,250mg L ⁻¹	
	CaCl ₂ .6H ₂ O	0,005g L ⁻¹	0,025mg L ⁻¹	
F	Na ₂ EDTA	7,450g L ⁻¹	37,25mg L ⁻¹	5,0ml L ⁻¹
	FeSo ₄ .7H ₂ O	5,570g L ⁻¹	27,85 mg L ⁻¹	
G	Tiamina	0,050g L ⁻¹	0,500mg L ⁻¹	5,0ml L ⁻¹
	Piridoxina	0,050g L ⁻¹	0,500mg L ⁻¹	
	Ácido nicotínico	0,050g L ⁻¹	0,500mg L ⁻¹	
	Glicina	0,200g L ⁻¹	2,000mg L ⁻¹	

Após a inoculação dos explantes, os frascos foram transferidos para câmara de crescimento, com fotoperíodo de 16 horas, densidade de fluxo luminoso de 31,43 w m⁻² e temperatura de 25±3°C por um período de 30 dias.

O delineamento experimental adotado foi o de blocos ao acaso, em esquema fatorial (2x3), com cinco repetições, sendo cada repetição composta por cinco explantes. Os fatores testados foram: as cultivares: 'Mr.S 2/5' e 'Marianna comum' e os meios de cultivo: ágar, vermiculita e ágar + vermiculita, perfazendo um total de seis tratamentos.

Foram analisados os seguintes parâmetros: percentagem de brotações enraizadas; número de raízes por explante, comprimento de raiz e aspecto geral das raízes (presença de raízes secundárias e pêlos radiculares).

Após o enraizamento *in vitro*, as plantas foram transplantadas para casa de vegetação, onde foram aclimatizadas em bandejas de isopor, contendo substrato comercial 'plantmax'. Antes da transferência das plantas, retirou-se o meio de cultura aderido às raízes, lavando-as sob

água corrente. Com 30 a 40 dias de aclimatização, avaliou-se a percentagem de sobrevivência das plantas.

A análise estatística foi realizada utilizando-se o Sistema de Análise Estatística para Microcomputadores - SANEST (ZONTA & MACHADO, 1984). A variável percentagem de enraizamento e de sobrevivência, foi transformada segundo arco seno $\sqrt{x/100}$ e o número de raízes por explante segundo $\sqrt{(x + 0,5)}$. Os resultados foram submetidos à análise de variância, sendo utilizados a comparação de médias pelo Teste de Duncan ao nível de 5% de significância.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com a análise estatística, quanto a percentagem de enraizamento das brotações, apenas houve diferença significativa para o fator meio de cultivo. No meio de cultivo composto por vermiculita + ágar, ocorreu maior percentagem de explantes enraizados (99,78%) (Tabela 2).

Tabela 2 - Percentagem média de enraizamento de brotações e número médio de raízes por brotação de porta-enxertos de *Prunus* sp., em diferentes meios de cultivo *in vitro*. Embrapa - Pelotas, 2002.

Meio de cultivo	Enraizamento (%)	Número médio de raízes por explante
Ágar + Vermiculita	99,78 a ¹	3,33 b
Vermiculita	92,26 b	4,94 a
Ágar	60,42 c	2,56 c

¹Médias seguidas por letras distintas diferem entre si pelo Teste de Duncan, ao nível de significância de 5%.

Quanto ao número de raízes por explante, houve diferença significativa para o fator meio e para o fator cultivar, mas não houve significância da interação entre os dois fatores. No meio contendo apenas vermiculita verificou-se maior número de raízes por explante (4,94), diferindo estatisticamente dos demais (Tabela 2). Dentre as cultivares testadas, a 'Marianna comum' apresentou melhor resposta, com 4,05 raízes/explante comparativamente a cultivar 'Mr.S 2/5' (2,70 raízes/explante) (Tabela 3).

Tabela 3 - Número médio de raízes por brotação enraizada de dois porta-enxertos de *Prunus* sp. mantidos em diferentes meios de cultivo *in vitro*. Embrapa - Pelotas, 2002.

Porta-enxerto	Número de raízes
'Marianna comum'	4,05 a ¹
'Mr.S 2/5'	2,70 b

¹Médias seguidas por letras distintas diferem entre si pelo Teste de Duncan, ao nível de significância de 5%.

Para o comprimento de raiz, houve interação entre os fatores, meio de cultivo e cultivar. Na comparação entre os meios de cultivo, o porta-enxerto 'Mr.S 2/5' respondeu melhor quando os explantes foram cultivados em meio composto por ágar, alcançando em média 2,46 cm. No entanto, para o porta-enxerto 'Marianna comum', a composição do meio não afetou o comprimento das raízes. Comparando-se os porta-enxertos, no cultivo *in vitro* com ágar, explantes de 'Mr.S 2/5' apresentaram maior comprimento do sistema radicular. Entretanto, para os demais meios de cultivo (ágar + vermiculita e vermiculita), não houve diferença significativa entre os porta-enxertos (Tabela 4).

Tabela 4 - Comprimento de raízes por broto enraizado de dois porta-enxertos de *Prunus* sp. mantidos em diferentes meios de cultivo *in vitro*. Embrapa - Pelotas, 2002.

Meio de cultivo	Porta-enxerto	
	'Mr.S 2/5'	'Marianna comum'
Ágar	2,46 a ¹ A ²	1,32 a B
Ágar + Vermiculita	1,50 b A	1,06 a A
Vermiculita	1,07 b A	1,52 a A

¹Médias seguidas por letras minúsculas distintas na vertical, e maiúsculas distintas na horizontal, diferem entre si para pelo Teste de Duncan, ao nível de significância de 5%.

Para a percentagem de sobrevivência de plantas na fase de aclimatização, dos porta-enxertos 'Mr.S 2/5' e 'Marianna comum', não foi realizada análise estatística em função dos dados obtidos (muita variação entre os tratamentos), sendo esta variável mensurada através da coleta das médias dos tratamentos. De acordo com os resultados

obtidos nesta fase, observa-se que as maiores taxas de sobrevivência, ocorreram com as plantas oriundas dos meios compostos por ágar + vermiculita, para o porta-enxerto 'Mr.S 2/5' e dos meios ágar + vermiculita e vermiculita para 'Marianna comum' (Tabela 5).

Tabela 5 - Percentagem de sobrevivência de plantas de dois porta-enxertos de *Prunus* sp., após 30-40 dias de aclimatização em substrato comercial 'Plantmax'. Embrapa - Pelotas, 2002.

Meio de cultivo	Enraizamento dos porta-enxertos (%)	
	'Mr.S 2/5'	'Marianna comum'
Ágar	07,69	00,00
Ágar + Vermiculita	57,14	100,00
Vermiculita	09,09	75,00

Pelo bom desempenho das brotações nos diferentes meios de enraizamento, quanto a percentagem de brotos enraizados, número de raízes por explante e comprimento de raízes, considera-se que é possível substituir o ágar pela vermiculita, com ganhos importantes na qualidade das raízes. A concentração de ágar, pode influenciar no cultivo *in vitro*, pois de acordo com LANE (1979), brotações de *Prunus cistena* Ehrh não enraizaram bem quando o ágar estava presente no meio de cultura. HAMMENCHLAG (1982), também observou comportamento semelhante em pessegueiros, verificando maior taxa de multiplicação na ausência de ágar. Em contrapartida, ZECCA (1995), testando três tipos de suportes físicos (ágar, vermiculita e líquido utilizando ponte de papel), não observou diferenças significativas no percentual de enraizamento nas cultivares de marmeleiro Champion, BA-29 e macieira. Já na cv. Smyrna, de marmeleiro, o meio com ágar foi significativamente superior. Estes dados mostram uma influência do ágar nos meios de cultivo, podendo ser tóxico para algumas espécies, principalmente quando apresenta baixo grau de pureza (CALDAS et al. 1990).

Outro aspecto relevante, segundo DAMIANO & PALOMBI (2000), é que o meio líquido permite a obtenção de explantes mais uniformes, com a multiplicação mais rápida e uma sincronia na divisão celular, porque a formação de gradiente hormonal e nutricional é reduzida. Entretanto, o meio líquido favorece a ocorrência de vitrificação dos brotos, requerendo portanto, a utilização de um suporte sólido. Sendo assim, substratos inertes como a vermiculita, a perlita ou espumas de poliuretano utilizados para arranjos florais, embebidos com meio líquido, podem ser alternativas mais econômicas comparativamente ao ágar (GRATTAPAGLIA & MACHADO, 1998). De acordo estão ZIMMERMAN & BROOME (1979), utilizando a mistura de vermiculita, perlita e areia no enraizamento de diversas variedades de macieira, obtiveram também, resultados superiores ao ágar.

As raízes crescidas em vermiculita emitiram pêlos absorventes em toda sua extensão, mas o mesmo não foi verificado em meio com ágar, nas quais o comprimento médio foi maior. HOFFMANN et al. (2001), também constataram a formação de raízes mais curtas e com maior densidade de pêlos radiculares em macieira, nos meios com vermiculita e em 'Plantmax'. A presença de pêlos radiculares, favoreceu o percentual de sobrevivência de plantas na fase de aclimatização em casa de vegetação.

Pela análise conjunta dos resultados, o porta-enxerto 'Marianna comum' é superior ao 'Mr.S 2/5'. Esta diferença pode estar relacionada a diversidade genética que existe entre as espécies e até mesmo entre as cultivares (LORETTI &

PIASANI, 1982). Sendo assim, a quantidade de auxina colocada no meio de cultivo, foi adequada para o porta-enxerto 'Marianna comum'. Provavelmente, para o 'Mr.S 2/5', necessita-se elevar a quantidade de auxina, para aumentar o enraizamento, ou diminuir sua concentração, pois esta quantidade pode estar sendo tóxica. Segundo SALISBURY (1991), cada espécie requer um nível de auxina endógena, o qual pode ser suficiente para estimular o enraizamento. Neste caso, as partes aéreas em rápido crescimento são fontes de intensa produção de auxina, o qual é translocado para a base, estimulando a rizogênese. De acordo com RODRIGUES et al. (2003), também em trabalho com as cultivares 'Marianna comum' apresentou maior número de segmentos nodais na fase de estabelecimento *in vitro*, mas, a maior taxa de multiplicação foi obtida com o 'Mr.S 2/5'. Segundo ANTONELLI & CHIAROTTI (1988), no enraizamento *in vitro* de pessegueiro existe uma forte resposta do genótipo ao meio, devido a diferentes exigências nos níveis hormonais.

A aclimatização das plantas foi bem sucedida, quando oriundas dos meios compostos por ágar mais vermiculita e vermiculita, obtendo altas taxas de sobrevivência, principalmente com relação ao porta-enxerto 'Marianna comum'. Esta ocorrência, provavelmente está relacionada com a boa qualidade da parte aérea e do sistema radicular, formado durante o enraizamento *in vitro*. Pois, segundo GRATTAPAGLIA & MACHADO (1998) o sucesso desta etapa depende da qualidade das plantas provenientes da fase anterior. Um fator importante que contribuiu para a maior porcentagem de sobrevivência de plantas provenientes de meios com vermiculita, foi o desenvolvimento de pêlos absorventes nas raízes. Em contrapartida, o mesmo não ocorreu com as plantas oriundas dos meios compostos com ágar, obtendo desta forma, baixas taxas de aclimatização. Estes resultados estão de acordo com LEITE (1995), o qual cita que a baixa taxa de sobrevivência deve-se em parte, pela pouca formação de pêlos absorventes na raízes, de mudas enraizadas em meios solidificados com ágar, devido a falta de oxigênio, comprometendo desta forma a fase de aclimatização.

De modo geral, plantas de 'Marianna comum' apresentaram melhores respostas comparativamente ao 'Mr.S 2/5', isto pode ser explicado pelo maior número de raízes formadas durante o enraizamento *in vitro*, o qual foi superior em aproximadamente 70%.

Algumas plantas oriundas do enraizamento *in vitro* mesmo estando bem enraizadas, inclusive com raízes ramificadas, não sobreviveram, quando transplantadas para condições *ex vitro*. Provavelmente, isso deve-se ao longo comprimento das raízes na ocasião do transplante. Este fato explica em parte, a baixíssima ou não sobrevivência de plantas oriundas de meios com ágar, as quais emitiram as raízes mais longas. Raízes mais curtas ou na forma de primórdios radiculares aceleram o pegamento da planta, e evita o envelhecimento. Além disso, estas são mais desejáveis, pois facilitam a lavagem e retirada do meio de cultura aderido, bem como a introdução da planta no substrato. Isso pode explicar em parte o pegamento daquelas plantas que não tinham suas raízes visíveis durante o cultivo *in vitro* (ASSIS & TEIXEIRA, 1998). Mesmo plantas com aspecto normal, podem sofrer e/ou não sobreviver nesta fase, em função do estresse pelo qual as plantas sofrem, por causa da súbita mudança de umidade relativa, que ocorre na passagem das condições *in vitro* para *ex vitro*. Outros fatores limitantes nesta fase, ocorrem em função das plantas nas condições *ex vitro* passarem para um estado autotrófico, necessitando fazer

fotossíntese para sobreviver, precisam rapidamente incrementar a absorção de sais e estão sujeitas ao ataque de microorganismos. Plantas que não sobreviveram, já na primeira semana, apresentaram sinais de debilidade, ou seja, murchamento inicial, com posterior escurecimento da parte aérea e morte da planta.

CONCLUSÕES

Nas condições em que foi realizado este trabalho, pode-se concluir que:

- 1 - A vermiculita substitui com vantagens o ágar como substrato, no enraizamento *in vitro* dos porta-enxertos de 'Mr.S 2/5' e 'Marianna comum';
- 2 - 'Marianna comum' tem maior facilidade de enraizamento e de sobrevivência na aclimatização.

ABSTRACT

The peach crop plays an important role in the Brazilian fruit growing, and the use of healthy plants are important for the orchard success. The micropropagation is an alternative technique for the production of high quality cuttings. The purpose of this study was to test the some combinations of different culture media (agar 5.5 g/L, vermiculite 10 mL/flask and agar 5.5 g/L + vermiculite 10 mL/flask for in vitro rooting of Prunus sp. rootstock (Mr.S 2/5 and Marianna Comum). Terminal shoots with approximately 1.0cm length and with 6-8 leaves derived from in vitro multiplication. Were used as nutrient medium with 3/4 of its salt concentration and vitamins, sucrose (30g/L), myo-inositol (100 mg/L), ascorbic acid (10 mg/L), indolbutyric acid (1.5 mg/L). After inoculation the flasks were transferred to a growth room under 16-hour photoperiod, temperature at 25+/- 3°C and 31,41W/m² radiation for a period of 30 days. The plantlets were then acclimatized in a glasshouse in trays filled with commercial substrate (plantmax). The evaluation took into consideration the rooting percentage, root length and general aspect of roots and percentage of survival in the acclimatized plantlets. The treatment agar + vermiculite led to higher rooting percentage (99.78%). The treatments vermiculite and agar + vermiculite showed higher root numbers (4.94 and 3.33), respectively. Both rootstocks presented longer roots when treated with agar (2.46 cm and 1.32 cm), respectively. Rooted plantlets in agar + vermiculite alone presented the highest rates for acclimatization.

Key words: Micropropagation, agar, vermiculite.

REFERÊNCIAS

- ANTONELLI, M.; CHIAROTTI, A. *In vitro* rooting of different peach genotypes. **Acta horticulturae**. v.227, p.414-417. 1988.
- ASSIS, T.F. de; TEIXEIRA, S.L. Enraizamento de plantas lenhosas. In: TORRES, A.C.; CALDAS, L.S.; BUSO, J.A. **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: Embrapa-SPI/Embrapa-CNPq, 1998. p. 261-296.
- CALDAS, L.S.; HARIDASAN,P.; FERREIRA, M.E. Meios nutritivos. In: TORRES, A.C. & CALDAS, L.S. **Técnicas e aplicações da cultura de tecidos de plantas**. Brasília, ABCTP/EMBRAPA-CNPq, P.37-70, 1990.
- DAMIANO, C., PALOMBI, M. A., La micropropagazione 20 anni dopo: innovazioni tecniche e ottimizzazione dei protocolli delle colture *in vitro*. **Rivista de Frutticoltura**, Bologna - Itália, n. 2, 2000. p. 48 – 55.
- GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A.C.; CALDAS, L.S.; BUSO, J.A. **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: Embrapa-SPI/ Embrapa-CNPq, p.183-260, 1998.

- HAMMERSCHLAG, F. Factors influencing *in vitro* multiplication and rooting of the plum rootstock myrabolan *Prunus cerasifera* Ehrh. **Journal of the Plant Science**, Alexandria v.107, n. 1, 1982. p. 44-47.
- HARTMANN, H.T.; KESTER, D.E.; DAVIES, Jr. F.T. et al. **Plant propagation: principle and practices**. 6. Ed. Singapore: Prentice-Hall, 1997. 770p.
- HOFFMANN, A.; PASQUAL, M.; CHALFUN, N. N. J. et al. Substratos na indução e desenvolvimento *in vitro* de raízes em dois porta-enxertos de macieira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 36, n.11, 2001. p. 1371- 1379.
- LANE, W.D. *In vitro* propagation of *Spirea bumalba* and *Prunus cistena* from shoot apices. **Canadian Journal of the Plant Science**, Toronto, v. 59, 1979. p.1025-1029.
- LEITE, G. B., **Efeito de reguladores de crescimento, substratos, sacarose e intensidade luminosa na micropropagação de pereira (*Pyrus communis*, L.) cv. Bartlett e do clone OH x F97**. Pelotas, 1995, 50 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia – Fruticultura de Clima Temperado) – Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, UFPel.
- LORETTI, F.; MASSAI, R.: Il contributo dell'Università di Pisa al miglioramento genético dei portinnesti. **Rivista di Frutticoltura**, Pisa – Itália, n° 4, p. 9-13, 1998.
- LORETTI, F.; PIASANI, P.L. Physiological and technical factors affecting rooting in woody species. **International Horticulturae**, v.1, 1982. p.294-309.
- MURASHIGE, T., SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissues cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.15, n.3, p.473-497, 1962.
- RODRIGUES, A. C.; SILVEIRA, C.A.P.; FORTES, G.R.de L. et al. Estabelecimento e multiplicação *in vitro* de *Prunus* sp em diferentes meios de cultivo. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal-SP, v.25, n.1, p.131-133, 2003.
- MURASHIGE, T., SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissues cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.15, n.3, p.473-497, 1962.
- SALISBURY, F.B., ROOS, C.W. **Plant physiology**. Wadsworth; Califórnia, 1991, cap.17, p.357-378.
- SILVEIRA, C. A. P., **Multiplicação *in vitro* de porta-enxertos do gênero *Prunus* sp**. Pelotas, 2000, 65 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel - UFPel.
- SIMÕES, M. O. M. **Ontogênese de gemas e raízes adventícias de *Citrus sinensis* (Linn.) Osbeck cv. Pêra cultivadas *in vitro***. Viçosa, 2000, 56 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Faculdade de Agronomia – Universidade Federal de Viçosa.
- ZECCA, A. G. D. **Micro-enxerto, enxertia de calo e enxertia de micro-estaca sobre calo, 'in vitro', como método de determinação de incompatibilidade da Pereira (*Pyrus* spp.) sobre marmeleiro (*Cydonia oblonga*)**. Pelotas, 1995, 110 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia – Fruticultura de Clima Temperado) – Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, UFPel.
- ZIMMERMAN, R.H.; BROOME, O.C. *In vitro* propagation of apple cultivars. **HortScience**, v.14, p.478, 1979.
- ZONTA, E.P., MACHADO, A.A. **SANEST - Sistema de Análises estatística para microcomputadores**, registrado na secretaria especial de informática sob o n° 066060-categoria A Pelotas: UFPel, 1984.