

ENRAIZAMENTO *IN VITRO* E ACLIMATIZAÇÃO DE MUDAS DE MARMELEIRO CVS. MC E ADAMS, UTILIZADAS COMO PORTA-ENXERTO PARA A PEREIRA

IN VITRO ROOTING AND ACCLIMATIZATION OF QUINCE SCIONS CVS. MC AND ADAMS, USED AS ROOTSTOCK FOR PEAR

Alan Cristiano ERIG¹
Márcia Wulff SCHUCH²
Anderson da Costa CHAVES³

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi determinar a concentração dos sais e de sacarose do meio de cultura que favoreçam o enraizamento *in vitro* de marmeleiro cvs. MC e Adams, e o substrato que possibilite a maior sobrevivência das mudas na aclimatização. No Experimento 1 foram estudadas a concentração dos sais do meio de cultura MS (50, 75 e 100% da concentração original) e a concentração de sacarose no meio (0, 15, 30 e 45 g.L⁻¹), no delineamento experimental inteiramente casualizado, em esquema fatorial 3 x 4. Aos 35 dias avaliou-se a percentagem de enraizamento, o número e o comprimento médio de raízes e a intensidade de formação de calo na base dos explantes. No Experimento 2, estudou-se o tipo de substrato (substrato Plantmax, Plantmax + vermiculita [mistura 1:1] e Plantmax + vermiculita + solo [mistura 1:1:1]), no delineamento experimental blocos ao acaso. Neste experimento avaliou-se a percentagem de sobrevivência aos 10, 20 e 30 dias de aclimatização, expondo as mudas gradualmente as condições ambientais. O enraizamento *in vitro* das cvs. MC e Adams foi favorecido com a redução dos sais do meio MS a 75% de sua concentração original, e com 15 g.L⁻¹ de sacarose no meio de cultura. Apesar de nenhum dos substratos ter sido previamente esterilizado, apenas o substrato que continha solo na mistura apresentou total morte das mudas já aos dez dias de aclimatização, causada por podridão no colo da planta. O substrato Plantmax e a mistura Plantmax + vermiculita possibilitaram a maior sobrevivência das mudas na aclimatização.

Palavras-chave: micropropagação, sais, sacarose, substratos, *Cydonia oblonga*.

ABSTRACT

The objective of this work was to determine salts and sucrose concentration of the culture medium that favor the *in vitro* rooting of quince cvs. MC and Adams, and the substrate that it makes possible the largest survival of the scions in acclimatization. In the Experiment 1 they were studied the salts concentration of the MS culture medium (50, 75 and 100% of the original concentration) and the sucrose concentration in the medium (0, 15, 30 and 45 g.L⁻¹), in the completely randomized experimental design, in factorial outline 3 x 4. To the 35 days were evaluated the rooting percentage, the number and the length of roots and the intensity of callus formation in the basis of the explants. In the Experiment 2, it was studied the substrate type (substrate Plantmax, Plantmax + vermiculite [mixture 1:1] and Plantmax + vermiculite + soil [mixture 1:1:1]), in the blocks at random experimental design. In this experiment the survival percentage was evaluated to the 10, 20 and 30 days of acclimatization, exposing the scions gradually the environmental conditions. The *in vitro* rooting of the cvs. MC and Adams was favored with the reduction of the salts of the MS medium to 75% of it original concentration, and with 15 g.L⁻¹ of sucrose in the culture medium. In spite of none of the substrate it was previously sterilized, just the substrate that contained soil in the mixture presented total death of the scions already to the ten days of acclimatization, caused by rotteness in the lap of the plant. The substrate Plantmax and the mixture Plantmax + vermiculite made possible the largest survival of the scions in the acclimatization.

Key-words: micropropagation, salts, sucrose, substrates, *Cydonia oblonga*.

¹Engenheiro Agrônomo, M.Sc., Doutorando do PPGA, área de concentração em Fruticultura de Clima Temperado, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel/Universidade Federal de Pelotas. Caixa Postal 354, CEP 96.010-900, Pelotas, RS. E-mail: acerig@ufpel.tche.br Bolsista CAPES. Autor para correspondência.

²Engenheira Agrônoma, Dra., Professora do Departamento de Fitotecnia, FAEM/UFPEL. Caixa Postal 354, CEP 96.010-900, Pelotas, RS. E-mail: marciaws@ufpel.tche.br

³Engenheiro Agrônomo, M.Sc., Doutorando do PPGA, área de concentração em Fruticultura de Clima Temperado, FAEM/UFPEL. Caixa Postal 354, CEP 96.010-900, Pelotas, RS. Bolsista CAPES.

INTRODUÇÃO

Na cultura da pereira, os porta-enxertos mais utilizados são o *Pyrus calleryana* e o *Pyrus betulaefolia* [7]. No entanto, estes têm proporcionado excessivo vigor à copa, dificultando o manejo das plantas. O uso do marmeleiro (*Cydonia oblonga* Mill.), como porta-enxerto para a pereira, é muito difundido nos principais países produtores de pêra, com bons índices produtivos [20]. Além disto, ele apresenta a vantagem de reduzir o tamanho da planta e induzir a frutificação precoce [17]. Os principais marmeleiros utilizados como porta-enxertos para a pereira são as cultivares MC, BA 29 [20] e a cultivar Adams [21].

Tendo em vista que a tendência da fruticultura moderna está voltada para os plantios adensados, que necessitam de um grande número de mudas por área, e ao uso de mudas certificadas, a micropropagação torna-se uma ferramenta extremamente interessante no setor de produção de mudas frutíferas. A etapa de enraizamento caracteriza-se pela formação de raízes adventícias nas partes aéreas provenientes da multiplicação, permitindo assim o posterior transplantio para condições *ex vitro* [9].

Durante o enraizamento, a fotossíntese realizada pelos explantes nas condições *in vitro* é relativamente baixa, e como a formação de raízes é um processo que requer energia, o fornecimento de carboidratos é quase sempre necessário [2]. Segundo Grattapaglia e Machado [9], geralmente a concentração de sacarose do meio de enraizamento é mantida nos mesmos níveis do meio de multiplicação, entre 20 e 30 g.L⁻¹. Leite *et al.*, [12] verificaram que a presença de sacarose foi importante no enraizamento *in vitro* do porta-enxerto de pereira OH x F97, e que apesar da redução da concentração de sacarose no meio de cultura de 30 g.L⁻¹ para 10 g.L⁻¹ não comprometer demasiadamente a percentagem de enraizamento, ela foi extremamente prejudicial à qualidade das raízes. Já no enraizamento do porta-enxerto de macieira M26, a redução da concentração de sacarose no meio de cultura para 10 g.L⁻¹ propiciou os melhores resultados [19].

Outro fator que tem merecido atenção no enraizamento *in vitro* é a concentração dos sais minerais do meio de cultura. O fornecimento de nutrientes no enraizamento é quase sempre necessário [2]. Vinterhalter e Neskovic [23] obtiveram o enraizamento de brotos de marmeleiro da cultivar MA, mantendo-os durante quatro dias em meio MS reduzido a 50% com 10 µM de AIB, e transferindo-os, em seguida, para novo meio sem AIB. No enraizamento *in vitro* dos clones de marmeleiro Ct.S.212 e Ct.S.214, Morini e Sciulti [14] utilizaram 100% da concentração dos sais do meio MS. Seleções de porta-enxertos de *Pyrus communis* não apresentaram diferença na percentagem de enraizamento com 50% ou 100% da concentração dos macronutrientes do meio MS [17]. Embora as variações nas concentrações das formulações básicas

sejam inúmeras, conforme a espécie e o sistema de enraizamento, para muitas espécies vegetais a formulação do meio MS satisfaz as necessidades [16], e diluições de um meio, um terço e um quarto dos sais de MS são freqüentemente utilizadas [9].

Com freqüência, um dos maiores obstáculos à aplicação prática dos métodos de cultura de tecidos na propagação de plantas é a dificuldade de transferir com sucesso as mudas das condições *in vitro* para o solo, devido à grande diferença entre as condições ambientais do laboratório, onde as mudas são produzidas, e o campo [10]. Estas novas condições devem ser passadas às plantas progressivamente, de forma que elas não sofram estresses que possam culminar em danos profundos ou mesmo na sua morte [18]. O sucesso da transferência de plantas micropropagadas para a casa de vegetação é essencial para um sistema de micropropagação bem sucedido [10].

O objetivo deste trabalho foi determinar a concentração dos sais e de sacarose do meio de cultura que favoreçam o enraizamento *in vitro* de marmeleiro cvs. MC e Adams, e o substrato que possibilite a maior sobrevivência das mudas na aclimatização.

METODOLOGIA

Este trabalho foi realizado no Laboratório de Micropropagação de Plantas Frutíferas e no telado, pertencentes ao Departamento de Fitotecnia, da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, da Universidade Federal de Pelotas, RS.

Experimento 1 – Enraizamento *in vitro*

Microestacas apicais com duas ou três folhas e 1,5 a 2 cm de comprimento, obtidas de brotações de marmeleiro cvs. MC e Adams cultivadas *in vitro*, em fase de multiplicação 40 dias após a repicagem, foram utilizadas como explantes.

Os fatores estudados foram a concentração dos sais do meio de cultura MS (50, 75 e 100% da concentração original) e a concentração de sacarose no meio de cultura (0, 15, 30 e 45 g.L⁻¹), no delineamento experimental inteiramente casualizado, em esquema fatorial 3 x 4, com quatro repetições por tratamento. Cada repetição se constituiu de um frasco com cinco explantes para a cv. MC, e de um frasco com quatro explantes para a cv. Adams.

Inicialmente, as microestacas foram cultivadas no escuro, à temperatura de 25 ± 2 °C, durante sete dias, em meio de cultura MS cuja concentração dos sais e de sacarose variou com o tratamento, acrescido de 100 mg.L⁻¹ de mio-inositol e 10 µM de AIB. Após este período, as microestacas foram transferidas para um novo meio de cultura, de mesma constituição, porém sem AIB, e mantidas em sala de crescimento com 16 horas de fotoperíodo, temperatura de 25 ± 2 °C e densidade de fluxo de fótons do período de luz de

42 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, fornecido por lâmpadas fluorescentes brancas-frias. O pH dos meios foi ajustado para 5,7 antes da inclusão do ágar na concentração de 6 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ e, posteriormente, autoclavados a 121 °C e 1,5 atm por 20 minutos. Foram utilizados frascos de 200 mL com 30 mL de meio de cultura.

Aos 35 dias após o início dos tratamentos

avaliou-se a percentagem de enraizamento, o número médio de raízes, o comprimento médio de raízes e a intensidade de formação de calo na base dos explantes. Para esta última variável, foram atribuídas notas de 0 a 3, sendo 0 = ausência, 1 = baixa, 2 = média e 3 = alta intensidade de calo, conforme padrão apresentado na Figura 1.

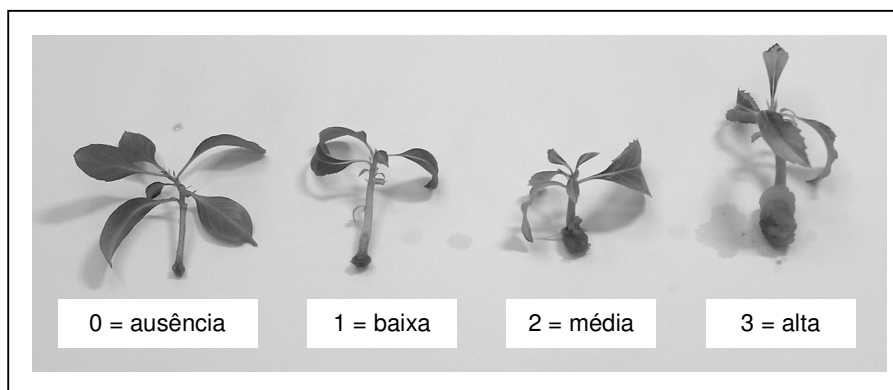


FIGURA 1 – Intensidades de formação de calo na base de brotos de marmeleiro cvs. MC e Adams, aos 35 dias de cultivo *in vitro*. UFPel, Pelotas, RS, 2004.

Experimento 2 – Aclimatização das mudas

Para o enraizamento *in vitro* das mudas de marmeleiro cvs. MC e Adams, que posteriormente foram aclimatizadas, utilizou-se no meio MS a concentração dos sais e de sacarose que propiciou os melhores resultados no Experimento 1 (75% da concentração original dos sais e 15 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ de sacarose). Com exceção da constituição do meio, no que diz respeito a estes dois componentes, o restante da metodologia utilizada para o enraizamento foi a mesma descrita no Experimento 1.

O fator estudado foi o substrato em três níveis (substrato Plantmax, Plantmax + vermiculita [mistura 1:1] e Plantmax + vermiculita + solo [mistura 1:1:1]), no delineamento experimental blocos ao acaso, com seis blocos, sendo cada repetição composta por uma garrafa com quatro plantas. Nenhum dos substratos utilizados foi previamente esterilizado.

Para a aclimatização das mudas foram usadas garrafas plásticas transparentes de refrigerante, de dois litros, com quatro pequenos furos na base para drenagem do excesso de água, e cortadas na metade de sua altura para colocação do substrato e transplante da muda, sendo em seguida, as mesmas novamente fechadas por sobreposição das metades (Figura 4a). Decorridos dez dias sob estas condições, retirou-se a cápsula (tampinha) da garrafa e as mesmas permaneceram assim durante mais dez dias (Figura 4b), quando a metade superior da garrafa foi retirada (Figura 4c) permanecendo as mesmas sob estas condições por mais dez dias, totalizando ao final, trinta dias de aclimatização. Esta exposição progressiva das plantas as condições ambientais teve o objetivo de reduzir o estresse causado a muda. Durante todo este período (trinta dias) as garrafas com as plantas foram

mantidas em telado com 30% de sombreamento e sob irrigação de microaspersão intermitente, de forma a manter a umidade relativa do ar elevada.

A percentagem de sobrevivência foi avaliada ao final de cada um destes períodos, isto é, aos dez dias de aclimatização (dez dias em garrafa fechada), aos vinte dias de aclimatização (dez dias em garrafa fechada + dez dias em garrafa sem a cápsula), e aos trinta dias de aclimatização (dez dias em garrafa fechada + dez dias em garrafa sem a cápsula + dez dias em garrafa sem a metade superior da mesma).

Os dados, de ambos os experimentos (Experimento 1 e 2), foram submetidos à análise de variância e as médias dos tratamentos comparadas estatisticamente pelo teste de Duncan e analisados por regressão polinomial, através do uso do pacote estatístico SANEST [24]. Os dados da percentagem de enraizamento e da percentagem de sobrevivência foram transformados em arco seno da raiz quadrada de $x/100$, e os dados do número médio de raízes segundo raiz quadrada de $x + 0,5$, onde x foi o número obtido. Os dados da intensidade de formação de calo foram transformados segundo $\log x + K$, sendo x a nota atribuída e $K = 1$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Experimento 1 – Enraizamento *in vitro*

Para nenhuma das variáveis analisadas foi verificada interação entre os fatores estudados (concentração dos sais e de sacarose do meio de cultura), porém, os mesmos mostraram efeito significativo quando analisados isoladamente. Na Figura 2 observa-se a aparência das raízes formadas.

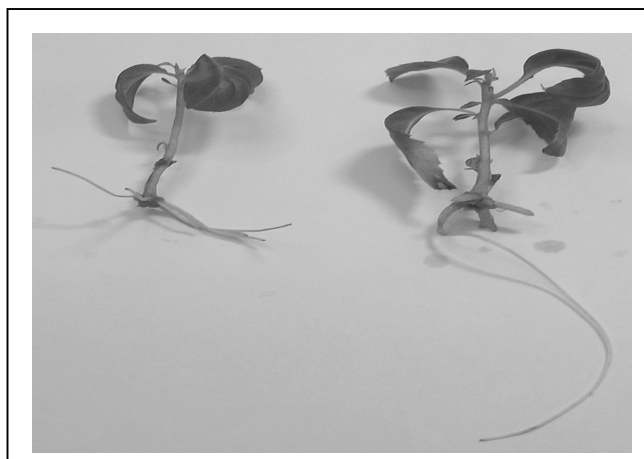


FIGURA 2 – Aparência das raízes de marmeleiro das cvs. MC e Adams aos 35 dias de cultivo *in vitro*. UFPel, Pelotas, RS, 2004.

Em relação aos sais do meio MS, o que se observou para as duas cultivares (MC e Adams), é que 75% de sua concentração original é suficiente para a obtenção da maior percentagem de enraizamento, número médio de raízes e comprimento médio de raízes (Tabela 1). Para a cv. MC, os sais na concentração de 100% promoveram os mesmos resultados, não se

justificando, portanto, a utilização desta concentração, até mesmo por termos econômicos, visto que a concentração de 75% é suficiente. A eficiência da composição mineral de MS reduzida a 75% também foi comprovada por Magalhães Júnior e Peters [13] no enraizamento *in vitro* de ameixeira cv. Santa Rosa, com 85,19% de enraizamento neste meio.

TABELA 1 – Percentagem de enraizamento, número médio de raízes e comprimento médio de raízes de microestacas de marmeleiro, cultivares (cvs.) MC e Adams, aos 35 dias de cultivo *in vitro*, em função da concentração dos sais do meio de cultura MS. UFPel, Pelotas, RS, 2004.

Concentração dos sais do meio de cultura MS (%)	% de enraizamento*		Número médio de raízes*		Comprimento médio de raízes (cm)*	
	MC	Adams	MC	Adams	MC	Adams
100	53,15a	20,88b	2,12a	0,64b	1,63a	1,18b
75	69,18a	50,57a	1,77a	1,65a	2,13a	2,16a
50	23,56b	32,92ab	0,67b	1,02ab	0,53b	0,50c
Média	44,04	35,84	1,40	1,26	1,43	1,28
CV (%)	42,58	43,93	25,38	28,13	64,44	66,69

* Médias não seguidas de mesma letra na coluna diferem pelo teste de Duncan em nível de 5% de probabilidade.

A utilização dos sais de MS na concentração normal (100%), ao contrário do observado para a cv. MC, desfavoreceu o enraizamento da cv. Adams. De acordo com Nicoloso *et al.*, [15], respostas distintas, que variam com a espécie e com a cultivar estudada, podem ser atribuídas a diferenças genéticas entre elas. Segundo Pasqual e Lopes, [16], o meio de cultura MS possui uma concentração de sais (macro e micronutrientes) considerada elevada, tornando-se, inclusive, prejudicial ao enraizamento de brotos em algumas espécies. Por isso, diluições das formulações básicas têm, às vezes, possibilitado melhor enraizamento [9]. A redução a 50% ou a 75% da concentração dos sais do meio também é relatada por Travers *et al.*, [22] para o melhoramento do

enraizamento *in vitro*.

Para todas as variáveis analisadas, a concentração de sacarose no meio de cultura teve um comportamento quadrático, exceto para o comprimento médio de raízes na cv. Adams, onde não se observou efeito significativo (Figura 3). As máximas percentagens de enraizamento para a cv. MC e Adams (73,6% e 50,7%, respectivamente) foram obtidas com 15 g.L⁻¹ de sacarose no meio de cultura (Figura 3a). Esta concentração de sacarose também favoreceu um maior número médio de raízes (3,23 e 2,11 raízes para a cv. MC e Adams, respectivamente) (Figura 3b) e um maior comprimento médio de raízes da cv. MC (2,34 cm) (Figura 3c).

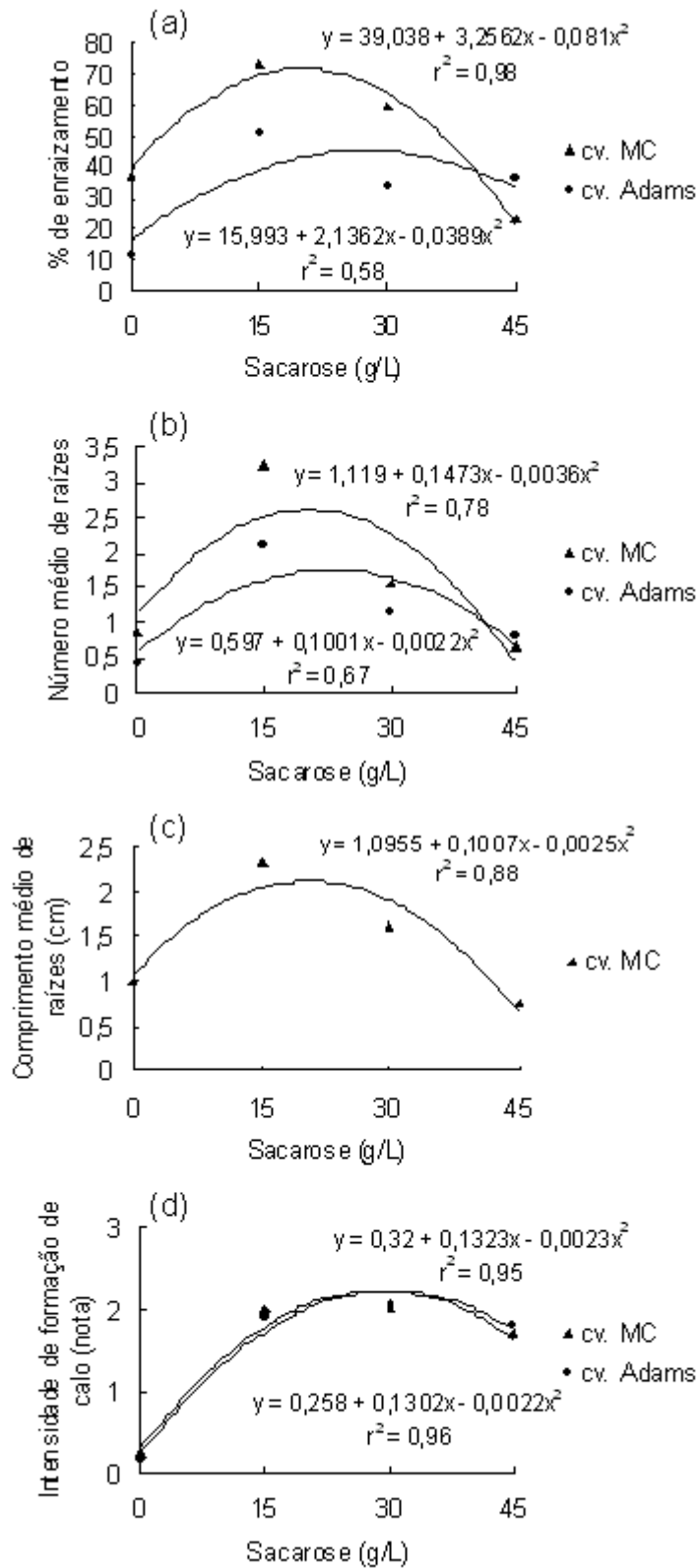


FIGURA 3 – Percentagem de enraizamento (a), número médio de raízes (b), comprimento médio de raízes (c), e intensidade de formação de calo (d) de microestacas de marmeleiro cultivares MC e Adams, aos 35 dias de cultivo *in vitro*, em função da concentração de sacarose no meio de cultura. UFPel, Pelotas, RS, 2004.

Para a formação de raízes *in vitro*, segundo George [8], há necessidade de energia e carboidratos, sendo estes fornecidos através da fotossíntese (em condições autotróficas) ou oriunda de uma fonte exógena de açúcar (em sistema heterotrófico ou mixotrófico). Como no tratamento sem sacarose também houve enraizamento (37,7% e 12,2% para as cvs. MC e Adams, respectivamente), estes resultados sugerem que as condições encontradas no frasco de cultivo e na sala de crescimento promoveram a fotossíntese, isto é, a produção de energia e de carboidratos para a formação de raízes. No entanto, esta fotossíntese não é suficiente para sustentar elevadas percentagens de enraizamento, sendo necessária a adição de sacarose para o aumento da formação de raízes. Este acréscimo de sacarose, no entanto, não deve ocorrer indiscriminadamente, pois, observando-se as Figuras 3a, 3b e 3c verifica-se que os melhores resultados foram obtidos com 15 g.L⁻¹ de sacarose no meio de cultura, e concentrações superiores a 30 g.L⁻¹ tiveram efeito negativo sobre o enraizamento. Resultados semelhantes foram obtidos por Lane [11], onde concentrações de sacarose inferiores a 20 g.L⁻¹ e superiores a 50 g.L⁻¹ no meio de cultura, prejudicaram o enraizamento de macieira. De Paoli *et al.*, [5] também observaram que brotos de *Cydonia oblonga* (malus) enraizaram com dificuldade em meio de cultura sem sacarose, e que concentrações de 10 a 30 g.L⁻¹

propiciaram resultados similares.

A formação de calo nos explantes das cvs. MC e Adams foi mais intensa com 15, 30 e 45 g.L⁻¹ de sacarose, sendo praticamente nula (nota de 0,25 e 0,2 para cada cultivar, respectivamente) sem a adição de sacarose no meio de cultura (Figura 3d). Estes resultados vão ao encontro daqueles observados por De Fossard *et al.*, [4], onde altas concentrações de sacarose induziram a formação de calo na base dos explantes de *Eucalyptus ficifolia*. A formação de calo na zona de enraizamento é indesejável, pois ela pode afetar a qualidade das raízes, principalmente no que se refere à conexão vascular com a planta [6].

Experimento 2 – Aclimatização das mudas

Durante e ao final da aclimatização das mudas enraizadas *in vitro*, os substratos Plantmax e a mistura Plantmax + vermiculita propiciaram a maior percentagem de sobrevivência (Tabela 2). Apesar de nenhum dos substratos ter sido previamente esterilizado, apenas o substrato composto pela mistura Plantmax + vermiculita + solo apresentou 100% de morte das mudas já aos dez dias de aclimatização. Segundo Fachinello *et al.*, [6], o substrato empregado na aclimatização pode influenciar as respostas das plantas através de suas características físicas, químicas e biológicas.

TABELA 2 – Percentagem de sobrevivência de mudas de marmeleiro cultivares MC e Adams enraizadas *in vitro*, aos 10, 20 e 30 dias de aclimatização, em função do substrato. UFPel, Pelotas, RS, 2004.

Substrato	% de sobrevivência aos dez dias de aclimatização (dez dias em garrafa fechada)*		% de sobrevivência aos vinte dias de aclimatização (dez dias em garrafa fechada + dez dias em garrafa sem a cápsula)*		% de sobrevivência aos trinta dias de aclimatização (dez dias em garrafa fechada + dez dias em garrafa sem a cápsula + dez dias em garrafa sem a metade superior da mesma)*	
	cv. MC	cv. Adams	cv. MC	cv. Adams	cv. MC	cv. Adams
Plantmax	100,00a	100,00a	99,22a	78,68a	78,68a	50,00a
Plantmax + vermiculita (1:1)	100,00a	93,24a	78,63a	85,30a	78,63a	85,30a
Plantmax + vermiculita + solo (1:1:1)	0,00b	0,00b	0,00b	0,00b	0,00b	0,00b
Média	59,97	54,98	49,18	43,37	41,70	37,53
CV (%)	0,19	26,31	38,35	42,61	49,75	68,79

* Médias não seguidas de mesma letra na coluna diferem pelo teste de Duncan em nível de 5% de probabilidade.

A morte das mudas aclimatizadas no substrato Plantmax + vermiculita + solo ocorreu devido à podridão no colo da planta, causada por fungos presentes no solo utilizado na mistura. Segundo Bebendo [3], os patógenos causadores de podridões de raiz e colo podem atacar plantas desde seu estágio inicial de desenvolvimento até o estágio adulto. As plantas jovens, de modo geral, oferecem menor resistência ao ataque dos patógenos e podem morrer

rapidamente. Estes fungos são parasitas facultativos e sobrevivem em restos de cultura ou na matéria orgânica do solo. De acordo com Antunes *et al.*, 2002 [1], um bom substrato para produção de mudas não deve ter inóculo de microrganismos nocivos, vestígios de pragas, nematóides e propágulos de plantas daninhas. Dessa forma, segundo os mesmos autores, uma das maneiras de se obter substrato de qualidade é através da utilização, na formulação, de materiais

totalmente isentos de organismos prejudiciais, ou proceder a desinfestação dos constituintes deste.

Observa-se na Tabela 2, que conforme as condições do microambiente onde as mudas estavam sendo aclimatizadas se aproximavam das condições ambientais naturais, a percentagem de sobrevivência diminuiu. Aos trinta dias de aclimatização, após dez

dias em garrafa fechada + dez dias em garrafa sem a cápsula + dez dias em garrafa sem a metade superior da mesma (Figura 4), a percentagem de sobrevivência na cv. MC foi de 78,68% e 78,63%, respectivamente, para os substratos Plantmax e Plantmax + vermiculita, e na cv. Adams foi de 50% e 85,3% para cada substrato, respectivamente.

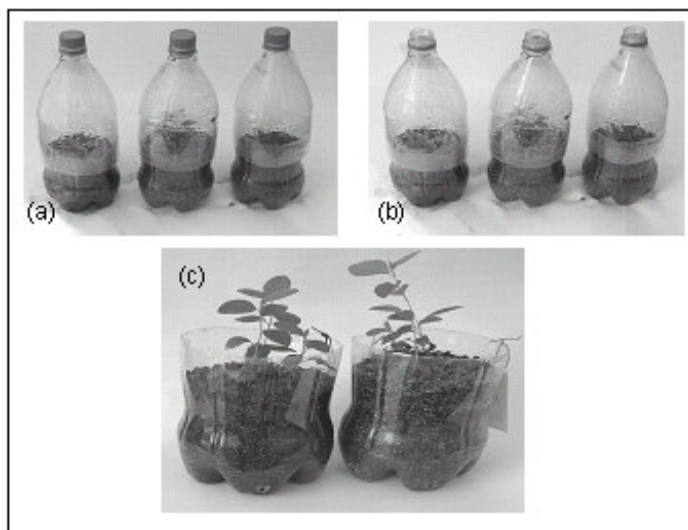


FIGURA 4 – Mudas de marmeleiro cultivares MC e Adams enraizadas *in vitro*, aos dez dias de aclimatização (dez dias em garrafa fechada) (a), aos vinte dias de aclimatização (dez dias em garrafa fechada + dez dias em garrafa sem a cápsula) (b), e aos trinta dias de aclimatização (dez dias em garrafa fechada + dez dias em garrafa sem a cápsula + dez dias em garrafa sem a metade superior da mesma) (c). UFPel, Pelotas, RS, 2004.

A utilização das garrafas como recipiente na aclimatização das mudas, mostrou-se como uma metodologia eficiente, propiciando boas percentagens de sobrevivência. Isto foi possível porque as garrafas possibilitam manter um microambiente, inicialmente, com alta umidade relativa do ar, que posteriormente, foi reduzida progressivamente. A perda excessiva de água pelas mudas produzidas *in vitro* é apontada como um dos principais fatores envolvidos na aclimatização [10], tendo em vista que a remoção das mudas das condições *in vitro* provoca um estresse crítico, sendo então necessário manter a umidade alta e a temperatura amena [18].

CONCLUSÕES

O enraizamento *in vitro* de marmeleiro cvs. MC e Adams é favorecido com a redução dos sais do meio MS a 75% de sua concentração original, e com 15 g.L⁻¹ de sacarose no meio de cultura.

O substrato Plantmax e a mistura Plantmax + vermiculita (1:1) possibilitam a maior sobrevivência das mudas na aclimatização às condições *ex vitro*.

REFERÊNCIAS

1. ANTUNES, L.E.C.; DUARTE FILHO, J.; BUENO, S.C.S.; MINAMI, K. Tratamento de substrato na produção de mudas de plantas frutíferas. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.23, n.216, p.16-20, 2002.
2. ASSIS, T.F.; 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. v.1, p.261-296.
3. BEBENDO, I.P. Podridões de raiz e colo. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. (eds.) **Manual de Fitopatologia**. Volume 1: Princípios e conceitos. 3.ed., São Paulo: Agronômica Ceres, 1995. p.829-837.
4. DE FOSSARD, R.A.; BENNETT, M.T.; GORST, J.R.; BOURNE, R.A. Tissue culture propagation of *Eucalyptus ficifolia* F. Muell. **Combined Proceedings of the International Plant Propagators Society**, v.28, p.427-435, 1978.
5. DE PAOLI, G.; SUBIRÁ, E.; BATTISTINI, A. *In vitro* rooting of Pyrodwarf and Cydomalus, two rootstocks for pear, under photoautotrophic conditions. **Acta Horticulturae**, The Hague, n.596, p.463-467, 2002.
6. FACHINELLO, J.C.; HOFFMANN, A.; NACHTIGAL, J.C.; KERSTEN, E.; FORTES, G.R.L. **Propagação de plantas frutíferas de clima temperado**. 2.ed., Pelotas: UFPel, 1995. 179p.

7. FAORO, I.D. Cultivares e porta-enxertos. In: EPAGRI. **Nashi, a pêra japonesa**. Florianópolis: Epagri/Jica, 2001. p.95-138.
8. GEORGE, E.F. **Plant propagation by tissue culture**. Part 2: In Practice. 2.ed., Edington: Exegetics, 1996. 1361p.
9. 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, 1998. v.1, p.183-260.
10. HOFFMANN, A. Aclimatização de mudas produzidas *in vitro* e *in vivo*. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.23, n.216, p.21-24, 2002.
11. LANE, W.D. Regeneration of woody plants from shoot meristem tips. **Plant Science Letters**, Amsterdam, v.13, p.281-285, 1978.
12. LEITE, G.B.; FINARDI, N.; FORTES, G.R.L. Efeitos de concentrações de sacarose no meio de cultura e da intensidade luminosa no enraizamento *in vitro* do porta-enxerto de pereira OH x F97. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.24, n.2, p.353-357, 2000.
13. MAGALHÃES JÚNIOR, A.M.; PETERS, J.A. Cultura *in vitro* de ameixeira: efeito do ácido indolbutírico, tipo de lâmpada e intensidade luminosa no enraizamento. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Brasília, v.3, n.1, p.57-61, 1991.
14. MORINI, S.; SCIULTI, R. *In vitro* propagation of quince clonal rootstocks. **Agricultura Mediterranea**, Pisa, v.121, n.1, p.56-57, 1991.
15. NICOLOSO, F.T.; ERIG, A.C.; MARTINS, C.F.; RUSSOWSKI, D. Micropropagação do Ginseng Brasileiro [*Pfafia glomerata* (Spreng.) Pedersen]. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v.3, n.2, p.11-18, 2001.
16. PASQUAL, M.; LOPES, P.A. Influência de diversos fatores sobre o enraizamento do porta-enxerto de pereira (*Pyrus calleryana*) *in vitro*. **Pesquisa agropecuária brasileira**, Brasília, v.26, n.3, p.331-334, 1991.
17. PREVIATI, A.; DA RE, F.; BASSI, D.; TAGLIAVINI, M.; MARANGONI, B. Development of protocols for *in vitro* rooting of advanced selections of *Pyrus communis* rootstocks. **Acta Horticulturae**, The Hague, n.596, p.485-486, 2002.
18. SILVA, A.T.; PASQUAL, M.; ISHIDA, J.S.; ANTUNES, L.E.C. Aclimatização de plantas provenientes da cultura *in vitro*. **Pesquisa agropecuária brasileira**, Brasília, v.30, n.1, p.49-53, 1995.
19. SIMMONDS, J. Direct rooting of micropropagated M26 apple rootstocks. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v.21, p.233-241, 1983.
20. SOUZA, C.M.; BIANCHI, V.J.; ALVARENGA, D.A. Produção e certificação de macieira e pereira. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.23, n.216, p.49-56, 2002.
21. TOMAGRO INTERNATIONAL B.V. **Tomagro International B.V. – your agricultural partner from Holland**. Disponível em: <<http://www.tomagro.nl/Clonal%20Rootstocks.htm>>. Acesso em 20 JAN 2003.
22. TRAVERS, J.N.; STARBUCK, C.J.; NATARELLA, N.J. Effects of culture medium on *in vitro* rooting of Antonovka 313 apple. **HortScience**, Alexandria, v.20, n.6, p.1051-1052, 1985.
23. VINTERHALTER, B.; NESKOVIC, M. Factors affecting *in vitro* propagation of quince (*Cydonia oblonga* Mill.). **Journal of Horticultural Science**, Ashford Kent, v.67, n.1, p.39-43, 1992.
24. ZONTA, E.P.; MACHADO, A.A. **SANEST – Sistema de análise estatística para microcomputadores**. Pelotas: DMEC/IFM/UFPel, 1987. 138p.

Recebido em 12/07/2004

Aceito em 28/01/2005