

ENRAIZAMENTO *EX VITRO* E ACLIMATIZAÇÃO DO PORTA-ENXERTO DE MACIEIRA M.9¹

ENIO LUIZ PEDROTTI², JOSÉ AFONSO VOLTOLINI³

RESUMO - A micropropagação pode ser utilizada para a produção deste porta-enxerto; no entanto, o enraizamento e a aclimatização são pontos de estrangulamento para o uso comercial desta tecnologia. O presente trabalho foi conduzido com o objetivo de avaliar diferentes níveis de ácido indolbutírico (AIB) no enraizamento *ex vitro* e aclimatização simultânea do porta-enxerto de macieira 'M.9'. As bases das miniestacas oriundas do processo de multiplicação *in vitro*, com 2,5 a 3 cm de altura e dois pares de folhas, foram imersas em AIB nas concentrações de 0; 500; 1000 e 1500 mg.L⁻¹, por 10 segundos. Após, foram transferidas para bandejas de isopor com células contendo 50mL do substrato casca de arroz carbonizada + vermiculita (1:1, v/v). As bandejas foram mantidas durante 30 dias em caixas plásticas cobertas com tampas de vidro para manter o ambiente com alta umidade. Os melhores resultados para a percentagem de enraizamento (82 e 84%) foram obtidos nos tratamentos com 500 e 1000 mg.L⁻¹, respectivamente. O comprimento das raízes não foi afetado pelos tratamentos aplicados, apresentando média de 4,2 cm. As concentrações maiores de AIB determinaram acréscimos lineares no número de raízes emitidas. Para avaliar a aclimatização, as plantas foram transferidas para casa de vegetação, em bandejas de isopor com alvéolos maiores, contendo o substrato Plantmax® (Eucatex, São Paulo, BR) durante 45 dias. Os maiores índices de sobrevivência das mudas após o transplante para embalagens comerciais (95%) foram obtidos com 500 mg.L⁻¹ de AIB; no entanto, as concentrações de AIB empregadas na indução à rizogênese não modificaram o número e comprimento das raízes, número de folhas e altura das plantas.

Termos para Indexação: *Malus pumila*, micropropagação, substrato, ácido indolbutírico

EX VITRO ROOTING AND ACCLIMATIZATION OF M.9 APPLE ROOTSTOCK

ABSTRACT - The M.9 rootstock is utilized in high-density apple orchards due to the low height of the plants, which facilitates care during cultivation and picking. Micropropagation can be utilized for its mass propagation, although rooting and acclimatization are impediments for the commercial use of this technology. This study was conducted in order to evaluate different levels of indolebutyric acid (IBA) in *ex vitro* rooting and simultaneous acclimatization of M.9 apple rootstock. The bases of the shoots resulting from the *in vitro* multiplication process, 2.5 to 3 cm in height and with two pairs of leaves, were immersed in concentrations of IBA of 0; 500; 1000 and 1500 mg.L⁻¹, for 10 seconds and placed in Styrofoam trays with cells containing 50 ml of substrate containing carbonized rice husks + vermiculite (1:1, v/v). For 30 days the trays were kept in plastic boxes covered with glass tops to keep the environmental humidity high. The higher percentages of rooting (82 and 84%) were obtained in the treatments with 500 and 1000 mg.L⁻¹, respectively. The length of the roots, with an average of 4.2 cm, was not affected by the treatments applied. After this evaluation, the plants were cultivated in a greenhouse for 45 days, in containers with the substrate Plantmax® (Eucatex, São Paulo, BR). The levels of IBA utilized in the rhizogenesis induction did not modify the number and the length of the roots or the number of leaves and the height of the plants although the highest survival of the plantlets after transplant to commercial packages (95%) was obtained with 500 mg.L⁻¹ of IBA.

Index terms: *Malus pumilla*, micropropagation, substrate, indolebutyric-acid

INTRODUÇÃO

O Estado de Santa Catarina produziu 480 mil toneladas de maçãs na safra 99/00, totalizando 60% da produção nacional (ICEPA, 2000). Os tratamentos culturais, o sistema de condução e a alta qualidade genética e fitossanitária das mudas utilizadas são fatores determinantes para o aumento da produtividade. Neste contexto, a alta densidade de plantio dos pomares exige porta-enxertos ananizantes e, conseqüentemente, grande quantidade de mudas por unidade de área. O porta-enxerto M.9 é o mais utilizados no Estado em pomares de alta densidade devido ao porte reduzido das plantas, o que facilita o manejo dos pomares.

A micropropagação de macieira é uma técnica empregada para a obtenção e produção massal de plantas livres de vírus. Entretanto, um dos pontos limitantes desta técnica são o enraizamento e a aclimatização das plantas micropropagadas (Sutter, 1988). Para Collet & Lê (1987) e Alvarez et al. (1989), a propagação clonal *in vitro* de espécies lenhosas é dificultada principalmente porque muitas delas não produzem raízes. O genótipo da planta determina diferentes respostas nos diferentes estágios da micropropagação (Harbage e Stimart, 1996) e/ou no enraizamento (Marks, 1991; Haissig et al., 1992). Essas respostas dependem da condição fisiológica dos explantes e das condições ambientais utilizadas.

¹ Trabalho nº 057/2000. Recebido: 20/04/2000. Aceito para publicação: 29/05/2001.

² Professor, Dr., Departamento de Fitotecnia - CCA/Universidade Federal de Santa Catarina/Brasil

Caixa Postal 476 - UFSC - CEP 88040- - FLORIANOPOLIS, SC. e-mail: pedrotti@cca.ufsc.br

³ Eng. Agr., MSc., Departamento de Fitotecnia - CCA/Universidade Federal de Santa Catarina/Brasil

O enraizamento é uma etapa realizada classicamente *in vitro* (Álvares et al., 1989; Harbage & Stimart, 1996; De Klerk et al., 1997), aumentando, contudo, os custos de produção (Ferri et al., 1998). Além disto, as raízes produzidas *in vitro* não sobrevivem após a transferência das plantas para o estágio de aclimatização (McClelland et al., 1990). Para a maioria das espécies, ao enraizamento, é necessária a presença de uma auxina no meio de cultura, na fase de indução (De Klerk et al., 1995). A quantidade a ser adicionada no meio de cultura depende das concentrações endógenas de auxinas do explante utilizado (James e Thurnbon, 1981; Blakesley et al., 1991).

Já o enraizamento *ex vitro* reduz o custo de produção das mudas (Debergh e Maene, 1981), podendo viabilizar, técnica e economicamente, o processo de micropropagação.

Para a sobrevivência das mudas no estágio de aclimatização, é necessário que estas produzam novas raízes em substratos porosos, com condições físicas e nutricionais adequadas. Simultaneamente, a planta deverá desenvolver mecanismos de controle de transpiração e condutância estomática (Díaz-Perez et al., 1995), ativar os mecanismos de controle de perda de água pelas células (Sutter, 1988) e aumentar a taxa fotossintética em condições de atmosfera mais rica em CO₂ (Vantelgen et al., 1992). A baixa luminosidade e alta umidade relativa nos frascos de cultura *in vitro* dificultam o estabelecimento de condições autotróficas normais para algumas espécies, quando transferidas para as condições *ex vitro*.

O objetivo deste trabalho foi quantificar as respostas ao enraizamento e a aclimatização de miniestacas do porta-enxerto de macieira M.9, em diferentes concentrações de ácido indolbutírico.

MATERIAL E MÉTODOS

Cultivo *in vitro*

Os meristemas foram retirados de plantas matrizes do porta-enxerto M.9 mantidas em casa de vegetação. Os meristemas foram introduzidos em meio MS (Murashige & Skoog, 1962), e as brotações produzidas foram repicadas para o meio MS com 1,1 μM de 6-benzilaminopurina (6-BAP), 100 mg.L⁻¹ de mio-inositol, 30g.L⁻¹ de sacarose e 6g.L⁻¹ de ágar. Para o estágio de micropropagação, foram empregados 50 mL de meio de cultura em frascos com capacidade de 300 mL, autoclavados durante 20 minutos a 121°C. Os frascos foram mantidos em câmara de crescimento com temperatura de 27±2°C, fotoperíodo de 16 horas com intensidade luminosa de 50 μmol.m⁻².s⁻¹.

Enraizamento e aclimatização

As miniestacas de 2,5 a 3 cm de comprimento, com dois pares de folhas, foram preparadas a partir de plantas micropropagadas repicadas *in vitro* a cada 45 dias. A indução ao enraizamento foi efetuada submergindo 10 mm da base das miniestacas durante 10 segundos, em diferentes concentrações de ácido indolbutírico (0; 500; 1000 ou 1500 mg.L⁻¹). Em seguida, as miniestacas foram transferidas para bandejas de isopor com células com capacidade de 50 mL do substrato, composto por casca de arroz carbonizada e vermiculita média 1:1 (v/v). As bandejas foram colocadas dentro de caixas plásticas com uma lâmina de água de 5 mm, para manter elevada a umidade

relativa do ar. As caixas foram cobertas com uma lâmina de vidro, conforme metodologia descrita por Pedrotti (1993). Durante 30 dias, essas caixas foram mantidas em câmara de aclimatização com temperatura de 27±2°C, fotoperíodo de 16 horas e intensidade luminosa de 75 μmol.m⁻².s⁻¹. Após esse período, as plantas foram avaliadas quanto ao percentual de enraizamento, número e comprimento das raízes.

Crescimento das mudas após a aclimatização

Após a avaliação do enraizamento, as plantas foram transferidas para bandejas de isopor alveoladas (Código 12-72) com células contendo 150 mL de substrato comercial Plantmax® (Eucatex, São Paulo, BR). As bandejas foram mantidas por 45 dias em casa de vegetação com temperatura de 25±4°C. A irrigação foi realizada por aspersão, sendo que a quantidade de água foi adicionada em função das perdas provocadas por evapotranspiração, medida em minitank Classe A.

Ao final desse período, as plantas foram avaliadas quanto ao percentual de sobrevivência, número, comprimento (cm) e peso da matéria seca das raízes (mg.planta⁻¹), bem como a altura de plantas (cm), número de folhas e peso da matéria seca da parte aérea (mg.planta⁻¹).

Para os dois experimentos, o delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com 4 repetições, com 11 miniestacas por repetição. Os resultados foram submetidos à análise de variância e regressão polinomial, sendo que os dados de percentagem foram transformados em $\text{arc. sen} \sqrt{x/100}$, conforme Sokal e Rohlf (1995). Para a comparação de médias, foi utilizado o teste de Duncan, a 5% de probabilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Enraizamento e aclimatização

As maiores percentagens de enraizamento (82 e 84%) foram observadas nas miniestacas tratadas com 500 e 1000 mg.L⁻¹ de AIB, respectivamente (Tabela 1). O menor percentual de enraizamento (30%) foi obtido com 1500 mg.L⁻¹ de AIB. As miniestacas que não receberam AIB, apresentaram enraizamento de 64%, porém significativamente inferior aos observados com AIB 500 ou 1000 mg.L⁻¹. As miniestacas-controle produziram em média 3,5 raízes, valores esses inferiores àqueles obtidos nas miniestacas que receberam AIB. Nos tratamentos com 500; 1000 e 1500 mg.L⁻¹ de AIB, o número de raízes emitidas variou de 6 a 8, não diferindo estatisticamente entre si. O comprimento das raízes variou de 3,5 a 4,7 cm, sem haver, no entanto, diferenças significativas entre as concentrações de AIB utilizadas.

As altas percentagens de enraizamento *ex vitro*, obtidas neste trabalho, evidenciam que a concentração de AIB recomendada para o enraizamento deste porta-enxerto está entre 500 e 1000 mg.L⁻¹. Concentrações superiores a 1000 mg.L⁻¹ parecem inibir a percentagem de enraizamento, indicando um possível efeito de fitotoxidez, como foi verificado por Nachtigal (1994). Os resultados obtidos foram superiores aos de James e Thurnbon (1981), que obtiveram 45% de enraizamento deste porta-enxerto, quando utilizaram fluroglucinol no meio de cultura. Possivelmente, as condições de indução *in vitro*, utilizadas por estes autores, dificultaram a absorção da auxina, como constatado por Harbage et al. (1998). Além disto, a

intensidade luminosa da câmara de crescimento pode ter contribuído para inativar parte da auxina contida no meio gelatinoso utilizado por James e Thurnbon (1981). A ausência de luz na base da miniestaca também deve ter favorecido a indução e o crescimento das raízes, pois Khosh-khui e Sink (1982) obtiveram aumento no enraizamento de roseiras quando submeteram a base das estacas a ausência de luz. Da mesma forma, para pereira (Wang, 1991) e macieira (Fortes e Leite, 1993; Zanol, 1996), foi evidenciado que a ausência de luz favoreceu a indução de raízes na base das estacas. Além da ausência de luz, a maior porosidade e aeração dos substratos utilizados podem ter favorecido a indução, a diferenciação e o crescimento de raízes, como foi observado por Jay-Allemand et al. (1992), trabalhando com indução ao enraizamento de miniestacas de *Juglans regia*.

No presente trabalho, o AIB em 1000 mg.L⁻¹ não aumentou a percentagem de enraizamento em relação a 500 mg.L⁻¹, enquanto, acima de 1000 mg.L⁻¹, esta foi reduzida a 30 % (Tabela 1). Estes resultados podem estar relacionados com os teores endógenos de auxinas que foram produzidas por gemas e folhas jovens, como sugerem Hartmann et al. (1997), pois mesmo sem aplicação de AIB na base das miniestacas, as percentagens de enraizamento do 'M.9' foram de 64 %, superiores aos obtidos por James e Thurnbon (1981). As condições experimentais podem ter determinado o padrão de divisão celular e do crescimento das raízes independentemente da concentração de AIB aplicada, pois as plantas não apresentaram diferenças no comprimento das raízes 30 dias após a indução. Concentrações de 1500 mg.L⁻¹ de AIB podem ter determinado um efeito fitotóxico no tecido da base das miniestacas, diminuindo drasticamente a percentagem de enraizamento (Tabela 1) e aumentando a mortalidade das plantas (Tabela 2).

A exposição das miniestacas às concentrações de 500 e 1000 mg.L⁻¹ de AIB por 10 segundos foi suficiente para a indução de primórdios radiculares e crescimento das raízes sem a formação de calos na base das miniestacas. Estes resultados sugerem que a desdiferenciação e a indução à divisão celular para a formação de um maior número de primórdios radiculares são dependentes da aplicação exógena desta auxina. Períodos maiores de exposição a concentrações elevadas de auxina podem ocasionar aumento da oxidação (James e Thurbon, 1981) e da atividade da peroxidase, reduzindo as concentrações endógenas de ácido indolilacético (Harbage et al., 1998). Isso pode explicar, em parte, a redução no enraizamento das miniestacas que receberam 1500 mg.L⁻¹ de AIB. Os resultados obtidos com o tempo de exposição ao AIB, por 10 segundos, parecem confirmar os resultados de Jarvis et al. (1983) que observaram um aumento na síntese de RNA, no período de 20 horas após a aplicação de auxina exógena, o que corresponde às primeiras divisões celulares. Desta forma, não são necessários longos períodos de exposição ao AIB, como foi utilizado por James e Thurbon (1981), e Harbage et al. (1998).

Os valores do comprimento das raízes formadas não diferiram estatisticamente entre si em função das concentrações de AIB utilizadas, possivelmente porque a auxina aplicada, atua mais sobre a indução ao enraizamento do que sobre o crescimento das raízes. Possivelmente, o crescimento depende de condições físicas e químicas do substrato utilizado e das substâncias de reserva que a planta utiliza para a divisão e alongação celular

das raízes.

Crescimento após a aclimatização

Após 45 dias da repicagem das plantas enraizadas e aclimatizadas para as bandejas alveoladas contendo 150 ml de substrato Plantmax[®], a sobrevivência das plantas variou de 70 a 95% (Tabela 2). Os outros parâmetros não foram influenciados pela concentração de AIB utilizada no enraizamento. Para este período de crescimento em casa de vegetação, o comprimento das raízes variou de 11,3 a 12,5 cm, mostrando grande uniformidade apesar das diferentes concentrações de auxina utilizadas na fase de indução. Este resultado pode indicar que este é o padrão de crescimento das raízes do porta-enxerto M.9 enraizado e aclimatizado segundo a metodologia utilizada neste trabalho. A mesma tendência foi observada na altura das plantas e no número de folhas emitidas após 45 dias de crescimento em casa de vegetação. Para este período de cultivo, não houve diferenças significativas em função das concentrações de AIB utilizadas na fase de indução ao enraizamento.

Com relação à matéria seca produzida pelas raízes e parte aérea das plantas, as curvas de regressão mostram um comportamento quadrático, atingindo os maiores valores quando as miniestacas receberam concentrações entre 500 e 1000 mg.L⁻¹ de AIB (Figura 1). A maior produção de matéria seca coincidiu com os tratamentos que apresentaram as maiores percentagens de enraizamento. No entanto, considerando os melhores resultados de enraizamento (82%) e a maior sobrevivência das plantas aos 45 dias após o transplante para a casa de vegetação (95%), a concentração de 500 mg.L⁻¹ foi a mais efetiva para este porta-enxerto.

Os dados obtidos mostram que a indução ao enraizamento realizado *ex vitro*, concomitante com a fase de aclimatização, pode ser favorável à produção do porta-enxerto M.9. A principal vantagem deste processo é a superação das limitações impostas pelo enraizamento *in vitro*, realizado por James e Thurnbon (1981), Harbage et al. (1998) e Ferri et al. (1998), pois as raízes produzidas *in vitro* não são funcionais após sua transferência para casa de vegetação (McClelland et al., 1990). Além disso, segundo Sutter (1988), quando transferidas para a aclimatização, as plantas enraizadas *in vitro* são submetidas a uma condição de alta transpiração que, associada à alta condutividade hídrica, provoca baixa funcionalidade ou ausência de controle sobre o fechamento dos estômatos. Esta condição provoca altas taxas de mortalidade, o que não foi observado no presente trabalho. O sistema utilizado neste trabalho permite um grande controle sobre as condições de umidade nos recipientes de aclimatização, diminuindo as perdas de água por evaporação e garantindo, com isto, altas percentagens de enraizamento, aclimatização e sobrevivência deste porta-enxerto após sua transferência para a casa de vegetação.

As plantas enraizadas e aclimatizadas simultaneamente apresentaram grande número de raízes secundárias (Figura 2), o que aumenta a superfície radicular e o volume de substrato explorado. Como consequência, aumenta a necessidade de água e nutrientes para o rápido crescimento inicial das plantas, podendo viabilizar o uso desta tecnologia para a produção de porta-enxertos de macieira em escala comercial.

Esta metodologia permite diminuir os custos de produção das mudas, visto que, para a fase de enraizamento,

TABELA 1 - Enraizamento, número e comprimento de raízes de miniestacas do porta-enxerto de macieira M.9 (*Malus pumila*), tratadas com AIB e submetidas ao enraizamento *ex vitro*, em substrato composto por casca de arroz carbonizada e vermiculita média 1:1 (v/v), por um período de 30 dias.

AIB (mg.L ⁻¹)	Enraizamento (%)	Número de raízes	Comprimento das raízes (cm)
0	64 b	3,5 b	3,5 a
500	82 a	6,0 a	4,1 a
1000	84 a	6,0 a	4,5 a
1500	30 c	8,0 a	4,7 a
C.V.(%)	18,2	15,5	14,4

Médias seguidas de mesmas letras nas colunas não diferem significativamente pelo teste de Duncan a 5%.

TABELA 2 - Sobrevivência, número e comprimento de raízes, altura das miniestacas e número de folhas do porta-enxerto de macieira M.9 (*Malus pumila*), submetidas ao enraizamento *ex vitro*, em diferentes concentrações de AIB, aos 45 dias após a repicagem para o substrato Plantmax®

AIB (mg.L ⁻¹)	Sobrevivência das plantas (%)	Número de raízes	Comprimento das raízes (cm)	Altura das miniestacas (cm)	Número de folhas
0	85 b	10 a	12,0 a	5,3 a	7,0 a
500	95 a	11 a	12,5 a	6,3 a	8,0 a
1000	70 c	16 a	11,6 a	6,9 a	7,0 a
1500	73 c	20 a	11,3 a	6,9 a	8,0 a
C.V.(%)	14,3	21,5	12,1	17,3	12,2

Médias seguidas de mesmas letras nas colunas não diferem significativamente pelo teste de Duncan a 5%.

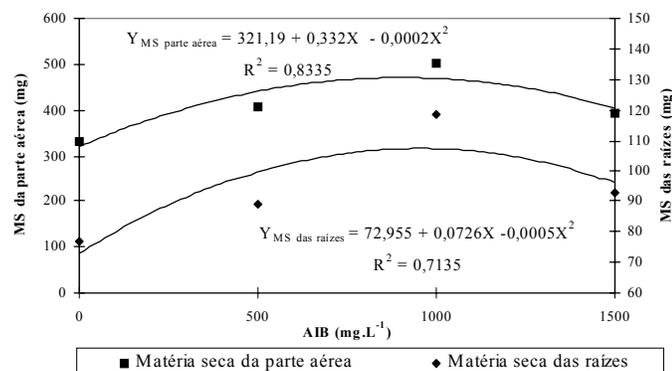


FIGURA 1 - Produção de matéria seca (MS) da parte aérea e das raízes de plantas micropropagadas do porta-enxerto de macieira M.9 (*Malus pumila*), aos 45 dias após a repicagem para substrato Plantmax®, em função de diferentes concentrações de AIB utilizadas para o enraizamento *ex vitro*.

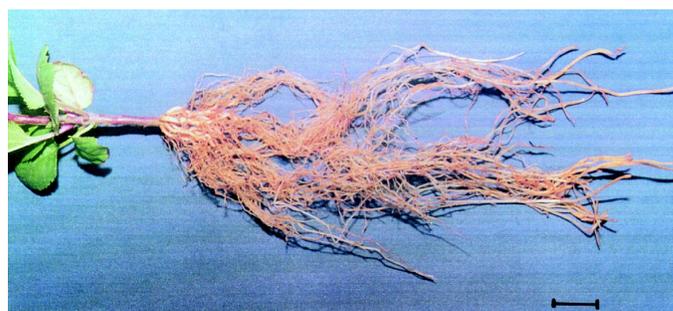


FIGURA 2 - Arquitetura do sistema radicular de miniestacas do porta-enxerto de macieira M.9 (*Malus pumila*), 30 dias após a indução ao enraizamento *ex vitro*, e aclimatização em substrato composto por vermiculita média e casca de arroz carbonizada 1:1 (v/v). Barra = 0,5 cm.

não é necessário utilizar meios de cultura e salas de crescimento assépticas, mão-de-obra especializada para repicagens em capela de fluxo laminar, além de outros custos fixos de um laboratório de cultura de tecidos. Com enraizamento *ex vitro*, é possível diminuir em, no mínimo, 50% os custos finais de produção *in vitro* de uma planta deste porta-enxerto.

CONCLUSÕES

Nas condições em que os experimentos foram realizados, pode-se concluir que:

1 - As maiores percentagens de enraizamento *ex vitro* para o porta-enxerto de macieira M.9 são obtidas com 500 e 1000 mg.L⁻¹ de AIB.

2 - A concentração de 500 mg.L⁻¹ de AIB é a mais efetiva para o enraizamento e sobrevivência das plantas, aos 45 dias após o transplante em casa de vegetação.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ÁLVAREZ, R.; NISSE, S.J.; SUTTER, E. R. Relationship between indole-3acetic acid levels in apple (*Malus pumila* Mill) rootstocks cultured *in vitro* and adventitious root formation in presence of indole-3-butyric acid. **Plant Physiology**, Minneapolis, v.89, p.439-443, 1989.

BLAKESLEY D.; WESON, G.D.; HALL, J.F. The role of endogenous auxin in root initiation. **Plant Growth Regulation**, Dordresh, v.10, p.341-353, 1991.

COLLET, G. F.; LÊ, C.L. Role of auxin, during *in vitro* rhizogenesis of rose and apple trees. **Acta Horticulturae**, Wageningen, n.212, p. 273-280, 1987.

DE KLERK, G.J.; KEPPEL, M.; BRUGGE, J.T.; MEEKES. H. Timing of the phases in adventitious root formation in apple microcuttings. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v.46, n.289, p. 965-972, 1995.

DE KLERK, G.J.; BRUGGE, J.T.; MARINOVA, S. Effectiveness of indoleacetic acid, indolebutyric acid and naphthalenacetic acid during adventitious root formation *in vitro* in *Malus* 'Jork 9'. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Amsterdam, v.49, p.39-44, 1997.

DEBERGH, P.C.; MAENE, L.J. A scheme for commercial propagation for ornamental plants by tissue culture. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v.14, p.35-345, 1981.

DÍAZ-PÉREZ, J.C.; SUTTER; E.G.; SHACKEL, K.A. Acclimatization and subsequent gas-exchange, water relations, survival and growth of microcultured apple plantlets after transplanting them in soil. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.95, p. 225-232, 1995.

FERRI, V.C.; CENTELLAS, A. Q.; HELBIG, V.E.; FORTES, G.R.L. Uso de ágar, amido e ácido indolbutírico no enraizamento

in vitro do porta-enxerto de macieira MM 111. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.28, n.4, p. 561-565, 1998.

FORTES, G.R.L.; LEITE, G.L. Enraizamento *in vitro* de brotações adventícias de macieira (*Malus domestica* Borkh) 1. Pré-condicionamento ao escuro e presença de floroglucinol. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Piracicaba, v. 5, n.1, p.101, 1993.

HAISSIG, B. E.; DAVIS, T. D.; RIEMENSCHNEIDER, D. E. Researching the controls of adventitious rooting. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.84, p.310-317, 1992.

HARBAGE, J. F.; STIMART, D.P.; AUER, C. pH affects ¹H-indol-3-butyric acid uptake but not metabolism during the initiation phase of adventitious root induction in apple microcuttings. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Washington, n.123, v.1, p. 6-10, 1998.

HARBAGE, J. F.; STIMART, D.P. Effect of pH and ¹H-indol-3 butyric acid (IBA) on rooting of apple microcuttings. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 121, n. 6, p. 1049-1053, 1996.

HARTMANN, H.T.; KESTER, D.E.; DAVIES Jr., F.T.; GENEVE, R.L. **Plant propagation: principles and practices**. 6. ed. Singapore: Prentice-Hall, 1997. 770p.

ICEPA 2000 <http://www.icepa.rct-sc.br/produtos/tabprodução/comparativos.htm>

JAMES, D.J.; THURNBON, I.J. Phenolic compounds and other factors controlling rhizogenesis in the apple rootstocks M.9 e M.26. **Zeitschrift Pflanzenphysil, Villengang, Germany**, v.105, p. 11-20, 1981.

JARVIS, B.C.; SHANNON, P.R.M.; YASMIN, S. Influence of IBA and cordycepin on rooting and RNA synthesis in stem cuttings of *Phaseolus aureus* Roxb. **Plant Cell Physiology**, Kyoto, v.24, p. 139-146, 1983.

JAY-ALLEMAND, C.; PENG, S.; CAPELLI, P. E CORNU, D. Micropropagation of hybrid walnut trees. Some factors involved in rooting. **Acta Horticulturae**, Wageningen, n. 311, p.117-124, 1992.

KHOSH-KHUI, M.; SINK, K.C. Rooting-enhancement of *Rosa hybrida* for tissue culture propagation. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, n.17, p.371-376, 1982.

MARKS, T. R. Rhododendron cuttings. II. Factors affecting rooting following micropropagation. **Journal of Horticultural Science**, Washington, v.66, n.1, p.113-118, 1991.

McCLELLAND, M.T.; SMITH, M.A.L.; CAROTHERS, Z.B. The effects of *in vitro* and *ex vitro* root initiation on subsequent microcutting root quality in three woody plants. **Plant Cell Tissue and Organ Culture**, Dordrecht, v. 23, p. 115-123, 1990.

MURASHIGUE, T. E.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue cultures. **Physiologia**

Plantarum, Copenhagen, v.15, p.473-479, 1962.

NACHTIGAL, J.C. **Propagação de araçazeiro (*Psidium cattleyanum* Sabine) através de estacas semilenhosas**. Pelotas, RS, 1994. 66p. Dissertação (Mestrado em Fruticultura de Clima Temperado) - Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas.

PEDROTTI, E.L. **Etude de l'organogenèse *in vitro* à partir de racines, de feuilles et d'embryons zygotiques de merisier (*Prunus avium* L.)**, 1993. 167p. Tése (Doutorado em fisiologia vegetal)- Université d'Orléans, Orléans, 1993.

SOKAL, R.R.; ROHLF, F.J. **Biometry**, 3. ed. San Francisco: Freeman and Company, 1995. 776p.

SUTTER, E. Stomatal and cuticular water loss from apple, cherry and sweetgum plants after removal from *in vitro* culture. **Journal of American Society for Horticultural Science**, Washington,

v.113, n.2, p.234-238, 1988.

VANTELGEN, H.J.; VANMIL, A. ; KUNNEMAN, B. Effect of propagation and rooting condition on acclimatization of micropropagated plants. **Acta Botanica Neerlandica**, Amsterdam, v.41, n.4, p.453-459, 1992.

WANG, Q. Factors affecting rooting of microcuttings of the pear rootstock BP10030. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 45, p. 209-213, 1991.

ZANOL, G.C. **Enraizamento *in vitro* do porta-enxerto MARUBAKAIDO (*Malus prunifolia*) influenciado pela exposição de períodos de escuro, concentrações de ácido indolbutírico e floroglucinol**. 1996. 92p. Dissertação (Mestrado em Fruticultura de Clima Temperado) - Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas – RS, Pelotas, 1996.