

Enraizamento *in vitro* de frutíferas da família *Rosaceae*

In vitro rooting of fruit trees of the *Rosaceae* family

Fernanda Grimaldi¹, Marco André Grohskopf², Aleksander Westphal Muniz³, Altamir Frederico Guidolin⁴

Recebido em 07/02/2008; aprovado em 12/11/2008.

RESUMO

A micropropagação vem sendo usada com a finalidade de multiplicar plantas com características genéticas desejáveis e livres de patógenos. Esta tecnologia tem um papel importante para a fruticultura brasileira, pois os produtores buscam maneiras de produzir rapidamente frutas com alta qualidade. Nessa revisão objetivou-se aprofundar o conhecimento sobre a etapa de enraizamento *in vitro*. O enraizamento *in vitro* encontra grandes dificuldades, especialmente para as espécies de plantas lenhosas. A resposta ao enraizamento é dependente dos fatores endógenos e exógenos. Os obstáculos encontrados no enraizamento se devem principalmente a interação destes fatores, que dificulta o isolamento e a caracterização das variáveis envolvidas na formação radicular. Cada espécie, ou cultivar de uma mesma espécie, apresenta resposta diferente ao enraizamento *in vitro*, devido às características genéticas. Portanto, não é possível estabelecer um protocolo geral de enraizamento *in vitro* para todas as espécies de rosáceas.

PALAVRAS-CHAVE: enraizamento *in vitro*, micropropagação, plantas lenhosas, *Rosaceae*.

SUMMARY

The micropropagation has been used in order to multiply disease-free plants with desirable genetic traits. This technology has an important role to the Brazilian

production of fruits, because the producers seek ways to produce fruit quickly and with high quality. This review has the objective to increase the knowledge of the *in vitro* rooting stage. The *in vitro* rooting is very difficult, especially for woody plants species. The response to rooting depends on endogenous and exogenous factors. The obstacles found in rooting are mainly caused by the interaction of these factors that makes difficult to isolate and characterize the variables involved in root formation. Each species or even cultivar of the same specie has different responses to *in vitro* rooting, due to specific genetic traits. Therefore, it is not possible to establish a general protocol of *in vitro* rooting for all species of the *Rosaceae* family.

KEY WORDS: *In vitro* rooting, micropropagation, woody plants, *Rosaceae*.

INTRODUÇÃO

A família das rosáceas abrange um grande número de espécies arbóreas, arbustivas e herbáceas. As rosáceas podem ser plantas ornamentais ou frutíferas, sendo em sua maioria hermafroditas. As espécies frutíferas contribuem com parte significativa de nossa alimentação. Maçã, pêssigo, ameixa, pêra e morango são alguns exemplos que demonstram a importância econômica dessa família. O Brasil é o segundo maior produtor mundial de frutas, entretanto possui uma pequena participação no mercado internacional. A exportação de frutas tropicais está

¹ Bióloga, Mestrado em Produção Vegetal, Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC).

² Acadêmico do curso de Agronomia, UDESC.

³ Eng. Agr., M.Sc., Epagri – Lages.

⁴ Eng. Agr., Doutor, UDESC, Departamento de Agronomia, Instituto de Melhoramento e Genética Molecular. Av. Camões 2090, Conta Dinheiro, Lages-SC, Brasil. 88520-000. E-mail: guidolin@cav.udesc.br. Autor para correspondência.

aos poucos ganhando espaço no mercado e nos últimos anos a quantidade de frutas exportadas, como a ameixa, pêra, pêssego e morango vêm aumentando. (REETZ et al, 2007).

A fruticultura brasileira é reconhecida mundialmente como uma das mais diversificadas. As cadeias produtivas nacionais se dedicaram nos últimos anos a arrojados investimentos na tecnificação de seus pomares e estruturas industriais, buscando principalmente qualidade (REETZ et al, 2007). Instituições governamentais vêm investindo em pesquisas com a finalidade de melhorar os sistemas de produção em uso. A introdução de novas espécies, o melhoramento genético e a produção de mudas sadias contribuem para o aumento da eficiência do sistema produtivo. A muda de qualidade potencializa a resposta à tecnologia aplicada no pomar, auxiliando na redução de custos e na produção de frutas com alta qualidade e produtividade (OLIVEIRA et al., 2004). O objetivo principal da fruticultura é dispor de frutas com aparência uniforme, polpa de textura sucosa, doce, bom sabor e aroma (NAKASU, 2003). Para que esse objetivo seja alcançado necessita-se primeiramente de infra-estrutura apropriada, mudas sadias e conhecimento tecnológico da cultura, tornando a produção eficiente e economicamente viável (HOFFMANN et al. 2005).

Na produção comercial de mudas frutíferas utiliza-se mais comumente a propagação assexuada, ou seja, por estruturas vegetativas, pois se deseja manter as características agrônomicas da planta matriz. Há uma grande variabilidade entre as espécies produzidas sexuadamente, e na propagação vegetativa tem-se espécies morfológicamente uniformes (ASSIS e TEIXEIRA, 1998). Nos métodos de propagação vegetativa uma limitação encontrada é o baixo potencial de enraizamento das mudas, que podem não sobreviver após o plantio (FACHINELLO e BIANCHI, 2005).

A micropropagação ou propagação *in vitro* tem sido muito estudada e utilizada porque permite o controle de variáveis responsáveis pelo desenvolvimento da planta. Esse método de propagação vem sendo utilizado desde 1902, quando iniciou a cultura de células em soluções nutritivas (TORRES et al., 1998). Porém, o método foi introduzido com sucesso somente nos anos 30, e vem

progredindo até hoje (BHATIA et al., 2004).

DESENVOLVIMENTO

Micropropagação

A micropropagação consiste na regeneração e multiplicação de mudas a partir de uma célula ou de segmentos sadios de tecidos da planta (ERIG e SCHUCH, 2005a). O método permite a produção massal de mudas, independente da época do ano e com ótimas condições sanitárias (SCHUCH e ERIG, 2005). Para espécies frutíferas a micropropagação tem sido utilizada com sucesso técnico e econômico, pela sua rapidez e eficiência de produção. O pleno potencial de produção depende da interação dos fatores da planta e dos fatores ambientais (ERIG e SCHUCH, 2005b).

Para o estabelecimento de uma cultura *in vitro* é necessária uma planta-matriz sadia para a obtenção de explantes. Os explantes podem ser gemas axilares ou apicais, meristemas e tecidos diferenciados (FACHINELLO e BIANCHI, 2005). Os explantes são introduzidos *in vitro* em meios de cultura, sob condições adequadas de temperatura e iluminação, para que ocorra o seu desenvolvimento e a emissão de brotação. Para atender a demanda dos produtores, uma grande quantidade de mudas é necessária, caracterizando a etapa de multiplicação *in vitro*. As brotações são cultivadas a fim de propagar o material obtido anteriormente. Somente quando atingido o número desejado de mudas elas serão enraizadas, completando seu desenvolvimento e estando prontas para as condições *ex vitro*.

O enraizamento é uma etapa caracterizada por dificuldades, apresentando limitações para algumas espécies. Porém para outras espécies, e até mesmo para cultivares de uma mesma espécie tem oferecido bons resultados (ASSIS e TEIXEIRA, 1998).

Formação de raízes adventícias

Durante a etapa de enraizamento ocorre a formação de raízes adventícias nas partes áreas formadas anteriormente na fase de multiplicação. A rizogênese ocorre de uma a três semanas em um meio próprio para enraizamento (GRATTAPAGLIA e MACHADO, 1998). Os fenômenos envolvidos no enraizamento são difíceis de isolar e caracterizar, em decorrência de sua complexidade, sendo assim um

entreve para o conhecimento adequado desta etapa (ASSIS e TEIXEIRA, 1998). A formação das raízes adventícias ocorrem, de acordo com Hartmann et al. (1990), em quatro estágios: desdiferenciação de células específicas; formação de raízes iniciais a partir de células próximas à tecidos vasculares, que por desdiferenciação transformaram-se em células meristemáticas; subsequente desenvolvimento das raízes iniciais em primórdios radiculares; crescimento e emergência dos primórdios radiculares, com formação de vasos condutores entre os primórdios e o tecido vascular do explante.

Plantas herbáceas

O enraizamento de partes aéreas de plantas herbáceas é considerado mais fácil em relação às lenhosas, sendo uma etapa que não constitui grandes problemas (ASSIS e TEIXEIRA, 1998). As raízes adventícias em plantas herbáceas emergem de células parenquimáticas do floema, das células da epiderme ou das células do periciclo, dependendo da espécie (HARTMANN et al., 1990).

Plantas lenhosas

No enraizamento de plantas lenhosas muitas generalizações não podem ser feitas. As plantas lenhosas têm menor adaptabilidade à cultura de tecidos *in vitro* e poucas espécies são micropropagadas com sucesso (ROUT et al., 1999). O enraizamento encontra obstáculos nos fenômenos envolvidos com a formação de raízes adventícias, em virtude dos fatores relacionados a este processo possuem interação entre si (ASSIS e TEIXEIRA, 1998). As plantas lenhosas possuem mais camadas de floema e xilema secundário e as raízes adventícias se formam a partir de células vivas do parênquima, primeiramente do floema secundário mais jovem. O tempo de desenvolvimento das raízes iniciais de lenhosas varia amplamente entre as espécies. Para *Continus cogygria* as raízes adventícias se desenvolvem em dez dias (METIVIER et al., 2007). De acordo com Vieira et al (2007), as raízes de *Mallus pumilla* levam cerca de 20 dias para se desenvolverem completamente.

Enraizamento *in vitro*

O sucesso do enraizamento dos explantes é

pré-requisito para qualquer protocolo de micropropagação, pois é importante para facilitar o estabelecimento da muda no solo (PATI et al., 2006).

A resposta ao enraizamento depende de muitos fatores endógenos e exógenos que vêm sendo estudados ao longo dos anos, principalmente para promover a formação de raízes em espécies com difícil enraizamento. Esses fatores quando empregados separadamente ou combinados mostraram efeitos significativos no enraizamento, porém, para algumas espécies não tiveram efeito algum (COUVILLON, 1988).

Fatores Exógenos

a) Relações hídricas

O estado de turgidez da planta-matriz tem grande influência no enraizamento. Quando a planta-matriz apresenta déficit hídrico ocorre uma redução do enraizamento, pois a falta de água compromete os níveis endógenos de hormônios, podendo afetar sua síntese e transporte (ASSIS e TEIXEIRA, 1998). Recomenda-se que os explantes sejam retirados logo de manhã, quando a planta apresenta células túrgidas. Explantes de cacau e ervilha quando retirados de plantas-matrizes em condições de estresse hídrico apresentaram pouco enraizamento (HARTMANN et al., 1990).

b) Luminosidade

A luminosidade interfere nas fases de indução e iniciação do enraizamento. Durante estas fases faz-se necessário que as partes aéreas sejam mantidas em condições de pouca ou nenhuma luminosidade, pois a presença de luz diminui os níveis endógenos de auxina, inibindo o processo de formação de raízes (GRATTAPAGLIA e MACHADO, 1998). A luminosidade pode inativar fatores que promovem o enraizamento e aumentar a atividade de peroxidase (HARTMANN et al., 1990). Após o período de indução e iniciação a luz é importante para o crescimento das partes aéreas e das raízes (ASSIS e TEIXEIRA, 1998). Assim, durante o enraizamento *in vitro* controla-se a duração da exposição das plantas à luz, ou seja, o fotoperíodo. O fotoperíodo influencia no enraizamento, aumentando a qualidade da raiz, bem como a percentagem de enraizamento (COUVILLON, 1988). Ele pode variar de zero hora

de luz (escuro) até 24 horas (iluminação contínua), dependendo da espécie, porém a maioria das plantas necessita entre 8 e 18 horas (ASSIS e TEIXEIRA, 1998).

Para *Rosa damascena* e *Rosa bourboniana* a iniciação do enraizamento na presença de luz decresceu 20% comparado à iniciação do enraizamento no escuro (PATI et al., 2006). Para *Pyrus communis* foram observados diferentes efeitos no alongamento radicular em função do tempo de cultivo no escuro e da duração do fotoperíodo (BERTAZZA et al., 1995). Vater e Arena (2005) observaram em *Rubus sp* que a duração da fase escura teve efeito significativo sobre o enraizamento. Porém, em *Mallus sp* foram testadas duas condições de incubação para o porta-enxerto M-9 e a presença de luz na iniciação radicular não afetou o enraizamento (RADMANN et al., 2002).

Uma prática para evitar a intensidade luminosa exclusivamente região de formação de raízes é o uso do carvão ativado no meio de cultura (GRATTAPAGLIA e MACHADO, 1998). Porém, o uso de concentrações muito altas desse carvão pode levar a inibição do processo de formação radicular devido à adsorção de substâncias do meio de cultura (ASSIS e TEIXEIRA, 1998). Além disso, em alguns casos a utilização de carvão ativado não traz nenhum benefício ao enraizamento de explantes, como observado por Erig et al. (2004) em cultivares de *Pyrus sp*.

c) Temperatura

Altas temperaturas contribuem para o aumento do metabolismo, favorecendo o desenvolvimento do primórdio radicular (MONCOUSIN, 1991a). A temperatura ideal para propagação de espécies de clima temperado varia entre 23°C e 25°C (LANE et al., 1998; CALVETE et al., 2002; OLIVEIRA et al., 2004). Espécies de *Prunus domestica*, *Mallus sp* e *Pyrus sp* enraizaram sob temperatura de 25°C (ERIG et al., 2004; ROCHA et al., 2007; SOUZA et al., 2007). Para cultivares de *Rosa hybrida* observou-se uma boa resposta de propagação dos explantes a 21°C (PATI et al., 2006). Temperaturas acima de 30°C não são favoráveis para as plantas e provocam a evaporação de água do meio, o deixando mais concentrado

podendo causar toxidez (GRATTAPAGLIA e MACHADO, 1998).

d) Meio de cultura

Os meios de cultura fornecem às plantas substâncias para seu crescimento e desenvolvimento. Segundo Hartmann et al. (1990) o meio de enraizamento tem quatro finalidades: Manter o explante no lugar durante o período de formação da raiz; prover umidade para o explante; permitir trocas gasosas na base do explante e criar um ambiente escuro ou opaco, reduzindo a penetração de luz na base do explante. Um bom meio de enraizamento fornece porosidade suficiente para trocas gasosas, possui uma ótima capacidade de retenção de água e é livre de patógenos.

Durante a rizogênese o meio de enraizamento usado é diluído cerca de 50 a 75% em relação ao meio de multiplicação. O meio de enraizamento é suplementado com compostos orgânicos e minerais para suprir as necessidades energética, metabólica e estrutural das células da planta. Os componentes do meio são água, macro e micronutrientes, carboidratos, vitaminas, inositol, regulador de crescimento e ágar - para meio geleificado (CALDAS et al., 1998). O meio geleificado é usado com a finalidade de diminuir ou evitar a vitrificação dos explantes (GRATTAPAGLIA e MACHADO, 1998). Rout et al. (1999) obtiveram para cultivares de *Rosa hybrida* uma melhor taxa de enraizamento em meio geleificado comparado ao meio líquido.

e) Nutrientes

Existem muitas formulações de meios de cultura em relação aos nutrientes. O meio de cultura MS foi desenvolvido em 1962 por Murashige e Skoog, sendo o mais difundido e utilizado na micropropagação. O meio MS é composto por nitrogênio, cálcio, magnésio, potássio, fósforo, enxofre, cobalto, cloro, ferro, boro, manganês, sódio, zinco, cobre e molibdênio (MURASHIGE e SKOOG, 1962).

Erig et al. (2004) observaram a ocorrência de enraizamento em marmeleiro cv. MC e Adams com apenas 75% da concentração original de nutrientes do meio MS. Magalhães Junior e Peters (1991) também obtiveram enraizamento com 75% da

concentração original do meio MS. Justificando a importância da diluição do meio de enraizamento e representando também uma redução de custos do processo.

O nitrogênio é fornecido para o explante na forma de amônio e nitrato, porém quando fornecido somente na forma de amônio pode causar toxidez (CALDAS et al., 1998). Woodward et al. (2006) observaram que o nitrato, como fonte principal de nitrogênio, produz maiores raízes em relação ao amônio. Explantes que apresentam deficiência em nitrogênio possuem um melhor enraizamento, no entanto deficiências severas são prejudiciais, pois afetam na síntese de aminoácidos e ácidos nucleicos (ASSIS e TEIXEIRA, 1998).

O boro é fornecido na forma de ácido bórico e possui efeito positivo no enraizamento de explantes, principalmente no crescimento de raízes, estando associado ao transporte de carboidratos, metabolismo de auxinas e fenóis (MONCOUSIN, 1991a).

O zinco é fornecido na forma de sulfato de zinco e favorece o aumento de AIA endógeno (ASSIS e TEIXEIRA, 1998). Para a obtenção de explantes com níveis nutricionais excelentes para enraizamento, devem-se escolher na planta-matriz ramos laterais, onde o crescimento rapidamente diminuiu e há um acúmulo de carboidratos (HARTMANN et al., 1990).

f) Carboidratos

A fotossíntese realizada pelos explantes durante a etapa de enraizamento é muito baixa. Devido ao requerimento de energia destinado para a formação de raízes é necessário fornecer carboidratos aos explantes (ASSIS e TEIXEIRA, 1998). Os carboidratos fornecem energia e contribuem no equilíbrio do potencial osmótico do meio de cultura (PATI et al., 2006). O carboidrato universalmente usado na micropropagação de células, tecidos ou órgãos é a sacarose (BHATIA et al., 2004).

As concentrações utilizadas de sacarose variam de acordo com a espécie. Calvete et al. (2002) observaram que em morango a biomassa do sistema radicular teve um aumento crescente até a concentração de 45g L^{-1} de sacarose, concentrações acima desta provocaram uma diminuição na biomassa e a ausência do carboidrato não formou raiz. A concentração de sacarose recomendada para a

propagação *in vitro* de rosáceas como pêra, pêssego e maçã é 30g L^{-1} (DANTAS et al., 2002; RADMANN et al., 2002 e OLIVEIRA et al., 2004). No entanto, alguns estudos ressaltam a importância da diminuição de concentração de sacarose durante a etapa de enraizamento, a fim de promover a nutrição autotrófica à planta (LEITE et al. 2000; GRATTAPAGLIA e MACHADO, 1998).

Fatores endógenos

a) Características do explante

Teoricamente qualquer tecido vegetal pode expressar totipotência, porém na micropropagação o ideal é a utilização de explantes jovens, retirados de uma planta matriz com crescimento ativo. A escolha do explante pode determinar o sucesso da micropropagação (ERIG e FORTES, 2002). Os explantes preferencialmente utilizados para a micropropagação são gemas e meristemas, pois possuem uma maior proporção de tecido meristemático (GRATTAPAGLIA e MACHADO, 1998). A etapa de enraizamento de uma planta é controlada e determinada geneticamente, variando entre espécies e cultivares, o que dificulta estabelecer protocolos gerais de enraizamento (ASSIS e TEIXEIRA, 1998). A idade da planta doadora de explantes influencia diretamente na capacidade de enraizamento, principalmente em espécies lenhosas. Material juvenil possui maior capacidade de enraizamento, porque possui um conteúdo maior de auxina e de co-fatores de enraizamento (MONCOUSIN, 1991b). Materiais considerados adultos podem sofrer um processo de rejuvenescimento com a finalidade de promover o enraizamento (ASSIS e TEIXEIRA, 1998). O tamanho dos explantes também é determinante. Não há formação de raízes em explantes muito pequenos, eles devem ser homogêneos e de qualidade, definindo assim o sucesso do enraizamento (DANTAS et al., 2002).

b) Efeito de gemas

É essencial que os explantes apresentem pelo menos uma gema para que ocorra a formação de raízes, pois a gema sintetiza substâncias que estimulam o enraizamento (HARTMANN et al., 1990). Segundo Couvillon (1988) as gemas podem ter um

pequeno ou grande efeito sobre o enraizamento, dependendo da espécie. No entanto, qualquer lesão feita na gema cessa o efeito que promove o enraizamento.

De acordo com Grattapaglia e Machado (1998) as gemas apicais, em sua maioria, apresentam maior capacidade de crescimento em relação às gemas axilares, especialmente em espécies herbáceas. Portanto, a posição em que a gema se encontra no ramo da planta-matriz é um fator importante para o enraizamento (NICOLOSO et al., 2001).

c) Efeito de folhas

A presença de folhas no explante estimula a iniciação radicular. Porém, esse estímulo não pode ser atribuído à fotossíntese, já que o processo fotossintético é muito baixo durante o enraizamento, acreditando-se que as folhas produzem alguma substância que promove o enraizamento (COUVILLON, 1988). De acordo com Hartmann et al. (1990) explantes de cultivares de abacate com dificuldade para enraizar perdiam suas folhas, enquanto cultivares com fácil enraizamento mantinham suas folhas por até nove meses. Esse autor ressalta que além das folhas translocarem carboidratos, contribuindo para a formação de raízes, elas também são produtoras de substâncias denominadas *rizocalinas*, que potencializam auxinas, promovendo o enraizamento. Em 1946, Overbeek et al., já haviam observado que a combinação entre auxina e folhas era necessária para o enraizamento de hibisco branco. A presença de auxina e a ausência de folhas, bem como a presença de folhas e ausência de auxina apresentaram pouca formação de raízes. Entretanto, quando auxinas e folhas foram combinadas, promoveram um aumento significativo de enraizamento em hibisco branco.

Papel dos reguladores de crescimento no enraizamento

Os hormônios vegetais são produzidos pela planta, atuando no crescimento e no desenvolvimento. Eles atuam em um local diferente daquele onde foram sintetizados. Já os reguladores de crescimento são substâncias sintéticas que produzem efeitos semelhantes aos efeitos dos hormônios. Os reguladores usados na micropropagação são as

giberelinas, as citocininas e as auxinas.

As giberelinas atuam no alongamento de caules. Em níveis altos as giberelinas inibem a formação de raízes adventícias, principalmente por interferirem na divisão celular (ASSIS e TEIXEIRA, 1998) e pela interferência deste regulador na síntese de proteínas (HARTMANN et al., 1990). De acordo com Grattapaglia e Machado (1998) a adição de giberelina ao meio é desnecessária e pode ser prejudicial. Contudo, Carvalho et al. (1999) observaram que a presença de giberelina no meio de cultura pode estimular a iniciação de zonas meristemáticas radiculares.

A adição de citocininas ao meio pode provocar inibição do enraizamento. Foi constatado que explantes de espécies com dificuldade para enraizar possuem um alto nível de citocinina endógena, enquanto espécies com facilidade para enraizar possuem baixos níveis (HARTMANN et al. 1990). Entretanto, algumas espécies respondem positivamente à citocinina exógena, quando em baixas concentrações, já que as citocininas estão envolvidas na divisão e diferenciação celular (ASSIS e TEIXEIRA, 1998).

As auxinas são os reguladores que mais influenciam o enraizamento. Os mais usados na micropropagação são o AIA (ácido indolacético), o ANA (ácido naftalenoacético) e o AIB (ácido indolbutírico). Picloram, 2,4-D (2,4 ácido diclorofenoxiacético) e ANOA (ácido beta-naftoxiacético) também podem ser usados para micropropagação, porém estimulam a formação de calo, não sendo utilizados em trabalhos de enraizamento (GRATTAPAGLIA e MACHADO, 1998). Metivier et al. (2007) utilizaram 2,4-D no enraizamento de lenhosas, porém não houve formação de raízes.

Miranda et al. (2004) obtiveram um aumento no percentual de enraizamento e comprimento médio de raízes de porta-enxertos de pessegueiro utilizando AIB. Já Tofanelli et al. (2002) observaram um baixo potencial de enraizamento para cultivares de pessegueiro utilizando AIB, e mostraram que não somente a auxina tem influência sobre o enraizamento. Para cultivares de oliveira, Radmann et al. (2002) observaram melhor enraizamento com AIB. Assim como Centellas et al. (1999) que ao estudarem o

efeito das auxinas ANA, AIA e AIB no enraizamento *in vitro* de macieira observaram que o AIB proporcionou o melhor enraizamento. Embora o ANA tenha apresentado respostas semelhantes ao AIB neste trabalho, provocou a formação de calo. O AIA se degradou facilmente com a luz, tendo melhor resposta em altas concentrações. Pati et al. (2006) ressaltam que a resposta à diferentes auxinas no enraizamento dependem da cultivar ou da espécie.

Segundo Grattapaglia e Machado (1998) compostos fenólicos, como o floroglucinol, podem atuar como co-fatores de enraizamento para fruteiras de clima temperado. Porém Rufato et al. (2001) observaram que o floroglucinol não promoveu o enraizamento para estacas de marmeleiro das cv. Pineapple, Meliform, Alongado, Radaelli, Portugal, Inta e MC.

CONCLUSÕES

A revisão relacionou a influência de vários fatores na micropropagação de rosáceas, demonstrando que a etapa de enraizamento é dependente da interação dos fatores endógenos e exógenos. A juvenalidade do explante, a presença de gemas e de folhas é essencial para todas as espécies. Porém, em relação aos fatores exógenos, a característica genética da planta é determinante. O fotoperíodo, a temperatura, a concentração de nutrientes e de carboidratos, os tipos e concentrações de reguladores de crescimento variam de acordo com cada espécie. A inconstância desses fatores inviabiliza o estabelecimento de um protocolo geral de enraizamento *in vitro* para todas as espécies da família das rosáceas. Uma área que deve ser melhor estudada é a interação destes fatores endógenos e exógenos. Na literatura cada espécie ou cultivar é estudada isoladamente e os fatores são analisados sem o objetivo de verificar a interação. A análise da interação dos fatores responsáveis pelo enraizamento *in vitro* poderá apresentar maior acuracidade na determinação do tratamento que melhor responde à formação radicular.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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 – CNPH, 1998. Parte II, p.261-296.

BERTAZZA, G.; BARALDI, R.; PREDIERI, S. Light effects on *in vitro* rooting of pear cultivars of different rhizogenic ability. **Plant Cell Tissue and Organ Culture**, Dordrecht, v.41, p.139-143, jan. 1995.

BHATIA, P. et al. Tissue culture studies of tomato (*Lycopersicon esculentum*). **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Dordrecht, v.78, p. 1-21, jul. 2004.

CALDAS, L.S.; HARIDASAN, P.; FERREIRA, M.E. Meios Nutritivos. In: TORRES, A.C.; CALDAS, L.S.; BUSO, J.A. **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: Embrapa – SPI / Embrapa – CNPH, 1998. Parte II, p. 81-130.

CALVETE, E.O. et al. Concentração de sacarose no enraizamento *in vitro* de morangueiro. **Horticultura brasileira**, Brasília, v. 20, n. 2, p. 186-191, jun. 2002.

CARVALHO, G.R. et al. Efeitos do ácido giberélico e benzilaminopurina no desenvolvimento de plântulas de cafeeiro *in vitro*. **Revista da Universidade de Alfenas**, Alfenas, v.5, p. 185-187, 1999.

CENTELLAS, A.Q. et al. Efeito de auxinas sintéticas no enraizamento *in vitro* da macieira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. Brasília, v.34, n.2, p.181-186, fev. 1999.

COUVILLON, G.A. Rooting responses to different treatments. **Acta Horticulturae**. Georgia, v.227, p.187-196, 1988.

DANTAS, A.C.M. et al. Estabelecimento e multiplicação *in vitro* de cultivares de *Pyrus spp.* **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v.8, p. 19-23, jan/abr, 2002.

ERIG, A.C.; FORTES, G.R.L. Estabelecimento de pereira (*Pyrus spp.*) *in vitro* a partir de meristemas e gemas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.32, n.4, p. 577-582, 2002.

ERIG, A.C.; SCHUCH, M.W.; BRAGA, E.J.B. Enraizamento *in vitro* de pereira (*Pyrus communis* L.) cv. Carrick. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.34, n.1, p. 275-277, 2004 .

ERIG, A.C.; SCHUCH, M.W. Estabelecimento *in vitro* de mirtilo a partir de segmentos nodais. **Scientia Agraria**, Curitiba, v.6, n.1, p. 91-96, 2005a.

- ERIG, A.C.; SCHUCH, M.W. Micropropagação fotoautotrófica e uso da luz natural. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.35, n.4, p. 961-965, 2005b.
- FACHINELLO, C.A.; BIANCHI, V.J. Produção de mudas certificadas. In: FACHINELLO, J.C.; HOFFMANN, A.; NACHTIGAL, J.C. **Propagação de plantas frutíferas**. Brasília: Embrapa – SPI / Embrapa – CNPH, 2005. p.207-220.
- GRATTAPLAGLIA, 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 – CNPH, 1998. Parte II, p.183-260.
- HARTMANN, H.T.; KESTER, D.E.; DAVIES, F.T. **Plant propagation: principles and practices**. 5.ed. New Jersey: [s.n.], 1990. 647p.
- HOFFMANN, A.; NACHTIGAL, J.C.; FACHINELLO, J.C. Infra-Estrutura para propagação de plantas frutíferas. In: FACHINELLO, J.C.; HOFFMANN, A.; NACHTIGAL, J.C. **Propagação de plantas frutíferas**. Brasília: Embrapa – SPI / Embrapa – CNPH, 2005. cap.1, p.13-44.
- LANE, W. D.; IKETANI, H.; HAYASHI, T. Shoot regeneration from cultured leaves of Japanese pear (*Pyrus pyrifolia*) **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**. Dordrecht, v.54, p. 9-14, 1998.
- LEITE, G.B.; FINARDI, N.; FORTES, G.R.L. Efeitos de concentração de sacarose no meio de cultura e da intensidade luminosa no enraizamento *in vitro* do porta-enxerto de pereira OH X F971. **Ciência Agrotécnica**. Lavras, v.24, n.2, p.353-357, abr./jun., 2000
- 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.
- METIVIER, P.S.R. et al. *In vitro* rooting of microshoots of *Cotinus coggygria* Mill, a woody ornamental plant. **In vitro cellular development biology plant**, New York, v.43, p. 119-123, 2007.
- MIRANDA, C.S. et al. Enxertia recíproca e AIB como fatores indutores do enraizamento de estaca lenhosas dos porta-enxertos de pessegueiro “Okinawa” e “Umezeiro”. **Ciência Agrotécnica**, Lavras, v.28, n.4, p. 778-784, jul-ago. 2004.
- MONCOUSIN, C.H. Rooting of microcuttings: general aspects. **Acta Horticulturae**. Georgia, v.289, p. 301-308. 1991a.
- MONCOUSIN, C.H. Rooting of microcuttings: unmanipulated factors. **Acta Horticulturae**, Georgia, v.289, p. 319-327, 1991b.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue cultures. **Physiol. Plant.**, v.15, p. 473-497, 1962.
- NAKASU, B.H. Introdução. In: QUEZADA, A.C.; NAKASU, B.H.; HERTER, F.G. **Pêra produção**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2003. p.9.
- NICOLOSO, F.T.; CASSOL, L.F.; FORTUNATO, R.P. Comprimento da estaca de ramo no enraizamento de Giseng brasileiro (*Pfaffia glomerata*). **Ciência Rural**, Santa Maria, v.31, n.1, p. 57-60, 2001.
- OLIVEIRA, R.P.; NINO, A.F.P.; NICKEL, O. Limpeza de patógenos e propagação *in vitro* de cultivares de pereira. Pelotas: EMBRAPA, 2004.
- OVERBEEK, J.V.; SOLON, A.G.; GREGORY, L.E. An analysis of the function of the leaf in the process of root formation in cuttings. **American Journal of Botany**. Saint Louis, v.33, p.100-107, 1946.
- PATI, P.K. et al. *In vitro* propagation of rose: a review. **Biotechnology Advances**, Seoul, v. 24, p. 94-114, 2006.
- RADMANN, E.B., FACHINELLO, J.C., PETERS, J.A. Efeito de auxinas e condições de cultivo no enraizamento *in vitro* **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.24, n.3, p. 624-628, dez. 2002.
- REETZ, E.R. et al. **Anuário brasileiro de fruticultura 2007 / ERNA**. Santa Cruz do Sul : [s.n.], 2007.
- ROCHA, P.S.G. da. et al. Qualidade da luz na micropropagação do porta enxerto de *Prunus* cv. MR .S.2/5. **Bioscience**, Uberlândia, v. 23, n. 3, p. 32-40, jul/set. 2007.
- ROUT, G.R. et al. Biotechnology of the rose: a review of recent progress. **Scientia Horticulturae**. v.81, p. 201-228, 1999.
- RUFATO, L. et al. Enraizamento de estacas lenhosas de cultivares de marmeleiro (*Cydonia oblonga*) tratadas com floroglucinol. **Revista Brasileira de Fruticultura**. Jaboticabal, v.23, n.3, dez. 2001.
- SCHUCH, M.W.; ERIG, A.C. Micropropagação de

plantas frutíferas. In: FACHINELLO, J.C., HOFFMANN, A., NACHTIGAL, J.C. **Propagação de plantas frutíferas**. Brasília: Embrapa – SPI / Embrapa – CNPH, 2005. p.155-174.

SOUZA, J. A. et al. Enraizamento *in vitro* do porta-enxerto de macieira-M9 em função da vedação, sacarose e material de suporte no meio de cultura. **Scientia Agraria**, Curitiba, v.8, n.2, p. 161-164, 2007.

TOFANELLI, M. B. D.; ONO, E.O.; RODRIGUES, J.D. Enraizamento de estacas lenhosas de pessegueiro tratadas com ácido indol-butírico em diferentes concentrações e métodos de aplicação. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v.8, n.3, p.265-266, set./dez., 2002.

TORRES, A.C.; CALDAS, L.S.; FERREIRA, A.T. Retrospectiva da cultura de tecidos de plantas. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: Embrapa – SPI / Embrapa – CNPH, 1998. Parte I, p.11-20.

VATER, G.; ARENA, M. *In vitro* propagation of *Rubus geoides*. **New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science**, v.33, p. 277-281, 2005.

VIEIRA, R.L.; LEITE, G.B.; WAMSER, A.F. Efeito de substratos porosos no enraizamento *in vitro* do porta enxerto de macieira M-9 *Malus pumilla*. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.29, n.1, abr. 2007.

WOODWARD, A.J.; BENNETT, I.J.; PUSSWONGE, S. The effect of nitrogen source and concentration, medium pH and buffering on *in vitro* shoot growth and rooting in *Eucalyptus marginata*. **Scientia Horticulturae**, Ohio, v.110, p. 208-213, 2006.