

# MICROPROPAGAÇÃO DE PORTA-ENXERTO DE PEREIRA, “OLD HOME” x “FARMINGDALE” 9

MELLO-FARIAS, Paulo C.<sup>1</sup>; PETERS, José A.<sup>2</sup> & NAKASU, Bonifácio H.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>UFPEL/FAEM - Dept<sup>o</sup>. Ciência e Tecnologia Agroindustrial - Campus Universitário - Caixa Postal, 354  
CEP 96010-900 - Tel. (0532) 75 7258 - Pelotas/RS - Brasil.

<sup>2</sup>UFPEL/IB - Dept<sup>o</sup>. de Botânica - Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais - Caixa Postal, 354 - CEP 96010-900 -  
Pelotas/RS.

<sup>3</sup>EMBRAPA/Centro de Pesquisa Agropecuária de Clima Temperado (CPACT) - Caixa Postal, 403 - CEP 96001/970 -  
Pelotas/RS.

(Recebido para publicação em 12/01/96)

## RESUMO

Objetivando desenvolver técnicas de propagação *in vitro* de porta-enxerto de pereira, “Old Home” x “Farmingdale” 9, foi realizada a multiplicação de brotos em meio de MURASHIGE & SKOOG (1962), (MS), variando a presença e concentração dos reguladores de crescimento: benzilaminopurina (BAP), ácido naftalenoacético (ANA) e ácido giberélico (AG<sub>3</sub>). No enraizamento utilizou-se meio MS reduzido a 1/3 da sua concentração de nutrientes, com exceção do ferro e das vitaminas que permaneceram na concentração normal. Foram testados métodos de enraizamento com e sem a presença de auxinas (ácido naftalenoacético e ácido indolbutírico) nos meios de cultura, assim como a ausência de luz. As melhores respostas foram obtidas com 2,0 mg/l de BAP, com relação à multiplicação e quanto ao comprimento de brotos o tratamento mais eficiente foi com BAP (2,0 mg/l), ANA (0,1 mg/l) e AG<sub>3</sub> (1,0 mg/l). A presença de ANA e AG<sub>3</sub> nas concentrações utilizadas não melhorou as taxas de multiplicação. A adição de AIB (0,3 mg/l) ao meio de enraizamento induziu a 50% de brotos enraizados. Obteve-se também 50% de enraizamento com a imersão da base dos explantes em solução com ANA (100 mg/l) por 2 segundos e após transferidos para meio de cultura sem regulador de crescimento. Observou-se efeito positivo do escuro por períodos de 3 e 6 dias na fase inicial de enraizamento.

Palavras-chave: pereira, propagação *in vitro*, reguladores de crescimento, enraizamento.

## ABSTRACT

MICROPROPAGATION OF PEAR ROOTSTOCK, “OLD HOME” x “FARMINGDALE” 9. Experiments were carried out aiming to develop techniques for *in vitro* propagation of pear rootstock, “Old Home” x

“Farmingdale” 9. The micropropagation of pear was tested on MURASHIGE & SKOOG (1962) medium, (MS), varying the levels of the growth regulators benzylaminopurine (BA), naphthaleneacetic acid (NAA) and gibberellic acid (GA<sub>3</sub>). Tests were done to determine the influence of the MS medium on the rooting with all the nutrients, except for iron and vitamins, which were reduced to 1/3. Concentration of naphthaleneacetic acid and indolbutyric acid were tested, as well as the absence of the light. The best multiplication was obtained with 2.0 mg/l of BA, and the best length of shoots was got with BA (2.0 mg/l), NAA (0.1 mg/l) and GA<sub>3</sub> (1.0 mg/l). The addition of AIB (0.3 mg/l) to the rooting media caused 50% of rooted shoots. The shoot dipping to NAA (100 mg/l) root solution induced 50% of rooted shoots. Lack of light during 3 and 6 days was positive in relation to the rooting of shoots.

Key words: pear, *in vitro* propagation, growth regulators, rooting

## INTRODUÇÃO

A pêra é uma fruta de clima temperado de grande importância nacional, tendo em vista seu alto consumo. Entretanto a maior parte das frutas consumidas no Brasil são provenientes de importações da Argentina e do Uruguai. Hoje um dos maiores problemas da cultura da pereira no Brasil está na falta de mudas para atender a demanda dos fruticultores sulinos (NAKASU & LEITE, 1990).

A técnica da cultura de tecidos, através do uso da micropropagação, constitui-se num método de produção de mudas que apresenta as seguintes vantagens: possibilidade de, a partir de um explante inicial, obter-se milhares de plantas, independentemente das estações do ano, onde as condições ambientais e nutricionais podem ser facilmente controladas (DRUART, 1981);

redução do tempo necessário à propagação da espécie (MURASHIGE, 1974); melhores condições sanitárias através do cultivo de meristemas previamente tratados por termoterapia para eliminação de doenças (VISEUR & DRUART, 1988); reprodução do genótipo da planta-mãe com fidelidade durante a multiplicação.

As espécies lenhosas, incluindo-se os porta-enxertos de fruteiras, apresentam problemas relacionados com viroses, que podem ser eliminados pela cultura de meristemas, porém estes oxidam-se muito facilmente pelo alto teor de compostos fenólicos. SHEN & MULLINS (1984) relatam que a pereira apresenta problemas de micropropagação, com baixo rendimento de brotos por explante (4-6), se comparados com 12 ou mais brotos/explante obtidos em macieira por Sriskandarajah *et al.* (1982), citado por SHEN & MULLINS (1984), sendo geralmente reconhecida como difícil de enraizar *in vitro* a partir de brotos.

Segundo WESTWOOD (1982), os porta-enxertos da série "Old Home" x "Farmingdale" (OH x F) demonstram um grau muito alto de tolerância à doença chamada fogo bacteriano, às geadas, moderadamente resistente ao pulgão da raiz e quanto ao vigor é considerado semi-nanizante.

Considerando o exposto acima, o presente trabalho foi desenvolvido visando melhorar a eficiência da propagação *in vitro* do porta-enxerto de pereira, "Old Home" x "Farmingdale" 9, através do uso de diferentes meios de multiplicação e enraizamento.

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados brotos de porta-enxerto de pereira, "Old Home" x "Farmingdale" 9 (11ª sub-cultura), obtidos através da cultura de meristemas.

Para os testes de multiplicação, secções caulinares contendo 2 a 3 gemas axilares foram transferidas para meio de MURASHIGE & SKOOG (1962) (MS), suplementado com 100 mg/l de mio-inositol, 30 g/l de açúcar cristal e 7 g/l de ágar bacteriológico Difco, ao qual foram adicionados os reguladores de crescimento benzilaminopurina (BAP) a 0,0; 0,5; 1,0; 1,5 e 2,0 mg/l, ácido naftalenoacético (ANA) a 0,0 e 0,1 mg/l e ácido giberélico (AG<sub>3</sub>) a 0,0; 0,5 e 1,0 mg/l, em diferentes combinações. O pH do meio foi ajustado para 5,8 antes da inclusão do ágar e posteriormente autoclavado a 121°C e 1,5 atm por 20 minutos.

As culturas foram mantidas por 40 dias, a uma temperatura de 27±1°C durante o período claro e 25±1°C no escuro, com fotoperíodo de 16 horas e 3.000 lux de intensidade luminosa (lâmpadas fluorescentes tipo branca-fria). Foram realizados dois experimentos para avaliar o efeito dos reguladores de crescimento no

meio de multiplicação.

A taxa de multiplicação foi avaliada pela contagem direta do número de brotos formados a partir do explante inicial, bem como pela medida do comprimento, em milímetros, de cada broto formado. Foram colocados 5 explantes em cada frasco (contendo 50 ml de meio) e utilizados 3 frascos por tratamento no 1º experimento e 4 frascos por tratamento no 2º experimento. A unidade de observação foi o explante e a média dos cinco explantes de cada frasco (unidade experimental) foi utilizada na análise estatística. As observações referentes ao número de brotos por explante inicial foram transformadas em  $\sqrt{x}$ . O delineamento experimental utilizado foi completamente casualizado e foi aplicado o teste de Duncan para comparação das médias dos tratamentos e análise de regressão polinomial.

Para o enraizamento, explantes (secções caulinares apicais) medindo aproximadamente 10 mm de comprimento, foram transferidos para meio de cultura contendo 1/3 dos sais minerais do meio MS, com exceção do ferro e as vitaminas, que permaneceram na concentração normal. Suplementou-se com 100 mg/l de mio-inositol, 30 g/l de açúcar cristal, 7 g/l de ágar bacteriológico e várias concentrações de auxinas.

O ajuste do pH, a esterilização dos meios e as condições de incubação foram as mesmas descritas anteriormente para a multiplicação.

Foram realizados dois experimentos de enraizamento. No primeiro, as auxinas foram adicionadas ao meio de cultura e os tratamentos diferiram quanto ao tipo de auxina, (ANA ou AIB), suas concentrações (0,0; 0,3; 0,6 e 1,2 mg/l) e ao período de escuro (0; 3 e 6 dias) a que foi submetido o material vegetal no início da fase de enraizamento. No segundo experimento de enraizamento a base dos brotos foi mergulhada em solução de auxina por 2 segundos e posteriormente os explantes foram colocados em meio sem regulador de crescimento. Os tratamentos diferiram quanto ao tipo de auxina (ANA ou AIB), quanto às suas concentrações (50; 100 e 200 mg/l) e também quanto ao período de escuro (0 e 3 dias) no início da fase de enraizamento.

O delineamento experimental utilizado foi o completamente casualizado. Foram utilizados 4 frascos com 6 explantes para cada tratamento nos dois experimentos. A unidade de observação foi o explante e a unidade experimental foi a média dos seis explantes colocados em cada frasco. Foi aplicado o teste F para a análise de contrastes na interpretação dos resultados. Ressalta-se que os brotos inferiores a 5 mm de comprimento foram desconsiderados neste trabalho, não participando na média dos resultados.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O tratamento 5, contendo 2,0 mg/l de BAP, induziu a maior taxa de multiplicação (4,46 brotos/explante), diferindo estatisticamente dos tratamentos 1, 2, 10, 14 e 15 (Tabela 1). Estes resultados estão de acordo com os obtidos por MORETTI *et al.* (1990) com três cultivares

de pereira, e por PASQUAL *et al.* (1990) com porta-enxerto de pereira *Pyrus calleryana* Dec., os quais também obtiveram melhores resultados de multiplicação em meios de cultura que continham apenas BAP como regulador de crescimento e com concentrações similares ao presente trabalho.

TABELA 1 - Efeito de reguladores de crescimento sobre a taxa de multiplicação e o comprimento de brotos de porta-enxerto de pereira, "Old Home" x "Farmingdale" 9.

Nº	Tratamentos			Número de brotos*	Comprimento*
	BAP	ANA	AG <sub>3</sub>		
				(mg/l)	
				(mm)	
1	0	0	0	0,57 d	2,95 b
2	0,5	0	0	2,28 bc	7,25 ab
3	1,0	0	0	2,93 abc	8,41 ab
4	1,5	0	0	3,00 abc	7,50 ab
5	2,0	0	0	4,46 a	6,79 ab
6	0,5	0,1	0	2,21 abcd	7,58 ab
7	1,0	0,1	0	2,60 abcd	7,90 ab
8	1,5	0,1	0	3,13 abc	7,80 ab
9	2,0	0,1	0	3,54 abc	8,48 ab
10	0,5	0,1	0,5	1,68 bcd	6,90 ab
11	1,0	0,1	0,5	2,20 abcd	8,70 a
12	1,5	0,1	0,5	3,46 abc	9,64 a
13	2,0	0,1	0,5	3,49 abc	8,98 a
14	0,5	0,1	1,0	1,60 cd	8,57 ab
15	1,0	0,1	1,0	2,09 bcd	9,74 a
16	1,5	0,1	1,0	3,42 abc	9,94 a
17	2,0	0,1	1,0	4,01 ab	11,33 a

\* Médias seguidas por letras distintas na mesma coluna, diferem entre si ao nível de 5% de significância, pelo teste de Duncan.

Constatou-se que o BAP é um componente essencial do meio de multiplicação para pereira, sendo a sua presença necessária para a sobrevivência e subsequente multiplicação de brotos, visto que não houve desenvolvimento de novos brotos na ausência deste regulador de crescimento. Esta observação confirma resultados obtidos por BOXUS (1975); TABACHNIK & KESTER (1977); LEE & KO (1984); MARINO (1984); DAMIANO *et al.* (1990); PASQUAL *et al.* (1990) e YUI *et al.* (1990), que também verificaram

que o BAP é de fundamental importância no meio de multiplicação. Observou-se também que o aumento na concentração de BAP, de 0,5 a 2,0 mg/l, induziu a um aumento de 95% na taxa de multiplicação (Tabela 1 e Figura 1). MARINO (1984), trabalhando com pereira, porém cv. "William" obteve aumento de quase 400% na taxa de multiplicação em correspondência a um aumento na concentração de BAP no meio de 0,5 a 2,0 mg/l.

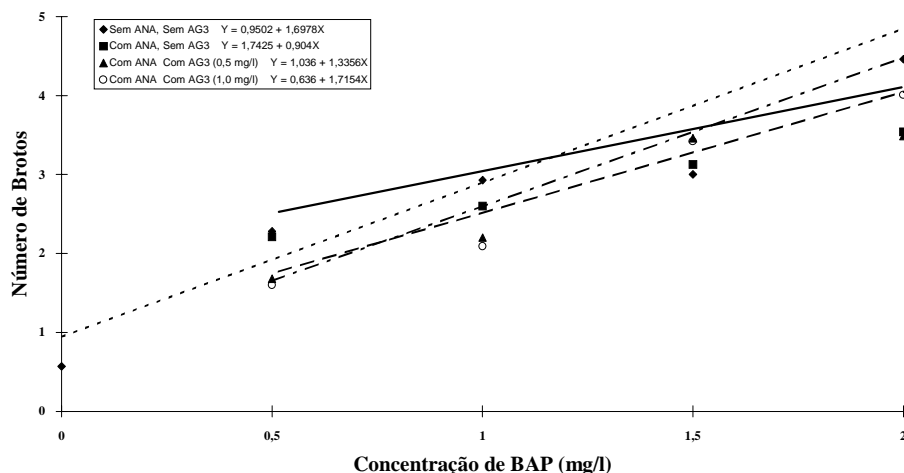


Figura 1. Efeito dos reguladores de crescimento no meio de multiplicação sobre o número de brotos de porta-enxerto de pereira, "Old Home" x "Farmingdale" 9.

A adição de ANA aos meios de cultura, na concentração utilizada (0,1 mg/l), não influenciou positivamente na taxa de multiplicação dos brotos de "Old Home" x "Farmingdale" 9 (Figura 1). Resultados similares foram obtidos por STIMART & HARBAGE (1989), trabalhando com *Pyrus calleryana* Dec., concluindo que a taxa de multiplicação aumentava com o aumento da concentração de BAP, porém diminuía com o aumento da concentração de AIB. No entanto, os pesquisadores BHOJWANI *et al.* (1984), trabalhando com um seedling adulto de *Pyrus pyrifolia*; TABACHNIK & KESTER (1977), com amendoeira e um híbrido entre amendoeira e pessegueiro; YUI *et al.* (1990), com macieira cv. "Golden Delicious" e LEITE (1991), com *Pyrus* sp. cv. "Carrick" obtiveram os melhores resultados de multiplicação utilizando BAP associado à auxina ANA.

Nos meios de multiplicação que continham os três reguladores de crescimento em teste, BAP, ANA e AG<sub>3</sub>, obtiveram-se boas respostas de multiplicação de brotos, porém inferiores ao resultado obtido com apenas 2,0 mg/l de BAP, (Tabela 1 e Figura 1). Observou-se que o AG<sub>3</sub> foi ineficaz ou inibitório, pois não melhorou a taxa de multiplicação. No entanto, o máximo comprimento médio alcançado foi a utilização de meio acrescentado com 1,0 mg/l de AG<sub>3</sub>, embora não tenha diferido estatisticamente dos demais meios. De acordo com a Tabela 1, observa-se que o comprimento médio dos brotos foi alto, principalmente considerando-se que o presente trabalho é na cultura da pereira, que alonga-se com certa dificuldade, de forma que um tratamento isolado com AG<sub>3</sub> não se justificava.

Normalmente, apenas 12% dos meios de multiplicação contém giberelina na sua composição. Segundo GRATTAPAGLIA & MACHADO (1990),

quando as partes aéreas não estão em condições de serem individualizadas para o enraizamento, devido ao seu tamanho, o cultivo na presença de AG<sub>3</sub> pode provocar alongamento. Nesta fase, entretanto, geralmente não se consegue estimular uma resposta uniforme de alongamento em todas as partes aéreas.

No presente experimento, o que talvez tenha diminuído a eficiência do alongamento dos brotos foi o fato de que os tratamentos que continham AG<sub>3</sub>, foram suplementados também com BAP e ANA, assim as giberelinas podem se tornar ineficientes, de forma que não se observou o efeito isolado do GA<sub>3</sub> sobre as culturas.

YUI *et al.* (1990), trabalhando com macieira cv. "Golden Delicious", observaram que não houve diferença significativa para os níveis de 0,0; 0,01; 0,1 e 1,0 mg/l de AG<sub>3</sub>, tanto para o número total de brotos, como para número de brotos acima de 1,0 cm. Os mesmos autores concluíram pelos resultados obtidos, que o AG<sub>3</sub> é dispensável nos trabalhos de multiplicação da macieira *in vitro*, e estão de acordo com informações de OCHATT & CASO (1983) e JONES *et al.* (1977). Observou-se também, no transcórpor do presente trabalho, que não houve necessidade de suplementação dos meios de cultura na fase de multiplicação com AG<sub>3</sub>, pois obteve-se boa multiplicação e alongamento dos brotos, suficiente para passagem direta dos mesmos à fase de enraizamento.

Com relação ao experimento de enraizamento, os resultados foram considerados bons (50%), no melhor tratamento, se comparados com os de outros autores. No experimento com reguladores de crescimento adicionados ao meio de cultura, obteve-se até 50% de enraizamento com 0,3 mg/l de AIB, sendo o material

submetido a 3 dias de escuro (Tabela 2). Entretanto, STIMART & HARBAGE (1989), trabalhando também com pereira, *Pyrus calleryana*, não conseguiram enraizamento com AIB, mesmo após 2 anos de subculturas e intermitentes tentativas, não houve

enraizamento. BHOJWANI *et al.* (1984), trabalhando com *Pyrus pyrifolia* obtiveram cerca de 10% de brotos enraizados.

TABELA 2 - Efeito de reguladores de crescimento no meio de cultura e do período de escuro sobre a percentagem de enraizamento de brotos de porta-enxerto de pereira, "Old Home" x "Farmingdale" 9.

Tratamento	ANA (mg/l)	AIB (mg/l)	Escuro (dias)	Enraizamento (%)
1A	---	---	0	0,00
1B	---	---	3	0,00
1C	---	---	6	1,44
2A	0,3	---	0	20,47 *
2B	0,3	---	3	33,19 *
2C	0,3	---	6	41,69 *
3A	0,6	---	0	8,45 *
3B	0,6	---	3	14,75 *
3C	0,6	---	6	12,50 *
4A	1,2	---	0	8,45 *
4B	1,2	---	3	1,44
4C	1,2	---	6	5,69
5A	---	0,3	0	32,90 *
5B	---	0,3	3	50,00 *
5C	---	0,3	6	0,00
6A	---	0,6	0	32,90 *
6B	---	0,6	3	45,79 *
6C	---	0,6	6	4,75
7A	---	1,2	0	24,23 *
7B	---	1,2	3	25,00 *
7C	---	1,2	6	3,02

\* As médias assinaladas difere das testemunhas pelo teste F, ao nível de 1% de significância. Os tratamentos com A, B e C foram comparados com a testemunhas 1A, 1B e 1C, respectivamente.

No experimento de enraizamento realizado através da imersão da base dos explantes em solução de auxinas (ANA ou AIB), obteve-se também, no máximo 50% de enraizamento, mergulhando-se a base das partes aéreas em solução de ANA a 100 mg/l por 2 segundos e após transferidos para meio de cultura sem regulador de crescimento, não sendo submetido a um período inicial de escuro (Tabela 3). LEITE (1991), obteve resultados de até 29% com imersão dos explantes de pereira cv. "Carrick" por um minuto, nos mesmos reguladores de crescimento. No entanto, outros

autores conseguiram resultados mais promissores, como MARINO (1984), trabalhando com pereira cv. "William", que colocou os explantes em imersão de AIB (200 ppm) por 30 a 60 minutos, obtendo de 70 a 80% de enraizamento. Presume-se que neste resultado houvesse necessidade de aumento do tempo de imersão da base dos explantes a fim de se obter resultados mais promissores, pois se comparado com outros autores, o período de 2 segundos pode ser considerado pouco tempo.

TABELA 3 - Efeito da imersão dos explantes em diferentes concentrações de reguladores de crescimento e do período de escuro sobre a percentagem de enraizamento de brotos de porta-enxerto de pereira, "Old Home" x "Farmingdale" 9.

Tratamento	ANA (mg/l)	AIB (mg/l)	Escuro (dias)	Enraizamento (%)
A1	---	---	0	0,00
A2	---	---	3	0,00
B1	50	---	0	0,00
B2	50	---	3	2,35
C1	100	---	0	50,00
C2	100	---	3	32,74
D1	200	---	0	24,52
D2	200	---	3	45,76
E1	---	50	0	16,10
E2	---	50	3	22,80
F1	---	100	0	16,10
F2	---	100	3	16,10
G1	---	200	0	16,10
G2	---	200	3	32,74

\*As médias assinaladas diferem das testemunhas pelo teste F, ao nível de 5% de significância. Os tratamentos com 1 e 2 foram comparados com a testemunhas A1 e A2, respectivamente.

Observou-se efeito positivo do escuro na fase inicial de enraizamento, sendo que entre as médias dos tratamentos, as maiores percentagens de enraizamento foram obtidas com 3 dias para o AIB e 6 dias para o ANA de escuro (Figuras 2 e 3). Estes resultados estão de acordo com os obtidos por DAMIANO *et al.* (1990), trabalhando com fruteiras de clima temperado, que obtiveram aumento na percentagem de enraizamento com uma fase inicial de escuro.

Hammerschlag (1982), citado por REEVES *et al.* (1985), relata que a inibição da luz na iniciação radicular tem sido atribuída à uma foto inativação do AIA endógeno e uma inibição da síntese do cofator fenólico de enraizamento ou estimulador do fator de bloqueio. RUGINI *et al.* (1988), afirmam que a ausência de luz durante os primeiros dias de enraizamento é benéfica, pois no escuro diminui a ação da AIA-oxidase, favorecendo desta forma o enraizamento dos explantes.

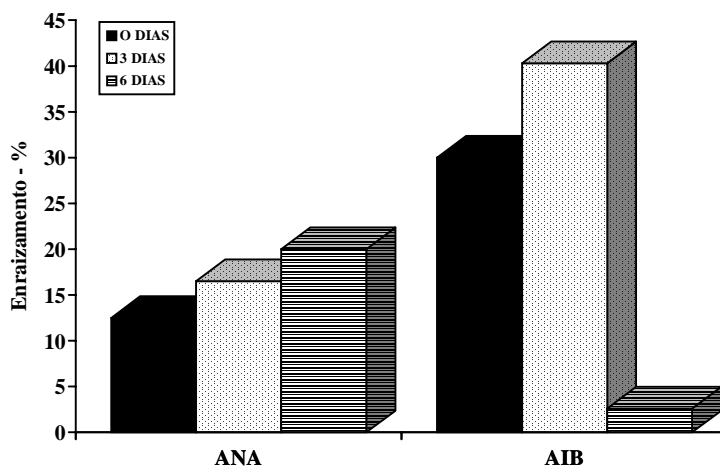


Figura 2. Efeito de períodos de escuro no início da fase de enraizamento sobre a percentagem de brotos enraizados de porta-enxerto de pereira, "Old Home" x "Farmingdale" 9

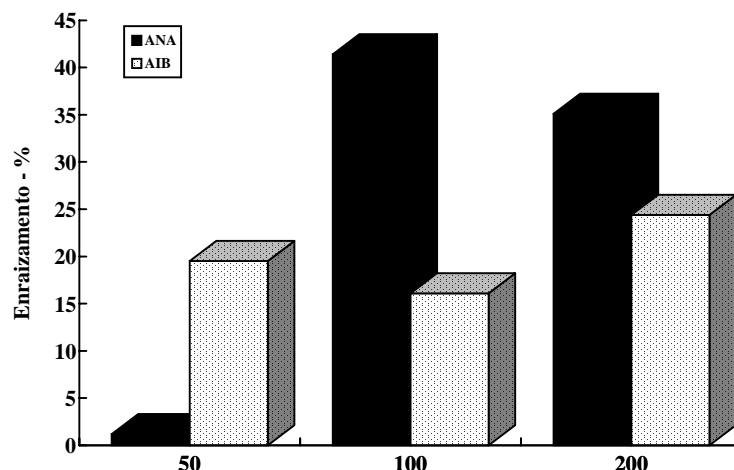


Figura 3. Efeito da imersão dos explantes em diferentes concentrações de reguladores de crescimento sobre a percentagem de brotos enraizados de porta-enxerto de pereira, "Old Home" x "Farmingdale" 9

## CONCLUSÕES

Para a cultura *in vitro* de porta-enxerto de pereira, "Old Home" x "Farmingdale" 9, o presente trabalho permite concluir que:

-A multiplicação de brotos é maior quando se utiliza o meio com benzilaminopurina (2,0 mg/l);

-A adição de ácido naftalenoacético, na concentração utilizada, não afeta positivamente a taxa de multiplicação dos brotos;

-A adição de ácido giberélico (1,0 mg/l) induz a um maior crescimento dos brotos;

-As melhores percentagens de enraizamento são obtidas com AIB (0,3 mg/l) presente no meio de cultura, e ANA (100 mg/l) no experimento de imersão da base dos explantes sendo após transferidos para meios de cultura sem regulador de crescimento;

-A ausência de luz nos períodos de 3 e 6 dias afeta positivamente a fase de enraizamento.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BHOJWANI, S.S.; MULLINS, K. & COHEN, D. *In vitro* propagation of *Pyrus pyrifolia*. **Scientia Horticulturae**, **23**: 247-54, 1984.
- BOXUS, P. The production of strawberry plants by *in vitro* micropropagation. **Journal of Horticultural Science**, **49**: 209-210, 1974.
- DAMIANO, C.; CHIARIOTTI, A.; QUARTA, R. & CABONI, E. Some factors affecting the induction and the expressions of the rooting in different fruit species during the micropropagation. In: INTERNATIONAL HORTICULTURAL CONGRESS, 23, 1990, Firenze. **Abstracts of contributed papers**. Firenze: 1990.
- DRUART, P. La micropropagation en arboriculture fruitiere. **Le Fruit Belge**, **49**(396): 292-8, 1981.
- GRATTAPAGLIA, D. & MACHADO, M.A. Micropropagação. In: TORRES, A.C. & CALDAS, L.S. **Técnicas e Aplicações da Cultura de Tecidos de Plantas**. Brasília: ABCTP/EMBRAPA. CNPH, 1990. p. 99-169.
- JONES, O.P.; HOPGOOD, M.E. & O'FARRELL, D. Propagation *in vitro* of M26 apple rootstocks. **Journal of Horticultural Science**, **52**: 235-8, 1977.
- LEE, H.J. & KO, K.C. Effects of culture media and plant hormones on shoot tip culture of Fuji apple cultivar (*Malus domestica*). **Seoul Nat "1 Univ. Coll. of Agric. Rese.**, **9**(1): 67-77, 1984.
- LEITE, D.L. **Micropropagação de pereira (*Pyrus spp.*) cultivar Carrick**. Dissertação de Mestrado - Pelotas: Universidade Federal de Pelotas, 1991 - 78p.
- MARINO, G. Moltiplicazione e radicazione *in vitro* del pero cv. "William". **Riv. Ortoflorofrut. It.** **68**: 95-106, 1984.
- MORETTI, C.; SCOZZOLI, A.; PASINI, D. & PAGANELLI, F. *In vitro* propagation of pears cultivars. In: INTERNATIONAL HORTICULTURAL CONGRESS, 23, 1990, Firenze. **Abstracts of contributed papers**. Firenze: 1990.
- MURASHIGE, T. & SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, **15**: 473-97, 1962.

- MURASHIGE, T. Plant propagation through tissue cultures. **Annual Review of Plant Physiology**, **25**: 135-66, 1974.
- NAKASU, B.H. & LEITE, D.L. Indicação de porta-enxerto e cultivares de pereira para o sul do Brasil. **Hortisul**, **1** (2): 20-4, 1990.
- OCHATT, S.J.; CASO, O.H. *In vitro* propagation of peach: II A medium for *in vitro* multiplication of 56 peach cultivars. **Fruit Varieties Journal**, **40** (2): 39-48, 1983.
- PASQUAL, M.; LOPES, P.A.; PINTO, J.E.B.P. & CHALFUN, N.N.J. Influência de diversos fatores sobre a multiplicação de porta-enxerto de pereira *Pyrus calleryana* Dec. *in vitro*. **Ciência e Prática**, **14** (1): 28-34, 1990.
- REEVES, D.W.; COUVILLON, G.A. & HORTON, B.D. Effect of gibberellic acid (AG<sub>3</sub>) on elongation and rooting of "St. Julien A" rootstock *in vitro*. **Scientia Horticulturae**, **26**: 253-9, 1985.
- RUGINI, E.; BAZZOFFIA, A. & JACOBONI, A. A simple *in vitro* method to avoid the inicial dark period and to increase rooting in fruit trees. **Acta Horticulturae**, **227**: 439-40, 1988.
- SHEN, X.S. & MULLINS, M.G. Propagation *in vitro* of pear, *Pyrus communis* L., cultivars "Willians Bon Chrétien", "Packham's Triumph" and "Beurré Bosc". **Scientia Horticulturae**, **23**: 52-7, 1984.
- STIMART, D.P. & HARBAGE, J.F. *In vitro* shoot proliferation of *Pyrus calleryana* from vegetative buds. **Hortscience**, **24** (2): 298-9, 1989.
- TABACHNICK, L. & KESTER, O. Shoot culture for almond and almond-peach hybrid clones *in vitro*. **HortScience**, **12**(6): 545-7, 1977.
- VISEUR, J. & DRUART, P. Utilisation de la culture *in vitro* pour l'amélioration genetique del arbres fruitiers. **Le Fruit Belge**, **56**(422): 156-64, 1988.
- WESTWOOD, N.H. **Fruticultura de Zonas Templadas**. Ediciones Mundi-Prensa Madrid 1. 461p. 1982.
- YUI, E.; CORREA, D.M.; PASQUAL, M. & PINTO, J.E.B.P. Micropropagação *in vitro* da macieira (*Malus domestica* Borkh.) cultivar "Golden Delicious". **Ciência e Prática**, **14**(1): 56-61, 1990.