

MULTIPLICAÇÃO *IN VITRO* DO PORTA-ENXERTO DE VIDEIRA ‘VR043-43’ (*Vitis vinifera* x *Vitis rotundifolia*)¹

Multiplication *in vitro* of grapevine rootstock ‘VR043-43’ (*Vitis vinifera* x *Vitis rotundifolia*)

Marília Pereira Machado², Luiz Antonio Biasi³, Marlice Ritter⁴, Luciana Lopes Fortes Ribas⁵,
Henrique Soares Koehler⁶

RESUMO

A micropropagação é uma técnica que possibilita a propagação massal de plantas de interesse econômico. Objetivou-se com este trabalho avaliar o efeito de 6-benzilaminopurina (BAP) e cinetina (CIN) na multiplicação do porta-enxerto de videira ‘VR043-43’. O isolamento foi realizado em meio de cultura QL, suplementado com BAP ou CIN, nas concentrações de 0; 2,5; 5,0 e 10,0 µM. Os subcultivos foram realizados a cada 45 dias. O número de brotações por explante aumentou ao longo dos subcultivos com BAP. Esse efeito não foi observado com a CIN, que obteve resultado semelhante ao da testemunha (1,0 brotação/explante). As concentrações de 5,0 e 10,0 µM de BAP promoveram o maior número de brotações, porém com redução da altura. A concentração mais elevada de CIN (10,0 µM), também teve efeito negativo na altura das brotações, assim como no número de folhas por brotação. A formação de calo (100%) foi observada com BAP e CIN em todas as concentrações, e na ausência de citocinina não houve a formação de calo. A citocinina BAP reduziu a formação de raízes, que foi de 100% com a CIN e a testemunha.

Termos para indexação: Citocinina, micropropagação, enraizamento, *Vitis*.

ABSTRACT

The micropropagation is one technique that makes possible the massal propagation of plants of economic interest. The objective of this work was to evaluate the effect of 6-benzilaminopurina (BAP) and kinetin (KIN) in the multiplication *in vitro* of the grapevine rootstock ‘VR043-43’. The isolation was carried through in culture medium QL, supplemented with BAP or KIN, in the concentrations of 0; 2,5; 5,0 and 10,0 µM. The subcultures had been carried out each 45 days. The number of shoots per explant increased along with the subcultures with BAP. However this effect was not observed with the KIN that it got resulted similar to the one of the cytokin-free (1,0 shoot/explant). The concentrations of 5,0 and 10,0 µM of BAP had promoted the biggest number of shoots with reduction of the height. The highest concentration of KIN (10,0 µM) also had negative effect in the height of the shoots, as well as, in the number of leaves per shoot. The callus formation (100%) was observed with BAP and KIN in all the concentrations, and in the cytokinin absence it did not have the callus formation. Cytokinin BAP reduced the formation of roots that was of 100% with the KIN and cytokinin-free.

Index terms: Cytokinin, micropropagation, rooting, *Vitis*.

(Recebido para publicação em 22 de novembro de 2005 e aprovado em 21 de março de 2006)

INTRODUÇÃO

A propagação vegetativa do porta-enxerto de videira ‘VR043-43’ (*Vitis vinifera* x *Vitis rotundifolia*) pelo enraizamento de estacas lenhosas, não apresenta-se viável, devido a sua dificuldade de enraizamento (Botelho et al., 2005), que também é observada com cultivares da espécie *Vitis rotundifolia* Michx. (Pires & Biasi, 2003). Diversos trabalhos têm apontado as técnicas de micropropagação como alternativa para a rápida propagação de cultivares da espécie *V. rotundifolia* e, especialmente, híbridos de *Vitis* e *Muscadinia* (Cao, 1990;

Compton & Gray, 1994; Gray & Benton, 1990; Gray & Fisher, 1985; Meyerson et al., 1994; Sudarsono & Goldy, 1991; Wetzstein & Myers, 1994).

Para a multiplicação dos explantes de videiras dois métodos são sugeridos um baseado na formação de uma única planta enraizada em meio de cultura isento de regulador vegetal, a partir de um segmento nodal utilizado como explante. O outro visa aumentar a eficiência da micropropagação, pela proliferação de gemas axilares com altos níveis de citocinina no meio de cultura, resultando na formação de tufo de brotações não enraizadas (BOUQUET & TORREGROSA, 2003; JONA & WEBB, 1978).

¹Parte da dissertação de mestrado do primeiro autor.

²Engenheira Agrônomo, Mestranda – Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo – Universidade Federal do Paraná/UFPR – Bolsista da CAPES.

³Engenheiro Agrônomo, Dr. Professor Adjunto do Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo – Universidade Federal do Paraná/UFPR – Cx. P. 19.061 – Curitiba, PR – Bolsista de Produtividade em Pesquisa do CNPq.

⁴Aluna de graduação em Agronomia – Universidade Federal do Paraná/UFPR – Bolsista de Iniciação Científica do CNPq.

⁵Bióloga, Dr^a Professora Adjunta do Departamento de Botânica – Universidade Federal do Paraná/UFPR – Cx. P. 19.061 – Curitiba, PR.

⁶Professor Dr. Adjunto do Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo – Universidade Federal do Paraná/UFPR – Cx. P. 19.061 – Curitiba, PR.

As citocininas são utilizadas para estimular a divisão celular, atuando desta forma na morfogênese (GEORGE, 1996). A multiplicação de videiras *in vitro*, com a utilização de citocininas, foi reportada em diversos trabalhos (CHEE et al., 1984; DZAZIO et al., 2002; GRAY & BENTON, 1990; GRAY & FISHER, 1985; LEE & WETZSTEIN, 1990; MEYERSON et al., 1994; REISCH, 1986). Contudo, a concentração e o tipo de citocinina, para a melhor proliferação de brotações, variou entre os diferentes genótipos estudados. A BAP (6-benzilaminopurina) tem sido muito eficaz para promover multiplicação de partes aéreas e indução de gemas adventícias em diversas espécies (GRATTAPAGLIA & MACHADO, 1998). Para híbridos de videira a cinetina teve efeito positivo na altura das brotações (NOVÁK & JUVOVA, 1982).

Conduziu-se este trabalho com objetivo de avaliar o efeito de 6-benzilaminopurina (BAP) e cinetina em diferentes concentrações na multiplicação *in vitro* do porta-enxerto de videira 'VR043-43'.

MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Micropropagação de Plantas, do Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo, do Setor de Ciências Agrárias, da Universidade Federal do Paraná.

Os explantes foram coletados de plantas matrizes, do porta-enxerto de videira 'VR043-43' (*Vitis vinifera* x *Vitis rotundifolia*), mantidas em casa-de-vegetação em outubro de 2003. As brotações foram seccionadas em segmentos nodais, de aproximadamente 10 mm de comprimento, com uma gema axilar. Em seguida os explantes passaram por uma assepsia, sendo tratados com Benlate® (2 g L⁻¹) por 10 minutos, seguido pela imersão em etanol (70%) por 25 segundos e hipoclorito de sódio (1,5%), mais Tween-20 por 15 minutos e 4 lavagens em água deionizada e esterilizada.

Para a multiplicação *in vitro*, os explantes inicialmente utilizados foram segmentos nodais com uma gema axilar, uma folha e com aproximadamente 1,0 cm de comprimento, retirados de plantas preestabelecidas *in vitro*, provenientes do quinto subcultivo em meio de cultura QL (QUOIRIN & LEPOIVRE, 1977) isento de reguladores de crescimento.

A inoculação das microestacas foi realizada em frascos de 250 mL, contendo 30 mL do meio de cultura QL, suplementado com as vitaminas do meio de cultura MS (MURASHIGE & SKOOG, 1962), 100 mg L⁻¹ de mio-inositol,

30 g L⁻¹ de sacarose e 6 g L⁻¹ de ágar (Vetec®). O pH foi ajustado para 5,8 antes da autoclavagem a 121 °C e 1,5 atm por 20 minutos. Os tratamentos consistiram de diferentes concentrações de BAP (0; 2,5; 5,0 e 10 µM) e cinetina (0; 2,5; 5,0 e 10 µM). Nos subcultivos as microestacas foram padronizadas com 1,0 cm de altura e duas folhas.

O delineamento experimental foi em blocos casualizados, com parcelas subdivididas, com quatro repetições e quatro frascos por parcela com três explantes por frasco. Nas parcelas foram aplicados oito tratamentos constituídos pelas duas citocininas (BAP e CIN) em quatro concentrações (0; 2,5; 5,0 e 10,0 µM). As quatro épocas de avaliação compuseram as sub-parcelas. Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância, e as médias comparadas pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade. O programa estatístico utilizado foi o MSTAT.

Todos os tratamentos foram mantidos em sala climatizada, com fotoperíodo de 16 horas fornecida por lâmpadas fluorescentes do tipo luz do dia, intensidade luminosa de aproximadamente 20 µmol m⁻² s⁻¹ e temperatura de 25 ± 2° C.

As avaliações foram realizadas a cada 40 dias a partir da instalação do experimento, num total de quatro avaliações, pelo número de brotações por explante, altura das brotações, número de folhas por brotação, porcentagem de enraizamento e porcentagem de formação de calo.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise de variância apresentou efeito significativo dos tratamentos para todas as variáveis analisadas, ocorrendo interação entre os fatores citocinina, concentração e subcultivo (Tabela 1).

Nos quatro subcultivos avaliados as maiores concentrações de BAP (5,0 e 10,0 µM) promoveram maior número de brotações por explante. Na testemunha obteve-se, em todos os subcultivos, 1,0 brotação por explante. No terceiro e quarto subcultivos a concentração de 10 µM de BAP foi significativamente superior as demais, sendo obtidas aproximadamente 7,0 brotações por explante (Figura 1). Também para a indução de brotações de cultivares de *Vitis vinifera* L., altas concentrações de BAP foram requeridas (MHATRE et al., 2000), assim como para cultivares de videiras muscadíneas (GRAY & BENTON, 1991). O meio de cultura MS/2 suplementado com 4,4 µM de BAP promoveu alto número de brotações por explantes, para os híbridos de *Vitis X Muscadinia* (TORREGROSA et al., 1995).

TABELA 1 – Resumo da análise de variância do efeito de diferentes concentrações de 6-benzilaminopurina e cinetina na altura, número de brotações por explante, número de folhas e porcentagem de enraizamento das mudas micropropagadas do porta-enxerto de videira ‘VR043-43’, em quatro subcultivos. Curitiba, 2005.

Causas de variação	QM				
	Altura (cm)	Brotações/explante (N°)	Folhas (N°)	Enraizamento (%)	Calo (%)
Bloco	0,009ns	2,123ns	0,266ns	21,405ns	26,553**
Citocinina (A)	52,122**	73,341*	0,821ns	96668,59**	309,476**
Erro (a)	0,049	2,625	0,336	2,579	0,321
Concentração (B)	10,332**	26,758**	9,864**	13131,04**	75433,48**
A x B	6,510**	26,433**	4,029**	10766,13**	309,476**
Subcultivo (C)	2,949**	4,884**	2,070**	2234,738**	125,963**
A x C	0,797**	5,439**	3,005**	4722,802**	125,963**
B x C	1,410**	2,328**	1,906**	707,758**	125,963**
A x B x C	1,163**	2,392**	2,158**	690,273**	125,963**
Erro (b)	0,114	0,275	0,435	0,814	0,236

ns – Não-significativo.

* Significância estatística ao nível de 5% de probabilidade de erro.

** Significância estatística ao nível de 1% de probabilidade de erro.

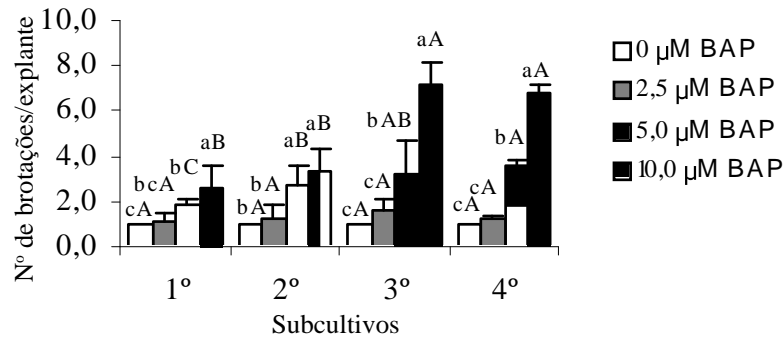


FIGURA 1 – Efeito de 6-benzilaminopurina (BAP) no número de brotações por explante do porta-enxerto de videira ‘VR043-43’, em quatro subcultivos. Letras minúsculas representam o fator concentração e maiúsculas o fator subcultivo, sendo que letras iguais não são significativamente diferentes pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade. C.V.(%) = 29,62. Curitiba, 2005.

Para várias espécies do subgênero *Euvitiss* a BAP tem demonstrado ser efetiva no aumento da proliferação da gema axilar, com nível ótimo entre 5,0 a 10,0 µM (GOUSSARD, 1981; GRAY & FISHER, 1985; HARRIS & STEVENSON, 1982; REISCH, 1986). O número e a qualidade das brotações dos cultivares de videira Fry, Carlos e Dixie

foram altos quando o meio foi suplementado com 5 a 20 µM BAP (GRAY & BENTON, 1991). A multiplicidade de brotações é característica da BAP, que induz a formação de grande número de brotações e alta taxa de multiplicação em muitos sistemas de micropropagação (MARTINELLI, 1985).

Contudo, as brotações em meio de cultura contendo BAP não foram homogêneas, e apresentaram sintomas de hiperhidricidade. Da mesma forma, concentrações elevadas de BAP promoveram hiperhidricidade em brotações do porta-enxerto de videira ‘420-A’ (DZAZIO et al., 2002).

Em todas as concentrações testadas, a cinetina apresentou efeito semelhante à testemunha (1,0 brotação/explante) (Figura 2). Resultados semelhantes aos encontrados nesse trabalho foram observados na micropropagação de cultivares de *Vitis rotundifolia*, em que os meios de cultura com e sem a presença de cinetina apresentaram o mesmo efeito (GRAY & BENTON, 1991). Em trabalhos com *Vitis rotundifolia*, o efeito da cinetina na indução do crescimento e desenvolvimento de gemas axilares apresentou-se baixo (SUDARSONO & GOLDY, 1991), assim como no trabalho com ápices fragmentados de videira (SKENE & BARLASS, 1980). Além disso, a cinetina em concentrações de 20,0 µM não teve efeito na

multiplicação de *Vitis riparia* M. x *Vitis berlandieri* P. (NOVAK & JUVOVÁ, 1982).

A citocinina BAP teve efeito negativo na altura das brotações, sendo mais evidente nas maiores concentrações testadas (5,0 e 10,0 µM). Na ausência de BAP, nos quatro subcultivos, a altura das brotações foi em média de 3,6 cm e nas concentrações de 5,0 e 10,0 µM de BAP a altura das brotações foi em média de 2,0 e 1,6 cm, respectivamente (Figura 3). A produção de brotações pouco alongadas com a adição de BAP no meio de cultura, também foi observada com as cultivares Thompson Seedless, Sonaka e Tas-e-Ganesh, sendo necessária uma fase de alongamento (MHATRE et al., 2000).

Além disso, concentrações muito elevadas também são prejudiciais, causando a formação de brotações anormais e hiperhídricas (CHÉE & POOL, 1985; HARRIS & STEVENSON, 1982; LEE & WETZSTEIN, 1990).

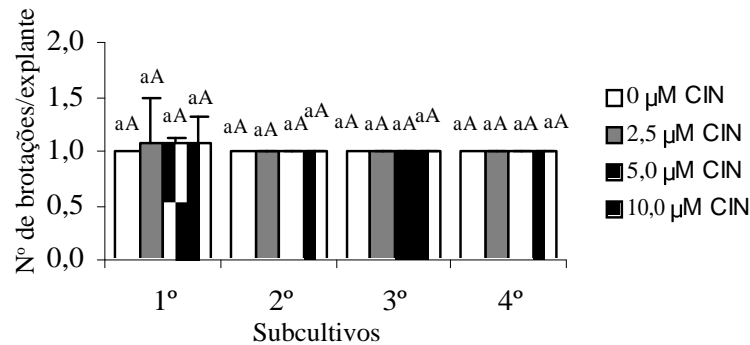


FIGURA 2 – Efeito da cinetina (CIN) no número de brotações por explante do porta-enxerto ‘VR043-43’, em quatro subcultivos. Letras minúsculas representam o fator concentração e maiúsculas o fator subcultivo, sendo que letras iguais não são significativamente diferentes pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade. C.V.(%) = 29,62. Curitiba, 2005.

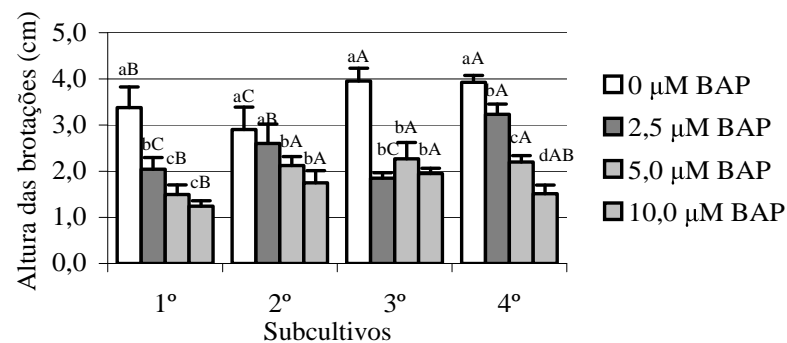


FIGURA 3 – Efeito de 6-benzilaminopurina (BAP) na altura das brotações do porta-enxerto ‘VR043-43’, em quatro subcultivos. Letras minúsculas representam o fator concentração e maiúsculas o fator subcultivo, sendo que letras iguais não são significativamente diferentes pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade. C.V. (%) = 11,13. Curitiba, 2005.

Diferente do que ocorreu com a BAP, as brotações em meio de cultura contendo 2,5 μM de cinetina tiveram um aumento na altura no segundo subcultivos. Porém, assim como a BAP, as concentrações mais elevadas (5,0 e 10,0 μM) reduziram a altura das brotações (Figura 4). Isso mostra que a cinetina promove o crescimento das brotações, mas é necessário que seja adicionada no meio de cultura a concentração adequada, sendo para o porta-enxerto 'VR043-43' próximo de 2,5 μM . Novák & Juvova (1982) demonstraram que a cinetina na concentração de 20,0 μM , teve efeito positivo na altura das brotações de híbridos de videira.

Os resultados encontrados no presente trabalho corroboram com Koruza & Jelaska (1993), que

observaram inibição no crescimento das brotações de videira na subcultura repetida em meio de cultura com citocinina.

Para a variável número de folhas por brotação a citocinina BAP apresentou resultados inferiores à testemunha, no primeiro subcultivo. Nos cultivos posteriores, o número de folhas por brotação aumentou, sendo encontrados valores próximos ao da testemunha (Figura 5). Dzazio et al. (2002) obtiveram resultados semelhantes ao desse trabalho, em que o número de folhas por brotação nas concentrações de 5,0 e 10,0 μM de BAP no primeiro subcultivo foi inferior à testemunha.

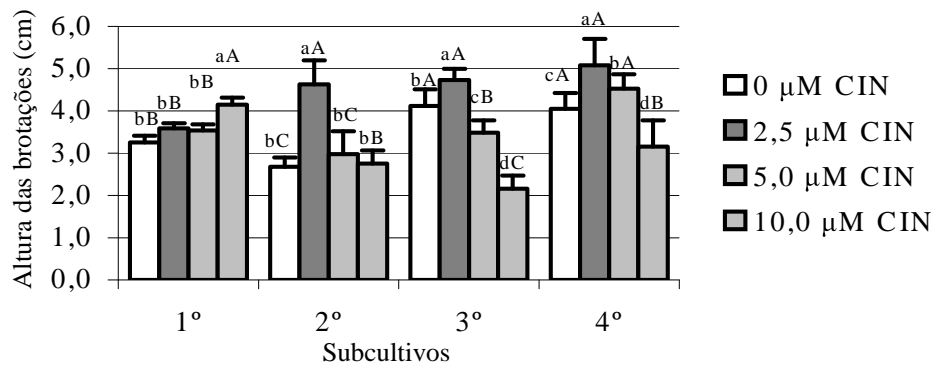


FIGURA 4 – Efeito da cinetina (CIN) na altura das brotações do porta-enxerto 'VR043-43', em quatro subcultivos. Letras minúsculas representam o fator concentração e maiúsculas o fator subcultivo, sendo que letras iguais não são significativamente diferentes pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade. C.V. (%) = 11,13. Curitiba, 2005.

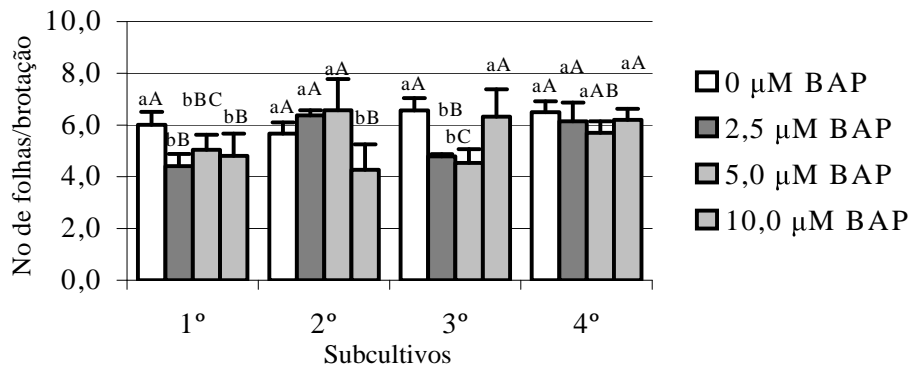


FIGURA 5 – Efeito de 6-benzilaminopurina (BAP) no número de folhas por explante do porta-enxerto 'VR043-43', em quatro subcultivos. Letras minúsculas representam o fator concentração e maiúsculas o fator subcultivo, sendo que letras iguais não são significativamente diferentes pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade. C.V. (%) = 11,90. Curitiba, 2005.

As concentrações mais elevadas de cinetina (5,0 e 10,0 μM), apresentaram o menor número de folhas por brotação nos quatro subcultivos (Figura 6). Também no trabalho com o porta-enxerto de videira ‘420-A’ obteve-se os menores números de folhas por brotação com as concentrações de 5,0 e 10,0 μM de cinetina (DZAZIO et al., 2002).

Observou-se formação de calo em 100% das microestacas, na presença das duas citocininas testadas. Enquanto, não se verificou formação de calo nas microestacas na ausência de citocinina (Tabela 2).

Houve 100% de enraizamento das microestacas em meio de cultura isento de citocinina (Tabela 1),

apresentando-se como uma característica do porta-enxerto de videira ‘VR043-43’. Sendo, possível formar uma única planta enraizada a partir de um segmento nodal sem regulador de crescimento, assim como observado por Bouquet & Torregrosa (2003) e Jona & Webb (1978). Da mesma forma, Biasi et al. (1998) obtiveram resultados próximos a 100% de enraizamento com o porta-enxerto ‘Jales’, em meio de cultura sem regulador de crescimento. Entretanto, Gray & Benton (1991) obtiveram 55% de enraizamento em brotações de cultivares de *Vitis rotundifolia* cultivadas em meio de cultura MS sem a presença de regulador de crescimento.

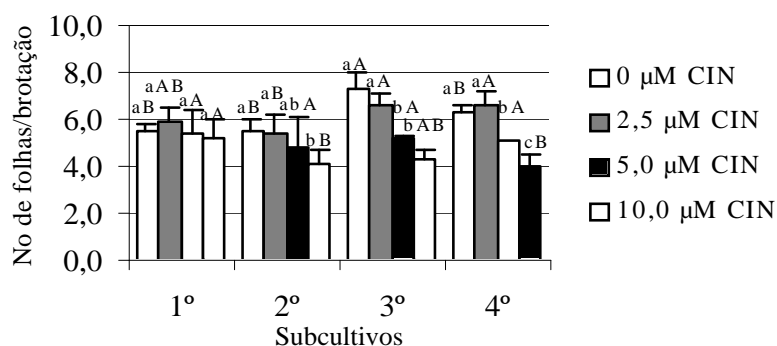


FIGURA 6 – Efeito da cinetina (CIN) (B) no número de folhas por explante do porta-enxerto ‘VR043-43’, em quatro subcultivos. Letras minúsculas representam o fator concentração e maiúsculas o fator subcultivo, sendo que letras iguais não são significativamente diferentes pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade. C.V. (%) = 11,90. Curitiba, 2005.

TABELA 2 – Efeito de 6-benzilaminopurina (BAP) e cinetina (CIN) na porcentagem de formação de calo e porcentagem de enraizamento das microestacas do porta-enxerto de videira ‘VR043-43’, em quatro subcultivos. Curitiba, 2005.

Citocinina	Calo (%) ¹				Enraizamento (%) ¹			
	1°	2°	3°	4°	1°	2°	3°	4°
0,0 μM BAP	0,0bA	0,0bA	0,0bA	0,0bA	100aA	100aA	100aA	100aA
2,5 μM BAP	100aA	100aA	100aA	100aA	19,3bC	40,6bB	0,0bD	57,0cA
5,0 μM BAP	100aA	100aA	100aA	100aA	0,0cC	21,6dB	0,0bC	80,0bA
10,0 μM BAP	100aA	100aA	100aA	100aA	0,0cC	24,2cB	0,0bC	43,7dA
0,0 μM CIN	0,0cA	0,0bA	0,0cA	0,0bA	100aA	100aA	100aA	100aA
2,5 μM CIN	83,4bB	100aA	66,9bC	100aA	100aA	100aA	100aA	100aA
5,0 μM CIN	100aA	100aA	100aA	100aA	100aA	100aA	100aA	100aA
10,0 μM CIN	100aA	100aA	100aA	100aA	100aA	100aA	100aA	65,8bB
C.V. (%)			0,66				1,28	

¹Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem significativamente pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade.

As concentrações de BAP testadas reduziram a formação de raízes, inibindo totalmente o enraizamento no terceiro subcultivo. A cinetina não inibiu o enraizamento das microestacas, apenas a concentração de 10,0 µM no quarto subcultivo, reduziu significativamente a porcentagem de enraizamento (65,8%) (Tabela 2).

Para videiras, cultivares copa e porta-enxerto, a rizogênese *in vitro* é fortemente influenciada pelo genótipo (ROUBELAKIS-ANGELAKIS & ZIVANOVITC, 1991), enraizando facilmente pelo uso de meio de cultura sem regulador de crescimento ou com adição de auxina (GRAY & FISHER, 1985).

CONCLUSÕES

A multiplicação do porta-enxerto de videira 'VR043-43' é realizada pela obtenção de microestacas, a partir de uma única planta enraizada em meio de cultura isento de regulador de crescimento.

A utilização de BAP na concentração de 5,0 µM requer uma fase de alongamento, podendo a qualidade das brotações ser comprometida durante os repetidos subcultivos na presença da citocinina.

O porta-enxerto de videira 'VR043-43' apresenta uma fraca resposta à cinetina na fase de multiplicação.

AGRADECIMENTOS

À Fundação Araucária pelo apoio financeiro.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BIASI, L. A.; PASSOS, I. R. S.; POMMER, C. V. Micropropagação do porta-enxerto de videira Jales. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 33, n. 10, p. 1587-1594, 1998.
- BOTELHO, R. V.; MAIA, A. J.; PIRES, E. J. P.; TERRA, M. M.; SCHUCK, E. Efeitos de reguladores vegetais na propagação vegetativa do porta-enxerto de videira 'VR043-43' (*Vitis vinifera* x *Vitis rotundifolia*). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 27, n. 1, p. 6-8, 2005.
- BOUQUET, A.; TORREGROSA, L. Micropropagation of the grapevine (*Vitis spp.*). In: JAIN, S. M. (Ed.). **Micropropagation of woody trees and fruits**. Dordrecht: Kluwer Academic, 2003. p. 319-352.
- CAO, Z. Grape: micropropagation. In: CHEN, Z.; EVANS, D. A.; SHARP, W. R.; AMMIRATO, R. V.; SONDHAL, M. R. (Eds.). **Handbook of plant cell culture**. New York: Academic, 1990. v. 6, p. 321-328.
- CHÉE, R.; POOL, R. M. *In vitro* propagation of *Vitis*: the effects of organic substances on shoot multiplication. **Vitis**, Siebeldingen, v. 24, p. 106-118, 1985.
- CHÉE, R.; POOL, R. M.; BUCHER, D. A method for large scale *in vitro* propagation of *Vitis*. **New York's Food and Life Sciences Bulletin**, New York, v. 109, p. 1-9, 1984.
- COMPTON, M. E.; GRAY, D. J. Micropropagation of 'Southern Home' hybrid grape. **Proceedings of the Florida State Horticultural Society**, Wruiter Haven, v. 107, p. 308-310, 1994.
- DZAZIO, P. M.; BIASI, L. A.; ZANETTE, F. Micropropagação do porta-enxerto de videira '420-A'. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 24, n. 3, p. 759-764, 2002.
- GEORGE, E. F. **Plant propagation by tissue culture: the technology**. 2. ed. Edington: Exegetics, 1996. 1574 p.
- GOUSSARD, P. G. Effects of cytokinins on elongation, proliferation and total mass of shoots derived from shoot apices of grapevine cultured *in vitro*. **Vitis**, Siebeldingen, v. 20, n. 3, p. 228-234, 1981.
- GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. (Eds.). **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília, DF: ABCPT/Embrapa-CNPq, 1998. 509 p.
- GRAY, D. J.; BENTON, C. M. Micropropagation and plant establishment of muscadine grape. **Proceedings of Florida State Horticultural Society**, Hruter Haven, v. 103, p. 300-302, 1990.
- GRAY, D. J.; BENTON, C. M. *In vitro* micropropagation and plant establishment of muscadine grape cultivars (*Vitis rotundifolia*). **Plant Cell, Tissue Organ Culture**, Hague, v. 27, n. 1, p. 7-14, 1991.
- GRAY, D. J.; FISHER, L. C. *In vitro* shoot propagation of grape, hybrids and cultivars. **Proceedings of the Florida State Horticultural Society**, Wruiter Haven, v. 98, p. 172-174, 1985.
- HARRIS, R. E.; STEVENSON, J. H. *In vitro* propagation of *Vitis*. **Vitis**, Siebeldingen, v. 21, n. 1, p. 22-32, 1982.

- JONA, R.; WEBB, K. J. Callus and axillary-bud culture of *Vitis vinifera*. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 9, p. 55-60, 1978.
- KORUZA, B.; JELASKA, S. Influence of meristem culture and virus elimination on phenotypical modifications of grapevine (*Vitis vinifera* L., cv. Refosk). **Vitis**, Siebeldingen, v. 32, n. 1, p. 59-60, 1993.
- LEE, N.; WETZSTEIN, Y. *In vitro* propagation of muscadine grape by axillary shoot proliferation. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 115, n. 2, p. 324-329, 1990.
- MARTINELLI, A. Factors affecting *in vitro* propagation of the peach almond hybrids 'Hansen 536'. **Acta Horticulture**, Amsterdam, v. 173, p. 237-244, 1985.
- MHATRE, M.; SALUNKHE, C. K.; RAO, P. S. Micropropagation of *Vitis vinifera* L: towards an improved protocol. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 84, p. 357-363, 2000.
- MEYERSON, M. E.; BENTON, C. M.; GRAY, D. J. A. A comparison of shoot micropropagation among bunch and muscadine grape species and cultivars. **Proceedings of the Florida State Horticultural Society**, Wrunter Haven, v. 107, p. 311-312, 1994.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 15, p. 473-479, 1962.
- NOVÁK, F. J.; JUVOVA, Z. Clonal propagation of grapevine through *in vitro* axillary bud culture. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 18, p. 231-240, 1982.
- PIRES, E. J. P.; BIASI, L. A. Propagação da videira. In: POMMER, C. V. **Uva: tecnologia de produção, pós-colheita e mercado**. Porto Alegre: Cinco Continentes, 2003. p. 295-350.
- QUOIRIN, M.; LEPOIVRE, P. Etude de milieux adaptes aux cultures *in vitro* de *Prunus*. **Acta Horticulturae**, Amsterdam, v. 78, p. 437-442, 1977.
- REISCH, B. I. Influence of genotype and cytokinins on *in vitro* shoot proliferation of grapes. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 111, p. 138-141, 1986.
- ROUBELAKIS-ANGELAKIS, K. A.; ZIVANOVITC, S. B. A new culture medium for *in vitro* rhizogenesis of grapevine (*Vitis* spp.) genotypes. **HortScience**, Alexandria, v. 26, n. 12, p. 1551-1553, 1991.
- SKENE, K. G. M.; BARLASS, M. Micropropagation of grapevine. **International Plant Propagators' Society Combined Proceedings**, [S.l.], v. 30, p. 564-570, 1980.
- SUDARSONO; GOLDY, R. G. Growth regulator and axillary bud position effects on *in vitro* establishment of *Vitis rotundifolia*. **HortScience**, Alexandria, v. 26, n. 3, p. 304-307, 1991.
- TORREGROSA, L.; TORRES-VIÑALS, M.; BOUQUET, A. Somatic embryogenesis from leaves of *Vitis x Muscadinea* hybrids. **Vitis**, Siebeldingen, v. 34, p. 239-240, 1995.
- WETZSTEIN, H. Y.; MYERS, S. C. Vegetative and yield component characteristics of micropropagated muscadine grape (*Vitis rotundifolia* Michx.). **Journal of Horticultural Science**, Ashford, v. 69, n. 4, p. 747-753, 1994.