

MICROPROPAGAÇÃO DO PORTA-ENXERTO DE VIDEIRA JALES¹

LUIZ ANTONIO BIASI², ILENE RIBEIRO DA SILVA PASSOS³ e CELSO VALDEVINO POMMER⁴

RESUMO - Diversos experimentos *in vitro* foram conduzidos visando estudar o comportamento do porta-enxerto de videira Jales. Os explantes foram obtidos a partir de segmentos nodais cultivados em meio de cultura MS com 10 µM de BAP. Foram avaliados meio de cultura, posição do segmento nodal, posição e tamanho da folha do explante durante o subcultivo e aclimatização. Concluiu-se que a multiplicação do porta-enxerto 'Jales' pode ser realizada em meio de cultura MS com a metade da concentração de sais e isento de reguladores de crescimento, por meio do seccionamento das plantas já estabelecidas *in vitro* em segmentos com uma folha. O enraizamento ocorre durante a multiplicação, que apresenta uma taxa média de 3,5 novas plantas por mês, e a aclimatização pode ser feita em recipientes fechados por três semanas, mantendo-se as plantas por mais quatro semanas em câmara de nebulização, antes de serem levadas ao ar livre.

Termos para indexação: cultura de tecidos, *Vitis vinifera*.

MICROPROPAGATION OF JALES GRAPEVINE ROOTSTOCK

ABSTRACT - Several experiments were carried out to study the behavior of Jales grapevine rootstock *in vitro*. Explants were obtained from nodal segments cultured in MS medium with 10 µM of BAP. The effect of different culture media, positions of nodal segments, positions and sizes of explant leaf during subculture, and ways of acclimatization was tested. It was concluded that multiplication of Jales grapevine rootstock can be done in free growth regulators half strength MS medium through subculture of established plants in nodal segments with one leaf. Rooting occurs during multiplication, which represents an average index of 3.5 new plants per month. The acclimatization can be made initially in closed containers for three weeks, keeping plants for more four weeks under intermittent mist before taken to open air.

Index terms: tissue culture, *Vitis vinifera*.

INTRODUÇÃO

A cultivar de videira Jales (IAC 572) pertence à série dos porta-enxertos Tropicais, lançados pelo Instituto Agrônomo (Pommer, 1993), e é um dos mais importantes porta-enxertos indicados para regiões de clima quente. Nessas regiões, a viticultura tem-se expandido rapidamente, gerando uma grande

demanda de material vegetativo sadio para a formação dos vinhedos. Desta forma, a micropropagação pode ser uma alternativa viável para a multiplicação em larga escala de plantas para porta-enxertos ou matrizes.

A micropropagação de videiras consiste basicamente no processo de enraizamento de brotações axilares ou adventícias multiplicadas *in vitro*, para a regeneração de plantas inteiras. Esse processo possibilita a rápida multiplicação de plantas, a obtenção de plantas-matrizes livres de vírus, a propagação de híbridos e a preservação de germoplasmas de interesse (Krul & Mowbray, 1984).

Os explantes normalmente utilizados são segmentos nodais (Gribaudo & Fronda, 1991), ápices meristemáticos (Chée & Pool, 1982; Yu & Meredith, 1986) e meristemas (Passos et al., 1985; Troncoso et al., 1988; Koruza & Jelaska, 1993).

¹ Aceito para publicação em 16 de outubro de 1997.

Extraído da tese de doutorado do primeiro autor.

² Eng. Agr., Dr., Dep. de Fitotecnia e Fitossanitarismo, Setor de Ciências Agrárias, UFPR, Caixa Postal 2959, CEP 80001-970 Curitiba, PR. E-mail: labiasi@gaia.agrarias.ufpr.br

³ Eng. Agr., M.Sc., Seção de Viticultura, Instituto Agrônomo (IAC), Caixa Postal 28, CEP 13001-970 Campinas, SP.

⁴ Eng. Agr., Dr., IAC. Bolsista do CNPq.

Os segmentos nodais constituem-se de micro-estacas com apenas uma gema lateral mais uma pequena porção dos tecidos adjacentes do caule e pecíolo, variando de 0,8 a 2,5 cm de comprimento (Mullins et al., 1979; Martinez & Tizio, 1989; Gribaudo & Fronda, 1991).

A micropropagação é uma alternativa viável na multiplicação de videiras muscadíneas que tem despertado grande interesse para o melhoramento de plantas, mas cuja propagação através de estacas lenhosas é muito difícil (Gray & Fisher, 1985; Gray & Benton, 1990, 1991; Lee & Wetzstein, 1990; Thies & Graves Junior, 1992; Wetzstein & Myers, 1994).

O potencial de multiplicação *in vitro* da videira é elevado, com estimativas anuais de 2.808.990 brotações da cultivar Thompson Seedless, 26.494 brotações da Ribier e 1.213 da Black Seedless em meio MS com 2 mg/L de BAP, a partir de um explante (Botti et al., 1993). Harris & Stevenson (1982) estabeleceram um protocolo capaz de produzir 12.000 brotações em quatro meses a partir de apenas um ápice meristemático. Na cultura de ápices fragmentados, Barlass & Skene (1978) estimaram a produção de aproximadamente 8.000 plantas da cultivar Cabernet Sauvignon em quatro meses, também a partir de apenas um ápice.

Lewandowski (1991) obteve cerca de 3.000 plantas de videira Delaware por mês, utilizando um meio MS modificado e reduzindo os intervalos de repicagem, mas ressaltou a importância de novos isolamentos anualmente, em combinação com uma proliferação limitada de brotações, para reduzir o risco da variação somaclonal.

Este trabalho foi realizado para definir um protocolo para a micropropagação do porta-enxerto 'Jales' a partir de segmentos nodais.

MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Biotecnologia da Seção de Viticultura do Instituto Agrônomo de Campinas (IAC), SP. Foram avaliados a posição do segmento nodal da brotação das estacas, meio de cultura, tamanho da folha e posição do explante e aclimatização.

Para o fornecimento de explantes foram utilizadas estacas lenhosas do porta-enxerto 'Jales' armazenadas em

câmara fria, de acordo com a metodologia de Goussard (1981).

Em todos os experimentos foram utilizados 10 frascos por parcela, com um explante em cada frasco.

Posição do segmento nodal

Foi avaliado o efeito da posição do segmento nodal da brotação das estacas sobre o tamanho da brotação da gema axilar dos explantes.

Os tratamentos foram sete posições dos segmentos nodais, contadas a partir do primeiro nó abaixo do ápice da brotação da estaca. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com quatro repetições.

A assepsia da brotação das estacas foi realizada pela imersão em solução de Agrimicina (1 g/L) durante 30 minutos, seguida pela imersão em solução de hipoclorito de sódio a 1% mais Tween 80 a 0,1% por 15 minutos e quatro lavagens em água esterilizada.

O ápice das brotações foi desprezado e o restante foi dividido em segmentos nodais com cerca de 1 cm de comprimento e possuindo uma gema. O meio de cultura utilizado foi o MS (Murashige & Skoog, 1962) com a metade da concentração de sais, 30 g/L de sacarose, 6,5 g/L de ágar e suplementado com 10 μ M de BAP.

A avaliação do experimento foi realizada 40 dias após sua instalação pelo comprimento da brotação, da gema axilar do explante.

Meio de cultura

O delineamento experimental foi em blocos ao acaso, com quatro repetições. Os tratamentos foram os seguintes meios de cultura, isentos de reguladores de crescimento: MS, MS/2 (MS com a metade da concentração de sais), NN (Nitsch & Nitsch, 1969), GZ(64) (Galzy, 1964) e GZ(90) (Galzy, 1990). A concentração de sacarose utilizada foi de 30 g/L nos meios MS e MS/2, 20 g/L no NN e 15 g/L nos GZ(64) e GZ(90).

Os explantes consistiram em segmentos nodais com uma folha, obtidos pelo segundo subcultivo de plantas do porta-enxerto 'Jales' que estavam crescendo em meio de cultura GZ(90) acrescido de 1 μ M de BAP.

A avaliação do experimento foi realizada 33 dias após a transferência, pelas variáveis: comprimento das brotações, número de folhas por brotação, comprimento médio dos entrenós, porcentagem de enraizamento, número de raízes por explante e porcentagem de explantes oxidados.

Presença e tamanho da folha e posição do explante

Foram conduzidos dois experimentos, utilizando-se explantes de plantas do segundo subcultivo em meio

MS/2 isento de reguladores de crescimento. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com três repetições.

Os tratamentos do primeiro experimento consistiram de explantes com as seguintes características: sem folha e com folhas pequenas ($\pm 0,5$ cm de diâmetro), médias (± 1 cm de diâmetro) e grandes ($\pm 1,5$ cm de diâmetro).

No segundo experimento foram avaliadas as seguintes posições dos explantes a partir do ápice: ápice com uma folha em expansão; primeiro segmento abaixo do ápice com uma folha; segundo segmento abaixo do ápice com uma folha; e terceiro segmento abaixo do ápice com uma folha.

O experimento foi avaliado após 30 dias pelas variáveis: comprimento das brotações, número de folhas por brotação, porcentagem de brotação, porcentagem de enraizamento e número de raízes por explante.

Aclimatização

A aclimatização foi realizada dentro de uma câmara de nebulização em recipientes individuais preenchidos com o substrato comercial Multiplant. Os recipientes consistiram de copos de plástico descartáveis de 200 mL com furos na parte basal.

Foram utilizadas plantas provenientes do terceiro subcultivo, sendo escolhidas aquelas com tamanho semelhante, com quatro folhas e bem enraizadas.

Após a retirada dos frascos, as raízes foram lavadas em água corrente para retirar o meio de cultura e as plantas colocadas numa bandeja com água, onde permaneceram até o momento do transplante.

O delineamento experimental foi em blocos ao acaso, com quatro repetições e dez plantas por parcela. Os tratamentos consistiram em aclimatizar as plantas em recipientes abertos e em recipientes fechados.

Nos recipientes abertos, as plantas foram colocadas em copos de plástico e deixadas sob nebulização.

Nos recipientes fechados, os copos de plástico com as plantas foram cobertos com outro copo, de 300 mL. O copo com a planta foi colocado dentro de outro, de mesmo tamanho, contendo uma camada de 1 cm de vermiculita no fundo e sem perfuração, para evitar que o substrato secasse, pois estando coberto não recebia a água da nebulização.

Aos 21 dias, o experimento foi avaliado pela sobrevivência das plantas.

Após a abertura dos recipientes, as plantas permaneceram em média por mais quatro semanas na câmara de nebulização, quando foram transferidas para os recipientes ao ar livre.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Posição do segmento nodal

A perda de explantes por contaminação foi em média de 7,1% em todo o experimento, o que indica que a assepsia utilizada foi eficiente.

A análise de variância do efeito da posição do segmento nodal revelou significância estatística quanto ao comprimento das brotações, sendo este efeito melhor representado pela regressão linear.

O crescimento das brotações dos segmentos nodais foi maior, à medida que se utilizaram segmentos mais próximos da base das brotações das estacas (Fig. 1). Os segmentos mais basais apresentaram-se maiores e mais lignificados do que os apicais, o que pode ter contribuído com maiores reservas nutricionais para o crescimento das gemas axilares.

Meio de cultura

O efeito dos meios de cultura foi significativo em todas as variáveis analisadas, com exceção de comprimento médio dos entrenós.

Os meios de cultura GZ(64) e GZ(90) apresentaram elevada oxidação, menor crescimento da brotação e menor número de folhas por planta, não diferindo do meio MS (Tabela 1).

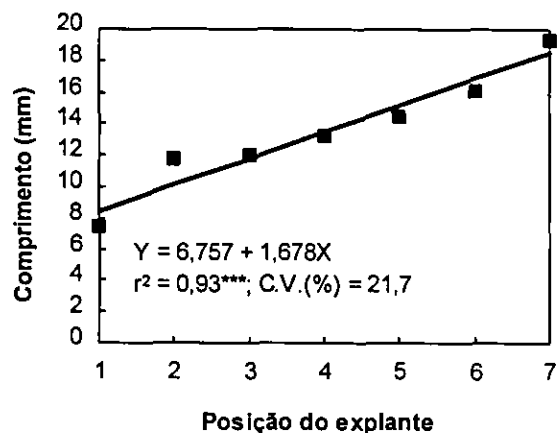


FIG. 1. Efeito da posição do segmento nodal da brotação das estacas sobre o tamanho da brotação da gema axilar dos explantes do porta-enxerto de videira Jales.

O meio MS com a concentração normal de sais também foi prejudicial para a porcentagem de enraizamento e para o número de raízes emitidas por explante, sendo inferior a todos os outros meios (Tabela 1).

Os melhores resultados foram obtidos com os meios NN e MS/2 que não diferiram entre si, significativamente em nenhuma variável analisada, apesar de o meio MS/2 apresentar valores superiores ao NN (Tabela 1). Tal comportamento deve ter ocorrido em virtude da grande semelhança na composição química desses meios.

Com o meio MS/2 foram obtidas 3,9 folhas por brotação, o que representa, em termos de taxa de multiplicação, praticamente quatro novas plantas em 33 dias.

A redução na concentração de macros e micronutrientes do meio MS é comum na micropropagação de videiras (Ciccotti, 1982; Harris

& Stevenson, 1982; Fanizza et al., 1984; Blazina et al., 1991b; Botti et al., 1993). Geralmente são utilizadas concentrações reduzidas a 3/4, 1/2 e 1/4 do meio básico de MS, principalmente na fase de enraizamento das brotações (Ciccotti, 1982; Harris & Stevenson, 1982; Botti et al., 1993).

Presença e tamanho da folha e posição do explante

A presença da folha foi muito importante para o desenvolvimento do explante. Os segmentos nodais sem folha apresentaram-se significativamente inferiores aos segmentos com folha em todas as variáveis analisadas, com baixo enraizamento (20%), pouca brotação da gema axilar (26,7%) e crescimento insignificante. Já os segmentos com folha apresentaram 100% de explantes com brotação, elevado enraizamento e bom crescimento da gema axilar (Tabela 2).

TABELA 1. Efeito de diferentes meios de cultura sobre o crescimento do porta-enxerto de videira Jales¹.

Meios de cultura	Oxidação (%) ²	Enraizamento (%) ²	Número de raízes/explante	Comprimento da brotação (mm)	Comprimento dos entrenós (mm)	Número de folhas/brotação
MS/2	5,0b	35,0a	2,8a	21,1a	5,3a	3,9a
NN	10,0b	40,0a	2,0a	18,5a	5,3a	3,5a
MS	17,5ab	2,5b	1,0b	11,4b	5,2a	2,1b
GZ(90)	15,0ab	60,0a	2,1a	7,8b	4,9a	1,6b
GZ(64)	32,5a	37,5a	2,3a	6,3b	3,9a	1,5b
C.V.(%)	41,1	24,9	21,1	20,4	15,5	21,7

¹ Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

² Dados transformados em $\arcsen(x/100)^{1/2}$.

TABELA 2. Efeito da presença e do tamanho da folha do explante na multiplicação do porta-enxerto de videira Jales¹.

Tamanho	Comprimento da brotação (cm)	Enraizamento (%)	Brotação (%)	Número de folhas/brotação	Número de raízes/planta
Sem folha	0,2c	20,0b	26,7b	0,7b	0,5b
Pequena	2,3b	93,3a	100,0a	3,3a	1,8a
Média	2,7ab	100,0a	100,0a	3,4a	2,5a
Grande	3,1a	100,0a	100,0a	3,7a	2,3a
C.V.(%)	8,8	14,7	7,1	9,7	18,9

¹Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Novák & Juvová (1983) também observaram que a remoção das folhas dos explantes afetou negativamente o enraizamento do porta-enxerto 'André', em meio com 0,1 μM de BAP. O efeito prejudicial da retirada das folhas dos explantes também ocorreu com a cultivar Remailly Seedless, reduzindo a porcentagem de brotações com pelo menos três nós, o número de nós por brotação e o número total de nós por explante (Chée & Pool, 1989).

Os diferentes tamanhos de folha apenas diferiram significativamente quanto ao comprimento da brotação da gema axilar, em que explantes com folhas grandes (em torno de 1,5 cm de diâmetro) foram superiores aos com folhas pequenas (em torno de 0,5 cm de diâmetro), mas não diferiram dos com folhas médias (em torno de 1 cm de diâmetro) (Tabela 2).

O subcultivo de explantes com folha demonstrou ser indispensável à multiplicação do porta-enxerto 'Jales', possivelmente pela produção de substâncias necessárias ao enraizamento e crescimento por meio da fotossíntese, que ocorre *in vitro*, apesar de sofrer uma redução em condições heterotróficas (Galzy & Compan, 1992), principalmente porque ao meio de cultura utilizado para a multiplicação neste experimento não foram adicionados reguladores de crescimento. Esse fato assemelha-se com o que ocorre na estaquia semilenhosa (Davis, 1988), na qual a presença das folhas nas estacas é importante como fonte de auxinas e carboidratos para a formação adventícia de raízes.

A posição do explante não afetou o número de folhas nem o número de raízes emitidas por planta (Tabela 3), mas verificaram-se regressões quadráticas

TABELA 3. Efeito da posição do explante na multiplicação do porta-enxerto de videira Jales.

Posição	Número de folhas/brotação	Número de raízes/planta
Ápice	3,3	2,0
1º segmento	3,2	1,9
2º segmento	3,4	2,1
3º segmento	2,9	1,8
C.V.(%)	11,1	21,3

significativas em comprimento da brotação, porcentagem de enraizamento e porcentagem de brotação.

Por meio das curvas de regressão observou-se que o primeiro segmento abaixo do ápice apresentou-se próximo aos pontos de máximo comprimento da brotação (Fig. 2), porcentagem de enraizamento e de brotação (Fig. 3). Os menores valores encontra-

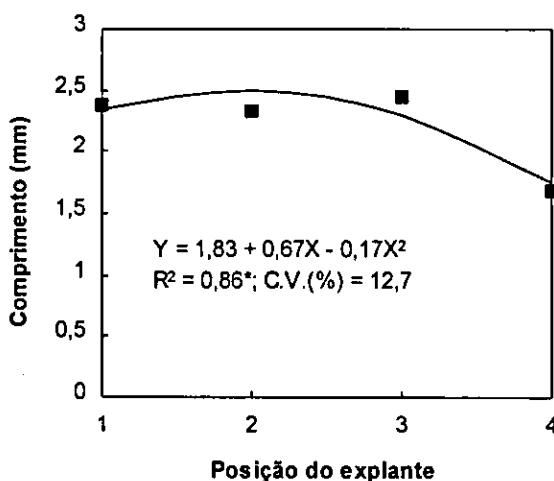


FIG. 2. Efeito da posição do explante sobre o tamanho da brotação dos segmentos nodais do porta-enxerto de videira Jales.

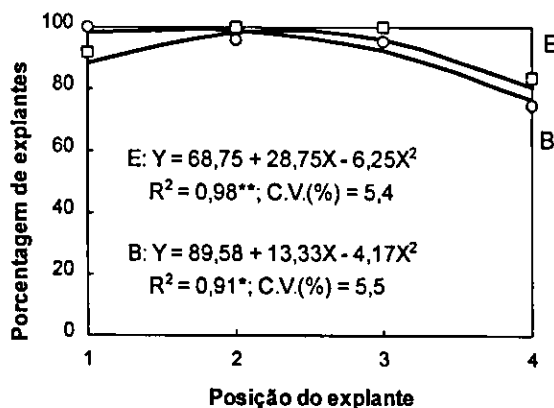


FIG. 3. Efeito da posição do explante sobre a porcentagem de enraizamento (E) e brotação (B) dos segmentos nodais do porta-enxerto de videira Jales.

dos na porção apical podem estar associados ao menor tamanho da folha ainda não totalmente expandida, pois a área foliar é importante para o crescimento das brotações.

Já o decréscimo destes parâmetros nas posições mais basais dos explantes, provavelmente não está relacionado com a área foliar, já que o tamanho das folhas nestas posições foi muito semelhante. Possivelmente o balanço interno hormonal nas posições inferiores seja menos favorável ao enraizamento e crescimento, talvez por um menor conteúdo de auxinas nestas regiões, devido ao gradiente de concentração formado pelo seu transporte polar basípeto (Goldsmith, 1966).

Aclimatização

A aclimatização das plantas em recipientes fechados, dentro da câmara de nebulização, proporcionou 100% de sobrevivência, enquanto nos recipientes abertos foi de 92,5% (Tabela 4). De qualquer forma, a sobrevivência foi alta, concordando com os resultados de Galzy (1964), Blazina et al. (1991a) e Lewandowski (1991) para diversas outras cultivares de videira.

O uso de recipientes fechados apresentou maior sobrevivência da cultivar Arka Neelamani, em pequenos sacos plásticos fechados na parte superior, por um período de três semanas, do que em potes plásticos comerciais, específicos para este fim (Ravindra & Thomas, 1995). Este tipo de aclimatização e o utilizado no presente estudo evitam a passagem por diversas fases para redução gradativa da umidade, como naquele utilizado por Lewandowski (1991).

TABELA 4. Efeito de diferentes formas de aclimatização na sobrevivência das plantas do porta-enxerto de videira Jales¹.

Recipientes	Sobrevivência (%)
Fechados	100,0a
Abertos	92,5b
C.V.(%)	3,6

¹ Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

CONCLUSÕES

1. O cultivo inicial dos explantes deve ser realizado em meio de cultura MS/2 acrescido de 10 µM de BAP.
2. A multiplicação e o enraizamento dos explantes são otimizados pelo subcultivo de segmentos com uma ou mais folhas.
3. A aclimatização em recipientes fechados por três semanas aumenta a sobrevivência das plantas.

REFERÊNCIAS

- BARLASS, M.; SKENE, K.G.M. *In vitro* propagation of grapevine (*Vitis vinifera* L.) from fragmented shoot apices. *Vitis*, v.17, p.335-340, 1978.
- BLAZINA, I.; KOROSK-KORUZA, Z.; RAVNIKAR, M.; ZOLNIR, M.; GOGALA, N. Regeneration and micropropagation of the grapevine (*Vitis vinifera* L. 'Zelen') from shoot tip meristems. *Acta Horticulturae*, n.300, p.123-126, 1991a.
- BLAZINA, I.; RAVNIKAR, M.; ZOLNIR, M.; KOROSK-KORUZA, Z.; GOGALA, N. Regeneration of GFLV-free grapevines and synchronization of micropropagation in vitro. *Acta Horticulturae*, n.289, p.87-88, 1991b.
- BOTTI, C.; GARAY, L.; REGINATO, G. The influence of culture dates, genotype and size and type of shoot apices on *in vitro* shoot proliferation of *Vitis vinifera* cvs. Thompson Seedless, Ribier and Black Seedless. *Vitis*, v.32, n.2, p.125-126, 1993.
- CHÉE, R.; POOL, R.M. Morphogenic responses to propagule trimming, spectral irradiance, and photoperiod of grapevine shoots recultured in vitro. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, v.114, n.2, p.350-354, 1989.
- CHÉE, R.; POOL, R.M. The effects of growth substances and photoperiod on the development of shoot apices of *Vitis* cultured in vitro. *Scientia Horticulturae*, v.16, n.1, p.17-27, 1982.
- CICCOTTI, A.M. Micropropagazione di *Vitis vinifera* L. cvs. Moscato d'Amburgo e Pinot bianco. *Esperienze e Ricerche*, v.11, p.73-81, 1982.
- DAVIS, T.D. Photosynthesis during adventitious rooting. In: DAVIS, T.D.; HAISSIG, B.E.; SANKHLA, N. (Eds.). *Adventitious root formation in cuttings*. Portland: Dioscorides Press, 1988. ch.16, p.214-234.

- FANIZZA, G.; TANZARELLA, O.A.; CARROZZO, G. Influence of *Vitis* source on in vitro shoot apex culture. **Annals of Applied Biology**, v.104, p.577-578, 1984.
- GALZY, R. Remarques sur la nutrition carbonée de la vigne cultivée *in vitro*. **Bulletin de l'Office International de la Vigne et du Vin**, v.63, n.707/708, p.5-20, 1990.
- GALZY, R. Technique de thérapie des viroses de la vigne. **Annales de Epiphyties**, v.15, n.3, p.245-256, 1964.
- GALZY, R.; COMPAN, D. Remarks on mixotrophic and autotrophic carbon nutrition of *Vitis* plantlets cultured *in vitro*. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v.31, n.3, p.239-244, 1992.
- GOLDSMITH, M.H.M. Maintenance of polarity of auxin movement by basipetal transport. **Plant Physiology**, v.41, p.749-754, 1966.
- GOUSSARD, P.G. Effects of cytokinins on elongation, proliferation and total mass of shoots derived from shoot apices of grapevine cultured in vitro. **Vitis**, v.20, n.3, p.228-234, 1981.
- GRAY, D.J.; BENTON, C.M. In vitro micropropagation and plant establishment of muscadine grape cultivars (*Vitis rotundifolia*). **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v.27, n.1, p.7-14, 1991.
- GRAY, D.J.; BENTON, C.M. Micropropagation and plant establishment of muscadine grape. **Proceedings of the Florida State Horticultural Society**, v.103, p.300-302, 1990.
- GRAY, D.J.; FISHER, L.C. In vitro shoot propagation of grape species, hybrids and cultivars. **Proceedings of the Florida State Horticultural Society**, v.98, p.172-174, 1985.
- GRIBAUDO, I.; FRONDA, A. Effects of thidiazuron on grapevine axillary buds cultivated in vitro. **HortScience**, v.26, n.8, p.1083, 1991.
- HARRIS, R.E.; STEVENSON, J.H. *In vitro* propagation of *Vitis*. **Vitis**, v.21, n.1, p.22-32, 1982.
- KORUZA, B.; JELASKA, S. Influence of meristem culture and virus elimination on phenotypical modifications of grapevine (*Vitis vinifera* L., cv. Refosk). **Vitis**, v.32, n.1, p.59-60, 1993.
- KRUL, W.R.; MOWBRAY, G.H. Grapes. In: SHARP, W.R.; EVANS, D.A.; AMMIRATO, P.V.; YAMADA, Y. (Eds.). **Handbook of Plant Cell Culture**. New York: Macmillan Pub. Co., 1984. ch.6, p.396-434.
- LEE, N.; WETZSTEIN, Y. In vitro propagation of muscadine grape by axillary shoot proliferation. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v.115, n.2, p.324-329, 1990.
- LEWANDOWSKI, V.T. Rooting and acclimatization of micropropagated *Vitis labrusca* 'Delaware'. **HortScience**, v.26, n.5, p.586-589, 1991.
- MARTINEZ, E.A.; TIZIO, R. Grapevine micropropagation through shoot tips and minicuttings from in vitro cultured one-node cuttings. **HortScience**, v.24, n.3, p.513, 1989.
- MULLINS, M.G.; NAIR, Y.; SAMPET, P. Rejuvenation *in vitro*: induction of juvenile characters in an adult clone of *Vitis vinifera* L. **Annals of Botany**, London, v.44, p.623-627, 1979.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, v.15, p.473-479, 1962.
- NITSCH, J.P.; NITSCH, C. Haploid plants from pollen grains. **Science**, v.163, p.85-87, 1969.
- NOVÁK, F.J.; JUVOVÁ, Z. Clonal propagation of grapevine through in vitro axillary bud culture. **Scientia Horticulturae**, v.18, n.3, p.231-240, 1983.
- PASSOS, I. R. da S.; SONDAHL, M.R.; RIBEIRO, I.J.A.; TERRA, M.M.; PIRES, E.J.P. Cultura in vitro de meristemas de videira. I. Concentrações do hormônio 6-BA em meio primário. **Bragantia**, v.44, n.1, p.473-479, 1985.
- POMMER, C.V. Uva. In: FURLANI, A.M.C.; VIEGAS, G.P. (Eds.). **O melhoramento de plantas no Instituto Agronômico**. Campinas: Instituto Agronômico, 1993. cap.13, p.489-524.
- RAVINDRA, M.B.; THOMAS, P. Sachet technique - an efficient method for the acclimatization of micropropagated grapes (*Vitis vinifera* L.). **Current Science**, v.68, n.5, p.546-548, 1995.
- THIES, K.L.; GRAVES JUNIOR, C.H. Meristem micropropagation protocols for *Vitis rotundifolia* Michx. **HortScience**, v.27, n.5, p.447-449, 1992.

- TRONCOSO, A.; CANTOS, M.; LIÑÁN, J.; PRIETO, J.; SARMIENTO, R. The use of *in vitro* culture and tubular container system to propagate selected grapevine plants for sherry wine production. *Acta Horticulturae*, n.227, p.358-362, 1988.
- WETZSTEIN, H.Y.; MYERS, S.C. Vegetative and yield component characteristics of micropropagated muscadine grape (*Vitis rotundifolia* Michx.). *Journal of Horticultural Science*, v.69, n.4, p.747-753, 1994.
- YU, D.; MEREDITH, C.P. The influence of explant origin on tissue browning and shoot production in shoot tip cultures of grapevine. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, v.111, n.6, p.972-975, 1986.