

## **Aclimatização de plantas de porta-enxertos de macieira (*Malus domestica*), provenientes da micropropagação em substratos porosos.**

Vieira, Renato Luís<sup>1</sup>; [Andrade, Giuliano Dragone Sabbatino Calmont<sup>2</sup>](#)

<sup>1</sup> Pesquisador da Epagri - Estação Experimental de Caçador, Caixa Postal 591, CEP 89500-000, Caçador, SC, fone (49) 3561-2000, email: [revieira@epagri.rct-sc.br](mailto:revieira@epagri.rct-sc.br); <sup>2</sup> Acadêmico do curso de Engenharia da Horticultura da Fundação Universidade do Contestado – UnC, Caixa Postal 232, CEP 89500-000, Caçador, SC, fone (49) 3561-6200, email: [gdraga6@hotmail.com](mailto:gdraga6@hotmail.com)

### **INTRODUÇÃO**

Os métodos de propagação *in vitro* são bastante eficientes na multiplicação de fruteiras de clima temperado, tanto das matrizes como dos porta-enxertos, oferecendo maior segurança no aspecto fitossanitário das mudas produzidas em comparação com os métodos convencionais. Entretanto, o enraizamento e a aclimatização são pontos críticos na micropropagação, podendo, em alguns casos, limitar este processo. Para Collet & Lê (1987) e Alvarez et al. (1989), a propagação clonal *in vitro* de espécies lenhosas é dificultada principalmente porque muitas delas não produzem raízes. Por outro lado, o genótipo da planta determina diferentes respostas nos diferentes estágios da micropropagação e/ou no enraizamento (Marks, 1991; Haissig et al., 1992).

O processo de aclimatização consiste em retirar a planta da condição *in vitro* e transferir-la para a casa de vegetação, controlando fatores que possam limitar o desenvolvimento das plantas, como temperatura, luminosidade, água, substratos e nutrientes (Grattapaglia & Machado, 1990). Outro fator determinante para um bom desempenho das plantas durante o processo de aclimatização é a qualidade das raízes desenvolvidas *in vitro*, pela sua influência direta na taxa de sobrevivência.

Apesar de o ágar ser o agente solidificante mais utilizado, diversos autores tem citado problemas na qualidade do enraizamento. Hutchinson (1984), trabalhando com macieira, observou um pobre crescimento das raízes em ágar, apesar de apresentar mais de 90% de iniciação radicular. Pierik (1988) afirma que as raízes formadas *in vitro* não se apresentam totalmente funcionais quando transferidas para *in vivo*, sendo fracas e com poucos pelos absorventes, geralmente morrendo logo após. Debergh & Maene (1981), citaram a mesma razão para a perda de crescimento das brotações enraizadas *in vitro* após transferidas para *in vivo*. Segundo eles, raízes crescidas em ágar geralmente não possuem pelos absorventes, podendo vir a morrer logo após o transplante. Em trabalho de Leite (1995), a adição de vermiculita ao meio de enraizamento, melhorou o crescimento e a qualidade de raízes de plantas de pêra e, após o transplante em casa de vegetação, a taxa de sobrevivência também foi aumentada.

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do enraizamento *in vitro* de plantas de porta-enxertos de macieira, em substratos porosos, na porcentagem de sobrevivência e produção de matéria seca após o período de aclimatização.

### **MATERIAL E MÉTODOS**

Este trabalho foi realizado no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais da Epagri/Estação Experimental de Caçador, SC.

**Enraizamento *in vitro*:** Visando identificar o melhor substrato para enraizamento, brotações de porta-enxertos de macieira provenientes do quinto subcultivo, com 2,5 a 3,0 cm de comprimento e com dois pares de folhas, foram repicados para meio MS (Murashige & Skoog, 1962) reduzido a metade da concentração, suplementado com 1mg.L<sup>-1</sup> de ácido idolacético (AIA), 100 mg.L<sup>-1</sup> de mio inositol e 30g.L<sup>-1</sup> de sorbitol, contendo diferentes substratos: ágar, cinza vegetal e vermiculita (nº 2, granulometria média).

Para a vermiculita e a cinza vegetal, 25 ml de meio nutritivo foi adicionado em cada frasco de vidro de 250 mL contendo 15 g dos respectivos substratos e em seguida esterilizado em autoclave durante 15 minutos a 120°C. Durante 30 dias, os frascos foram mantidos em sala de crescimento com temperatura de 25 ±1,5°C, fotoperíodo de 16 horas com intensidade luminosa de 75 μmol.m<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup>.

Completado o período de enraizamento *in vitro*, as plantas foram repicadas para bandejas de isopor alveoladas (128 células) contendo 100 mL de substrato comercial Plantmax® por célula. As bandejas foram mantidas por 28 dias em casa de vegetação com temperatura de 25 ±3°C e recebendo a irrigação por aspersão, sendo esta controlada em função das perdas provocadas por evapotranspiração, medida em minitanque Classe A.

Após o período de 28 dias, as plantas, já aclimatizadas, foram avaliadas quanto ao percentual de sobrevivência e produção de matéria seca.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com 5 repetições, e 20 plantas por repetição. Os resultados foram submetidos à análise de variância, sendo que os dados de porcentagem foram transformados em arco-seno  $\sqrt{x/100}$ , conforme Sokal e Rohlf (1995). Para a comparação de médias foi utilizado o teste de Duncan, a 5% de probabilidade.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após 28 dias da repicagem das plantas enraizadas para as bandejas alveoladas, a sobrevivência de plantas variou de 79,2 a 97,6%. A maior porcentagem de sobrevivência (97,6%) foi observada nas plantas enraizadas em meio contendo vermiculita, apresentando diferença significativa com as porcentagens observadas nas plantas enraizadas no ágar e na cinza vegetal. Com relação à matéria seca produzida pelas raízes e parte aérea, constatou-se uma variação desse parâmetro de 22 a 36,8% sendo que o tratamento com plantas enraizadas no meio contendo vermiculita apresentou diferença significativa em relação aos demais tratamentos (Tabela 1). Pela análise estatística, não se detectaram diferenças entre as plantas enraizadas no ágar e na cinza vegetal, para nenhuma das características analisadas. Apesar do resultado superior obtido com a cinza vegetal, em relação ao ágar, esperava-se um desempenho melhor deste substrato. Porém, o fraco desempenho pode ser atribuído ao fato da cinza vegetal ser um substrato industrial, originado da caldeira da indústria madeireira e apresenta granulometria inferior a da vermiculita e, por ser um produto de origem industrial, apresenta resíduos de substâncias químicas que podem ser tóxicas às raízes das plantas, como por exemplo o sódio.

Tabela 1. Porcentagem de sobrevivência e de matéria seca da parte aérea e das raízes de plantas de porta-enxertos de macieira aclimatizadas, em função do tipo de substrato utilizado no enraizamento *in vitro*.

Substrato utilizado no enraizamento <i>in vitro</i>	Sobrevivência de plantas após aclimatização* (%)	Porcentagem de matéria seca das plantas aclimatizadas (%)
Vermiculita	97,6 a	36,8 a
Cinza vegetal	82,4 b	23,4 b
Ágar	79,2 b	22,0 b
C.V. (%)	6,7	8,9

Médias seguidas de mesmas letras nas colunas não diferem entre si pelo teste de Duncan a 5%. \*Valores transformados em arco-seno  $\sqrt{x/100}$ .

Em avaliações visuais, a vermiculita adicionada ao meio MS 50% para indução do enraizamento, proporcionou um sistema radicular mais rústico, com ramificações e presença de pelos absorventes que foram determinantes para a obtenção da alta taxa de sobrevivência de plantas (Figura 1). Esta conformação de raízes, já constatadas por Gratapaglia & Machado (1990), Leite et al. (2002) e, mais recentemente, por Vieira et al. (2006), se deve, em parte, a uma forma de aeração que tende a estimular a formação de um sistema radicular com maior volume. Pelos resultados obtidos neste trabalho, pôde-se inferir que o desenvolvimento de raízes destituídas de pelos absorventes, no meio com ágar, são ineficientes após o transplante para um substrato aerado, causando perda de vigor das plantas em casa de vegetação.



Figura 1. Arquitetura do sistema radicular de plantas de porta-enxertos de macieira (*Malus doméstica*), aos 28 dias após a repicagem para substrato Plantmax<sup>®</sup>, em função do tipo de substrato utilizado no enraizamento *in vitro*; A) Planta enraizada em meio de cultura contendo vermiculita; B) Planta enraizada em meio de cultura contendo ágar (Caçador -SC, 2007).

## CONCLUSÃO

As maiores porcentagens de sobrevivência e produção de matéria seca obtidas neste trabalho, evidenciam que plantas de macieira provenientes de enraizamento *in vitro*, utilizando a vermiculita como suporte físico, possibilita ganhos substanciais na etapa de aclimatização.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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

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

DEBERGH, P.C.; MAENE, L.J. A scheme for commercial propagation of ornamental plants by tissue culture. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v.14, p.335-345, 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, 433p.

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

HUTCHINSON, J.F. Factors affecting shoot proliferation and root initiation in organ cultures of the apple "Northern spy". **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v.22, p.347-358, 1984.

LEITE, G.B. **Efeito de reguladores de crescimento, substratos, sacarose e intensidade luminosa na micropropagação de pereira (*Pyrus communis* L.) cv. Bartlett e do clone OH x F97**, 1995. 50f. Dissertação (Mestrado em Fruticultura de Clima Temperado) – Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade federal de pelotas – RS, Pelotas, 1995.

LEITE, G.B.; FINARDI, N.L.; FORTES, G.R.L. **Use of vermiculite as a substrate and effect of light on *in vitro* rooting of pears, cv. Bartlett and clone OHxF 97**. *Ciência e Agrotecnologia*. Lavras, v.26, n.5, p.977-982, 2002.

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

MURASHIGE, T.E.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.15, p.473-479, 1962.

PIERIK, R.L.M. Handicaps for the large scale commercial application of micropropagation. **Acta Horticulturae**, Wageningen, v.230, p.63-71, 1988.

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

VIEIRA, R. L.; LEITE, G. B.; WAMSER, A. F.; Efeito se substratos porosos no enraizamento *in vitro* do porta-enxerto de macieira M-9 (*Malus pumilla*). In: ENCONTRO NACIONAL SOBRE FRUTICULTURA DE CLIMA TEMPERADO, 9., 2006, Fraiburgo. **Anais...** Fraiburgo: Epagri, 2006. p. 41.

## PALAVRAS-CHAVES

*Malus domestica*; Vermiculita; cultivo *in vitro*