

MULTIPLICAÇÃO DE *Malus domestica* CV. MAXI GALA EM DIFERENTES MEIOS DE CULTURA

CAMILA FERNANDA DE OLIVEIRA JUNKES¹; LUÍS EDUARDO PANOZZO²;
JOSÉ ANTONIO PETERS³

¹PPG Fisiologia Vegetal, UFPEL – camila.nanda.junkes@gmail.com

²Instituto de Física e Matemática, UFPEL – lepanozzo@gmail.com

³Departamento de Botânica, UFPEL – japeters1@hotmail.com

1. INTRODUÇÃO

A macieira é uma cultura de grande interesse econômico na região sul do Brasil. Suas mudas são normalmente obtidas a partir da enxertia de uma cultivar copa sobre um porta-enxerto, mas esse processo demanda muito tempo (devido ao longo período de juvenildade da espécie), mão de obra e a disponibilidade de grande espaço físico, além de possibilitar a propagação de material com problemas fitossanitários (BARBOSA et al., 1986; DENARDI & LEITE, 1996).

Esses problemas podem ser superados mediante a propagação *in vitro*, uma tecnologia para a propagação assexuada de mudas em larga escala sob condições controladas, gerando plantas durante o ano todo, possibilitando a manutenção das características genéticas (COUTO, 2003) e melhor qualidade sanitária em relação aquele obtido por técnicas convencionais como estaquia e mergulhia de cepa (BIANCHI et al., 2003). A micropropagação é uma biotecnologia altamente dependente do genótipo, sendo necessário o ajuste do protocolo mais adequado para cada espécie/cultivar em estudo (SCHUCH; ERIG, 2005; MACHADO et al., 2013), já que cada qual responde de forma diferenciada, podendo ocorrer alterações no padrão de desenvolvimento das brotações (BORGHEZAN et al., 2003; CAMPOS et al., 2007) Dentre os fatores mais importantes que interferem no desenvolvimento de brotações *in vitro* destacam-se o tipo de meio de cultura utilizado, suplemento de reguladores de crescimento (em especial as citocininas), tipo e concentração de carboidratos, iluminação, tipo de explante, entre outros (SILVEIRA et al., 2001; ZHANG et al., 2003; CAMPOS et al., 2007).

Desta forma, o presente trabalho teve como objetivo definir melhores condições de meio de cultura para maximizar a micropropagação de *Malus domestica* cultivar Maxi Gala em laboratório.

2. METODOLOGIA

Os explantes utilizados para o desenvolvimento deste trabalho são oriundos de meristema de macieira cultivar Maxi Gala pré-estabelecidos e multiplicados *in vitro* durante 90 dias em meio de cultivo Himedia[®] (meio comercial com formulação igual ao MS), acrescido de 0,8 mgL⁻¹ de BAP, 30 gL⁻¹ de sacarose e 7 gL⁻¹ de ágar, pH 5,8. Gemas apicais e segmentos nodais contendo duas gemas axilares foram cultivados em três diferentes meios de cultura: MS completo, MS modificado (¾ da concentração normal de NH₄NO₃ e KNO₃, identificado como MS¾) e MS Himedia, todos contendo 0,8 mgL⁻¹ de BAP, 100 mgL⁻¹ de mio-inositol, 30 gL⁻¹ de sacarose, 7 gL⁻¹ de ágar e pH 5,8. Nos dois primeiros casos os meios foram preparados com solução de EDTA-férrico enquanto o meio comercial contém a forma reduzida de EDTA-ferroso.

Em cada frasco com 30 mL de meio foram colocados 5 explantes de nó ou gema, com três repetições por tratamento. Os frascos foram mantidos em câmara de crescimento com temperatura de $23 \pm 2^\circ\text{C}$, fotoperíodo de 16 horas e $48 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ de fluxo de fótons por 45 dias. Após este período, avaliou-se o número médio de brotações por explante, o comprimento médio da maior brotação (cm) e o número médio de folhas na brotação principal (número de gemas axilares). Os dados obtidos foram comparados estatisticamente pela análise de variância e submetidos a teste de Tukey a 5% de probabilidade do erro.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados indicam que o tipo de explante utilizado somente interferiu no comprimento médio das brotações obtidas, mas não no número de brotações adventícias ou no número de folhas, enquanto o meio de cultura provocou alterações significativas em todos os casos. Os resultados obtidos são apresentados na TABELA 1.

TABELA 1. Dados relativos de comparação entre o número médio de brotações, comprimento e número de folhas obtidos de segmentos nodais e gemas apicais de *Malus domestica* cv. Maxi Gala quando submetidos a cultivo *in vitro* com diferentes tipos de meio.

Meio	Número médio de brotações		Comprimento (cm)		Número de folhas	
	Nó	Gema	Nó	Gema	Nó	Gema
Himedia	3,20 A ^{ns}	4,30 A ^{ns}	4,33 Aa	2,50 Ab	9,40 A ^{ns}	8,70 A ^{ns}
MS $\frac{3}{4}$	2,47 A	2,93 A	1,43 Ba	1,65 ABa	7,00 AB	8,33 A
MS	0,80 B	0,80 B	0,77 Ba	0,83 Ba	4,93 B	5,13 A
Média	2,31		1,88		7,17	
CV(%)	25,60		21,02		22,50	

Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas para meio e minúsculas para tipo de explante não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade do erro. Notação: Nó = explante oriundo de segmento nodal e Gema = explante oriundo de gema apical. Ns = correlação não significativa.

Como pode ser observado na TABELA 1 não houve diferença estatística significativa entre os tratamentos Himedia e MS $\frac{3}{4}$ sobre o número médio de brotações, independente da fonte do explante. Contudo o tratamento MS apresentou em média três vezes menos brotações, tendo sido, inclusive, o único a apresentar morte de explantes, que ocorreu em 23% do material submetido a essa condição. O número de folhas também não apresentou dependência quanto ao tipo de explante, mas para segmentos nodais o meio Himedia foi relativamente melhor do que os demais tratamentos, enquanto não houve diferenças para gemas apicais.

Quanto ao comprimento médio das brotações, os segmentos nodais apresentaram maior crescimento do que gemas quando cultivados em Himedia. Já este mesmo comportamento não foi observado nos outros tratamentos. Em relação ao meio de cultura, entrenós cultivados em Himedia apresentaram comprimento três vezes maior do que MS $\frac{3}{4}$, enquanto MS e MS $\frac{3}{4}$ não mostraram diferença estatística (FIGURA 1). Já as gemas cultivadas em Himedia não apresentaram diferença entre MS $\frac{3}{4}$ que, por sua vez, não diferiu do meio MS (FIGURA 2).

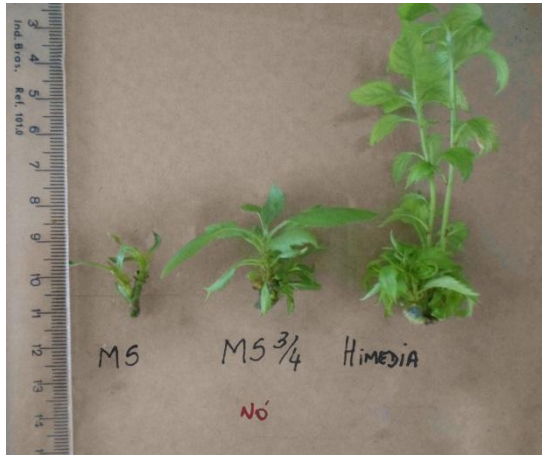


Figura 1. Brotações obtidas em meio MS, MS^{3/4} e Himedia + 0,8 mgL⁻¹ de BAP a partir de segmentos nodais após 45 dias de cultivo *in vitro*.



Figura 2. Brotações obtidas em meio MS, MS^{3/4} e Himedia + 0,8 mgL⁻¹ de BAP a partir de gemas apicais após 45 dias de cultivo *in vitro*.

A menor concentração de nitrogênio e potássio (meio MS ^{3/4}) provocou um incremento no número de brotações e no número de gemas axilares quando comparado à formulação completa do meio MS. Desta forma, os resultados obtidos sugerem que os meios Himedia e MS ^{3/4} suplementados com 0,8 mgL⁻¹ de BAP são eficientes na produção de brotações *in vitro* desta cultivar. No entanto, a utilização de meio comercial se justifica quando se considera que o porte dos explantes obtidos pode gerar maior taxa de multiplicação através da obtenção de maior número de segmentos nodais, o que é mais viável para futura multiplicação do material.

Quanto às diferenças de desenvolvimento observadas entre Himedia e MS, uma vez que ambos são preparados com as mesmas concentrações de sais, pode-se acreditar que se deva à forma em que íons de ferro estão disponíveis em cada composição. As formas oxidada e reduzida são absorvidas normalmente pelas plantas, porém a maioria absorve melhor a forma Fe²⁺, que é mais solúvel, enquanto e outras tem preferência pela forma quelatada Fe³⁺ (SCHMIDT, 2003). Além disso, considerando que Himedia é obtido pronto enquanto que o MS é preparado em laboratório, há garantia da quantidade e qualidade de cada um dos sais minerais.

4. CONCLUSÕES

Nas condições que o trabalho foi conduzido, pode-se concluir que o protocolo mais eficiente para a multiplicação *in vitro* para a *Malus domestica* cv. Maxi Gala, é constituído pelo MS Himedia comercial suplementado com 0,8 mgL⁻¹ de BAP e 30 gL⁻¹ de sacarose.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BARBOSA, W.; DALL'ORTO, F. A. C.; OJIMA, M.; CAMPOS, S. A. F.; TOMBOLATO, A. F. C. Propagação vegetativa *in vitro* de cultivares de macieira. **Bragantia** Campinas, v. 45, n. 1, p.143-154, 1986.

BIANCHI, V. J.; CHAVES, A. da C.; SCHUCH, M. W.; FACHINELLO, J. C. Estabelecimento *in vitro* de marmeleiro: efeito do tipo de explante e tempo de imersão em hipoclorito de sódio. **Revista Brasileira de Agrociência**, v.9, n.2, p.177-179, 2003.

BORGHEZAN, M.; MORAES, L. K. A.; MOREIRA, F. M.; SILVA, A. L. Propagação *in vitro* e avaliação de parâmetros morfofisiológicos de porta-enxertos de videira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.38, n.7, p.783-789, 2003.

CAMPOS, R. V.; BIANCHI, V. J.; ROCHA, P. S. G. da; SCHUCH, M. W.; FACHINELLO, J. C. BAP na multiplicação *in vitro* de portaenxertos de *Prunus spp.* **Plant Cell Culture Micropropagation**, v.3, n.2, p.55-60, 2007.

COUTO, M. **Propagação *in vitro* dos porta-enxertos híbridos de pessegueiro 'Barrier' e 'Cadman' (*Prunus sp.*)**. 2003. 77f. Dissertação (Mestrado em Agronomia – Fruticultura de Clima Temperado) – Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas.

DENARDI, F.; LEITE, G. B. Enxertia de mergulhia contínua; nova técnica de multiplicação rápida de porta-enxeros de macieira. **Agropecuária Catarinense**, Florianópolis, v.9, n.4, p.16-18, 1996.

MACHADO, M. P.; CIOTTA, M. N.; DESCHAMPS, C.; ZANETTE, F.; COCCO, L. C.; BIASI, L. A. Propagação *in vitro* e caracterização química do óleo essencial de *Lavandula angustifolia* cultivada no Sul do Brasil. **Ciência Rural**, v.43, n.2, p.283-289, 2013.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiol. Plant.** 15: 473-497, 1962.

SCHMIDT, W. Iron solutions: acquisition strategies and signaling pathways in plants. **TRENDS in Plant Science**, v.8, p.188-193, 2003.

SCHUCH, M. W.; ERIG, A. C. Micropropagação de plantas frutíferas. In. FACHINELO, J. C.; HOFFMANN, A.; NACHTIGAL, J. C. **Propagação de plantas frutíferas**. Brasília: Embrapa Informações Tecnológicas, 2005. p.155-173.

SILVEIRA, C. A. P.; FACHINELLO, J. C.; FORTES, G. R. de L.; CITADIN, I.; RODRIGUES, A. C.; QUEZADA, A. C.; SILVA, J. B. Multiplicação *in vitro* de porta-enxertos do gênero *Prunus* sob diferentes concentrações de BAP em dois meios de cultura. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 23

ZHANG, L.; XU, T.; SUN, X.; ZHANG, H.; TANG, T.; TANG, K. Factors influencing shoot regeneration from cotyledons of tetraploid *Isatis indigotica* F. **In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant**, v.39, n.05, p.459-462, 2003.