

ENRAIZAMENTO *IN VITRO* DO MORANGUEIRO (*Fragaria x ananassa* Duchesne) EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DO MEIO MS

IN VITRO STRAWBERRY (*Fragaria x ananassa* Duchesne) ROOTING IN DIFFERENT MS MEDIUM CONCENTRATIONS

Jonny Everson Scherwinski Pereira¹ Valmor João Bianchi²
Leonardo Ferreira Dutra³ Gerson Renan de Luces Fortes⁴

RESUMO

O presente trabalho foi realizado no Laboratório de Cultura de Tecidos da EMBRAPA/CPACT, Pelotas-RS, com o objetivo de verificar o comportamento *in vitro* de duas cultivares de morangueiro em diferentes concentrações do meio MS. Explantes de morangueiro, cultivares Hofla e Tangi provenientes do cultivo *in vitro* foram cultivados em meio MS, na concentração plena, 3/4 e 1/2 adicionado de sacarose a 30g/l, mio-inositol a 100mg/l e benzilaminopurina (BAP) a 0,005mg/l. Utilizaram-se frascos com capacidade de 250ml, que continham 40ml de meio de cultura, nos quais inocularam-se cinco explantes. O cultivo foi mantido em sala de cultura, onde permaneceu por 32 dias sob fotoperíodo de 16 horas, luminância de 1500 lux e temperatura de 25°C. Os resultados indicaram que a redução na concentração dos sais MS incrementa o percentual de explantes enraizados, aumentando o número de raízes da cultivar Tangi. O maior comprimento médio de raízes foi obtido com a cultivar Hofla na concentração 3/4 e 1/2 do meio MS. Não se observaram diferenças no desenvolvimento das plântulas, entre as cultivares, com a redução das concentrações do meio MS.

Palavras-chave: morangueiro (*Fragaria x ananassa* Duchesne), cultura de tecidos, meio de cultura.

SUMMARY

The present work was carried out in the Tissue Culture Laboratory EMBRAPA/CPACT, Pelotas-RS, with the objective of verifying the behaviour *in vitro* of two cultivars of strawberry on different MS medium concentration. Strawberry explants, Hofla and Tangi cultivars coming from *in vitro* culture were tested on MS medium in the full, 3/4 and 1/2 strength

supplemented with 30g/l sucrose, 100mg/l myo-inositol and 0.005mg/l benzylaminopurine (BA). Flasks (250ml) containing 40ml of medium culture with five explants per flasks were used. Cultures were maintained in a growth room at 25°C with a photoperiod of 16 h at 1.5 Klux for 32 days. Results indicated that the reduction in MS salts improved rooting explant by increasing the number of roots of the Tangi cultivar. A large root length was obtained with the Hofla cultivar in the 3/4 and 1/2 MS concentration. It was not observed any difference in the development of the plantlets among the cultivars due to the reduction in MS salts.

Key words: strawberry, (*Fragaria x ananassa* Duchesne), tissue culture, culture medium.

INTRODUÇÃO

A micropropagação, entre outras técnicas da cultura de tecidos de plantas, tem proporcionado a obtenção de um grande número de plantas com elevado nível qualitativo. Mais especificamente, tem permitido a eliminação, em curto espaço de tempo, de viroses do material vegetativo, proporcionando melhores benefícios aos produtores, com consequente aumento na produtividade (GRATTA-PAGLIA & MACHADO, 1990; NEHRA *et al.*, 1990).

Segundo COSSIO & MENIN (1982), as primeiras pesquisas sobre a cultura *in vitro* de mo-

¹Engenheiro Agrônomo, Mestre em Agronomia, Área de Fruticultura de Clima Temperado, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel (FAEM), Universidade Federal de Pelotas (UFPEL), Caixa Postal 354, 96010-900, Pelotas, RS. E-mail: jscherwi@ufpel.tche.br. Autor para correspondência.

²Engenheiro Agrônomo, Mestre em Agronomia, Área de Fruticultura de Clima Temperado da FAEM/UFPEL.

³Engenheiro Agrônomo, Doutorando do Curso de Pós-graduação em Agronomia, Área de Fruticultura de Clima Temperado, FAEM/UFPEL.

⁴Engenheiro Agrônomo, Pesquisador da EMBRAPA-CPACT, Pelotas, RS.

rangueiro ocorreram por volta da década de 60 e estavam essencialmente voltadas ao aspecto fitossanitário das cultivares, através da cultura de meristemas. BOXUS (1974) demonstrou a possibilidade de multiplicar o morangueiro, adotando a mistura de sais minerais proposta por VINE (1968). Inúmeros trabalhos sobre este tema já demonstravam que o morangueiro *in vitro* adaptava-se a diferentes misturas de sais minerais (MILLER & BELKENGREN, 1963; ADAMS, 1972; MULLIN *et al.*, 1974).

Segundo DEBERG & MAENE (1981) existem cinco fases na micropropagação. O estágio três é onde ocorrem o alongamento e a indução radicular, sendo o ácido indolbutírico (AIB), o ácido indolacético (AIA) e o ácido naftaleno acético (ANA) as auxinas mais utilizadas para a indução radicular. No entanto, PEREIRA *et al.* (1995), testando concentrações de AIB e do meio MS (MURASHIGE & SKOOG, 1962) para obtenção de mudas de morangueiro (*Fragaria* x *ananassa* Duchesne), concluíram que a adição de AIB ao meio de cultura prejudicou o desenvolvimento tanto do sistema radicular, quanto da parte aérea, e que o meio MS diluído a 50% proporcionou um melhor desenvolvimento de ambas as partes, radicular e aérea. FERREIRA *et al.* (1996), em um trabalho com morangueiro, cultivares Konvoy 'Vila Nova' e 'Campinas', em diferentes concentrações de sais do meio MS, concluíram que os meios, contendo baixas concentrações de sais, favoreceram o enraizamento e a formação de raízes em ambas as cultivares.

O presente trabalho teve por objetivo verificar o enraizamento *in vitro* de explantes de morangueiro (*Fragaria* x *ananassa* Duchesne), cultivares Hofla e Tangi, em diferentes concentrações do meio MS.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Laboratório de Cultura de Tecidos da EMBRAPA/CPACT, Pelotas, RS. Para o experimento, utilizaram-se explantes de plantas de morangueiro (*Fragaria* x *ananassa* Duchesne), cultivares Hofla e Tangi, provenientes de cultivo *in vitro*.

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos casualizados, constando de cinco repetições por tratamento. Os tratamentos seguiram um esquema fatorial 2x3, com duas cultivares, Hofla e Tangi, e três concentrações do meio MS (plena, 3/4 e 1/2, adicionado de sacarose a 30g/l, mio-inositol a 100mg/l, BAP a 0,005mg.l⁻¹, ágar a 6g/l e vitaminas do meio MS). Antes da autoclavagem, o pH foi ajustado para 5,8 ± 0,1.

Utilizaram-se frascos com capacidade para 250ml, contendo 40ml de meio de cultura.

Inocularam-se cinco explantes por frasco e as observações foram realizadas em intervalos de cinco dias. As condições de cultivo fornecidas foram: fotoperíodo de 16 horas, luminância de 1500 lux e temperatura de 25±2°C.

Foram avaliados a percentagem de explantes enraizados, o número de raízes formadas, o comprimento de raízes e o aspecto geral das plântulas, após 32 dias de cultivo. Esta última variável foi avaliada, em função do desenvolvimento dos explantes, através da atribuição de notas de 1 a 3, onde a nota '1' correspondeu a explantes pouco desenvolvidos, '2' a explantes medianamente desenvolvidos e '3' a explantes bem desenvolvidos. A comparação entre médias foi realizada pelo teste de Duncan em nível de 5% de probabilidade. Os dados sobre a percentagem de explantes enraizados foram transformados segundo arco seno; os dados sobre o aspecto geral (notas), segundo transformação logarítmica. Os dados sobre o comprimento de raízes não foram transformados. Utilizou-se nas análises o SANEST (ZONTA & MACHADO, 1984).

RESULTADOS E DISCUSSÕES

O maior percentual de explantes enraizados, entre as cultivares, foi obtido utilizando-se a concentração 1/2 do meio MS (Tabela 1). Na cultivar Hofla, as concentrações 3/4 e 1/2 do MS, proporcionaram maior percentagem de explantes enraizados, quando comparadas à concentração plena do MS. Estes resultados estão de acordo com os obtidos por FERREIRA *et al.* (1996), que também observaram que a redução nas concentrações do meio MS favoreceram o enraizamento das brotações. Entretanto, em relação à cultivar Tangi, não ocorreram diferenças entre as concentrações do meio MS. Segundo GRATTAPAGLIA & MACHADO (1990), mesmo na presença de auxinas, altas concentrações de sais podem inibir as fases de enraizamento, mais particularmente a de crescimento das raízes. Embora as variações sejam inúmeras, conforme a espécie e o sistema de enraizamento, diluições na concentração de sais do meio MS são frequentes nesta fase (ZIMMERMAN & BROOME, 1979; WERNER & BOE, 1980; FERREIRA *et al.*, 1996).

A cultivar Hofla antecipou o período de enraizamento dos explantes. Desta forma, a partir dos 17 dias de cultivo, não mais observou-se diferenças na percentagem total de explantes enraizados. Já para a cultivar Tangi, somente aos 21 dias de cultivo é que não foram mais observadas diferenças significativas na percentagem total de explantes enraizados, nas diferentes concentrações de meio MS utilizadas (Figura 1).

Tabela 1 - Efeitos de diferentes concentrações do meio MS na percentagem de explantes enraizados, no número e comprimento de raízes e no aspecto geral dos explantes, em duas cultivares de morangueiro cultivados *in vitro*, Pelotas, RS, 1997.

| Meio MS | Explantes enraizados (%) | | Número de raízes | | Comprimento de raízes(cm) | | Aspecto geral | |
|---------|--------------------------|----------|------------------|---------|---------------------------|---------|---------------|---------|
| | Hofla | Tangi | Hofla | Tangi | Hofla | Tangi | Hofla | Tangi |
| Pleno | 62,50b B | 92,81a A | 2,40b B | 3,52c A | 0,75c B | 1,05a A | 1,65b B* | 2,04a A |
| 3/4 | 98,09a A | 88,11a B | 5,44a A | 5,81b A | 1,28b A | 1,17a A | 2,39a A | 2,28a A |
| 1/2 | 99,17a A | 95,94a A | 6,11a B | 8,09a A | 1,74a A | 1,28a B | 2,50a A | 2,24a A |

* Médias seguidas por letras distintas, minúsculas na vertical e maiúsculas na horizontal, diferem entre si pelo teste de Duncan em nível de 5% de probabilidade.

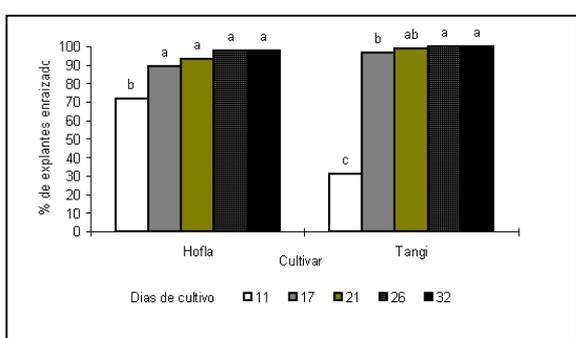


Figura 1 - Percentagem de explantes totais enraizados *in vitro*, em duas cultivares de morangueiro cultivados em diferentes concentrações do meio MS, durante o período de cultivo em dias, Pelotas, RS, 1997.

A concentração 1/2 do meio MS foi a que promoveu a formação de um maior número de raízes nas duas cultivares testadas. Nesta concentração, a cultivar Tangi apresentou um maior número de raízes do que a cultivar Hofla. Observou-se também, que não houve diferenças significativas nas concentrações 3/4 e 1/2 do MS, para a cultivar Hofla (Tabela 1). FERREIRA *et. al.* (1996) constataram que os meios, contendo baixas concentrações de sais, favoreceram o desenvolvimento de raízes primárias e secundárias em duas cultivares de morangueiro.

Observou-se um crescimento linear no número de raízes formadas com o aumento no número de dias de cultivo, para ambas as cultivares (Figura 2). O mesmo comportamento linear foi verificado nas diferentes épocas de cultivo para as concentrações do meio MS (Figura 3). Constatou-se que o número de raízes aumenta, nas três concentrações do meio MS, com o aumento nos dias de cultivo, sendo que na concentração 1/2 do MS, houve a formação de um número maior de raízes.

Na concentração plena do meio MS, a cultivar Tangi apresentou um comprimento de raízes

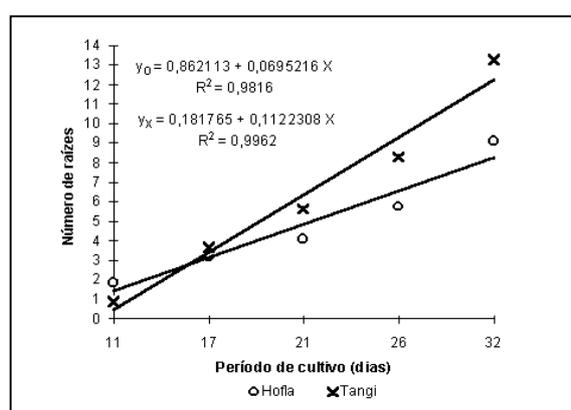


Figura 2 - Número de raízes formadas por explante para as cultivares de morangueiro Hofla e Tangi, em função do período de cultivo em dias, considerando o total de explantes cultivados *in vitro* em diferentes concentrações de sais do meio MS, Pelotas, RS, 1997.

maior do que a cultivar Hofla, ocorrendo o contrário na concentração 1/2 do MS. Já na concentração 3/4 do MS, não ocorreram diferenças entre as duas cultivares. As diferenças ocorridas podem ser devidas às características genéticas de cada cultivar. Houve diferenças significativas no comprimento das raízes em relação às concentrações do meio MS na cultivar Hofla, sendo o melhor resultado obtido na concentração 1/2 do MS. Este resultado evidencia que, para a cultivar Hofla, a redução nas concentrações do meio MS é benéfica para o aumento no comprimento de raízes. Na cultivar Tangi, apesar do aumento, não houve diferenças significativas no comprimento das raízes em relação às diferentes concentrações do meio MS utilizadas (Tabela 1).

Verificou-se que as cultivares diferenciaram-se significativamente em relação ao aspecto geral da planta, somente na concentração plena do meio MS (Tabela 1). Isto pode ser devido às dife-

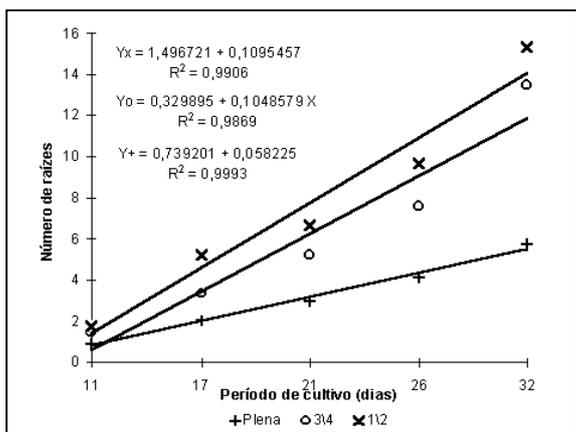


Figura 3 - Número de raízes formadas em plântulas de morangueiro cultivadas *in vitro* durante o período de cultivo em dias em diferentes concentrações de sais do meio MS, Pelotas, RS, 1997.

renças genéticas entre as cultivares, conforme evidenciado por GEORGE & SHERINGTON (1984). Na cultivar Hofla, as concentrações 3/4 e 1/2 do meio MS, foram superiores à concentração plena. Já para a cultivar Tangi, a redução do meio MS não proporcionou diferenças no aspecto geral das brotações.

CONCLUSÕES

A redução na concentração de sais do meio MS incrementa positivamente a percentagem de explantes enraizados do morangueiro na cultivar Hofla e aumenta o número e o comprimento de raízes, e melhora o aspecto geral das plântulas formadas, das cultivares Hofla e Tangi. A cultivar Tangi emite maior número de raízes, do que a cultivar Hofla, quando a concentração de sais do meio MS é reduzida para 1/2.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADAMS, A.N. Meristem culture an extra insurance against viruses. *The Grower*, n. 26, p. 515, 1972.
- BOXUS, P.H. The production of Strawberry plants by *in vitro* micropropagation. *The Journal of Horticultural Science*. Gembloux, n. 49, p. 209-210, 1974.
- COSSIO, F., MENIN, G. Micropropagazione della fragola: Confronto tra substrati contenuti differenti miscele di macroelementi. *Rivista di Frutticoltura*. Bolonha, v. 44, n. 5, p. 54-57, 1982.
- DEBERG, P.C., MAENE, L.V. A scheme for commercial propagation of ornamental plants by tissue culture. *Scientia Horticulturae*. Amsterdam, v. 14, p. 335-345, 1981.
- FERREIRA, A.F., FARIAS, A.X., SILVA, E.S.B.da A., *et al.* Enraizamento de duas cultivares de morangueiro (*Fragaria x ananassa* Duchesne) em diferentes concentrações de sais do meio MS. IN: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 14, 1996, Curitiba, **Resumos**. Curitiba, 1996, p. 351.
- GEORGE, E.F., SHERINGTON, P.D. **Tissue Culture Media**. In: Plant Propagation by Tissue Culture - Handbook and Directory of Commercial Laboratories. Exegetics Limited, Hants, p. 184-244, 1984.
- 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, p. 99-169, 1990.
- MILLER, P.W., BELKENGREN, R.O. Elimination of yellow edge, crinkle, and veinbanding viruses and certain other virus complexes from strawberries by excision and culturing of apical meristems. *Plant Disease Reporter*, v. 47, n. 4, p. 298-300, 1963.
- MULLIN, R.H., SMITH, S.H., FRAZIER, N.H., *et al.* Meristem culture frees strawberries of mild edge, pallidosis and mottle disease. *Phytopathology*, v. 64, p. 1425-1429, 1974.
- MURASHIGE, T., SKOOG, F.I. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiology Plantarum*, v. 15, p. 473-497, 1962.
- NEHRA, N.S., STUSHNOFF, C., KARTHA, K.K. Regeneration of plants from immature leaf-derived callus of strawberry (*Fragaria x Ananassa*). *Plant Science*, v. 66, p. 119-126, 1990.
- PEREIRA, A.V., PEREIRA, E.B.C., LUNKES, J.A., *et al.* Efeitos de níveis de AIB e meio MS sobre o desenvolvimento de explantes de morangueiro "in vitro". IN: CONGRESSO BRASILEIRO DE FISILOGIA VEGETAL, 5, 1995, Lavras. **Resumos**. Lavras, 1995, p. 186.
- VINE, S.J. Improved culture of apical tissues for production of virus-free strawberries. *The Journal of Horticultural Science*, v. 43, n. 3, p. 293-297, 1968.
- WERNER, E.M., BOE, A.A. *In vitro* propagation of Malling 7 apple rootstock. *HortScience*, v. 15, n. 4, p. 509-510, 1980.
- ZIMMERMAN, R.H., BROOME, O.C. *In vitro* propagation of apple cultivars. *HortScience*, v. 14, p. 478, 1979.
- ZONTA, E.P., MACHADO, A.A., SANEST - Sistema de Análise Estatística para microcomputadores. Registrado na SEI - Secretaria Especial de Informática, sob nº 066.060, Categoria A. Pelotas, 1984.