

MULTIPLICAÇÃO *IN VITRO* DO PORTA-ENXERTO DE MACIEIRA M-7 (*Malus* sp.) SOB DIFERENTES TIPOS E CONCENTRAÇÕES DE AUXINAS

SILVEIRA, Carlos A. P.¹; CITADIN, Idemir¹, FORTES, Gérson R. de L.²

¹ Departamento de Fitotecnia, FAEM/UFPEL. Campus Universitário Caixa Postal 354 CEP 96010-900 Pelotas – RS
E-mail: posser@ufpel.tche.br

² Embrapa Clima Temperado, Caixa Postal 403, 96001-970, Pelotas, RS.
(Recebido para publicação em 07/01/2001)

RESUMO

A utilização de porta-enxertos anões tem possibilitado o plantio de macieira em alta densidade, resultando em maior renda para o produtor. Dentre os porta-enxertos usados, o M-7 apresenta esta característica. Brotações de macieira deste porta-enxerto, provenientes do cultivo *in vitro*, foram multiplicados em meio MS acrescido de 100 mg.L⁻¹ de mio-inositol, 30 g.L⁻¹ de sacarose, 6 g.L⁻¹ de agar e 5 µM de benzilaminopurina (BAP). Foram testados três tipos de auxina (ácido indolbutírico - AIB, ácido indolacético - AIA, ácido naftalenoacético - ANA) em duas concentrações (0,5 e 1,0 µM), com o objetivo de determinar o tratamento mais eficiente na multiplicação do porta-enxerto M-7. Os parâmetros avaliados foram: número médio de gemas e de brotações, tamanho das brotações, percentagem de calo formado na base dos explantes e percentagem de explantes vitrificados. Para a multiplicação *in vitro* do porta-enxerto M-7, o tratamento que apresentou melhor resultado foi 1,0 µM de AIB.

Palavras-chave: micropropagação; porta-enxertos.

ABSTRACT:

MULTIPLICATION *IN VITRO* OF ROOTSTOCK MALUS SP. M-7 UNDER DIFFERENT CONCENTRATIONS OF THE AUXINS. Apple shoots, M-7 (*Malus* sp) rootstock, coming from tissue culture, were multiplied *in vitro* on MS media with 100 mg.L⁻¹ myo-inositol, 30 g.L⁻¹ sucrose, 6 g.L⁻¹ agar, and 5 µM BAP. The type of auxin (indolebutyric acid – IBA, indoleacetic acid – IAA, naphthaleneacetic acid – NAA) and concentration (0.5 and 1.0 µM), were investigated to verify their effects on shoot multiplication of this rootstock. The number of buds and shoots, shoot length, percentage of vitrification, and percentage of callus formed in the ex-plant base were evaluated following the treatments. The most efficient treatment was to 1.0 µM IBA.

Key Words: micropropagation; rootstock.

INTRODUÇÃO

O desenvolvimento recente de sistemas de plantio de macieira em pomares de alta densidade foi possível graças à utilização de porta-enxertos anões. Tal técnica permite uma maior produção por unidade de área, aumentando assim, a renda líquida do produtor. As mudas de macieira são originadas por propagação vegetativa, através da enxertia, e os porta-enxertos são obtidos utilizando-se a técnica da "amontoa de cepa". As técnicas de propagação *in vitro* são de grande importância para o desenvolvimento da cultura, pois além de eficientes, oferecem maior segurança com respeito ao aspecto fitossanitário das mudas produzidas. O estabelecimento de protocolos mais eficientes possibilitará a utilização comercial das técnicas de cultura de tecidos, não somente para a produção de plantas matrizes, mas também para a utilização de porta-enxertos em escala comercial.

As auxinas têm em comum a capacidade de atuar na expansão e alongamento celulares, ajudando também na divisão celular na cultura de tecidos (KRÍKORIAN, 1991). O ácido naftaleno acético (ANA) e o ácido indolbutírico (AIB) são as auxinas mais conhecidas (ROSS, 1992). Auxinas e citocininas, endógenas e exógenas, são exigidas em proporções adequadas para a formação de brotos e raízes adventícias. Tais proporções variam de acordo com as diversas espécies vegetais. Embora alguns autores, entre os quais DUNSTAN *et al.* (1985), tenham observado que a aplicação de baixas doses de AIB (0,2 mg.L⁻¹) pode estimular a produção de brotações, LANE (1978) verificou que para a cultivar 'McIntosh', não é necessária a aplicação de auxina exógena para a proliferação de brotos.

O objetivo deste trabalho foi comparar o efeito de duas concentrações e três tipos de auxina na multiplicação *in vitro* do porta-enxerto de macieira M-7.

MATERIAL E MÉTODOS

Microestacas apicais, contendo em média cinco gemas do porta-enxerto M-7, foram inoculadas em meio contendo vitaminas e sais de MS (MURASHIGE & SKOOG, 1962), acrescido de 100 mg.L⁻¹ de mio-inositol, 30g.L⁻¹ de sacarose, 6 g.L⁻¹ de ágar e 5 µM de BAP. O pH foi ajustado para 5,9 antes da autoclavagem.

O delineamento utilizado foi blocos ao acaso, em fatorial (3x2) com seis repetições, sendo cada repetição constituída por um frasco de 250 ml, contendo 40 ml do meio, com cinco explantes de 10 mm de comprimento. Foram testados três tipos de auxina (AIA, AIB e ANA) em duas concentrações (0,5 e 1,0 µM). Após a inoculação os explantes foram transferidos para a sala de crescimento sob condições de 25 ± 2 °C, 16 horas de fotoperíodo e 2000 lux de intensidade luminosa. A avaliação foi feita aos 50 dias após a instalação do experimento. As variáveis avaliadas foram: número médio de gemas e de brotações, tamanho das brotações, percentagem de calo formado na base dos explantes e percentagem de explantes vitrificados.

Os resultados foram submetidos à análise da variância. A comparação entre médias dos tratamentos foi realizada pelo teste de Duncan ($\alpha = 0,05$). Os dados das variáveis número médio de gemas e de brotações foram transformados segundo $\sqrt{x+1}$. Os dados de percentagem foram transformados segundo arco seno da raiz quadrada de $x/100$. As análises estatísticas foram executadas pelo programa SANEST - Sistema de Análise Estatísticas para Microcomputadores (ZONTA & MACHADO, 1984).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Através da análise da variação foi constatado que houve efeito significativo dos tratamentos tipo e concentração de auxina apenas para as variáveis respostas tamanho médio das brotações (Figura 1) e percentual de calo formado na base dos explantes (Figura 2). Para as demais variáveis avaliadas (Tabela 1), não ocorreram diferenças significativas entre estes fatores, inclusive entre os diferentes níveis do fator concentração.

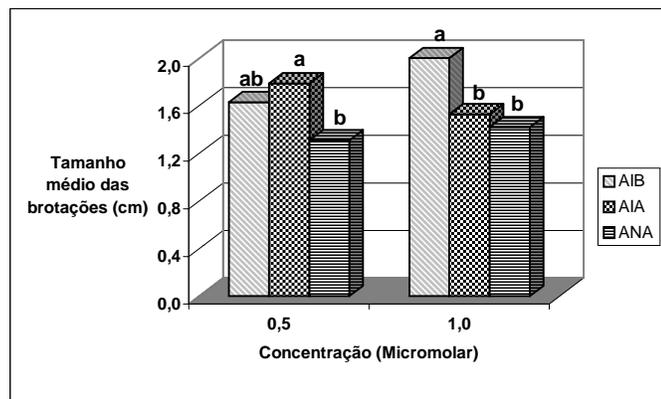


Figura 1 - Tamanho médio das brotações do porta-enxerto M-7 sob diferentes tipos e concentrações de auxina. Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS, 1998.

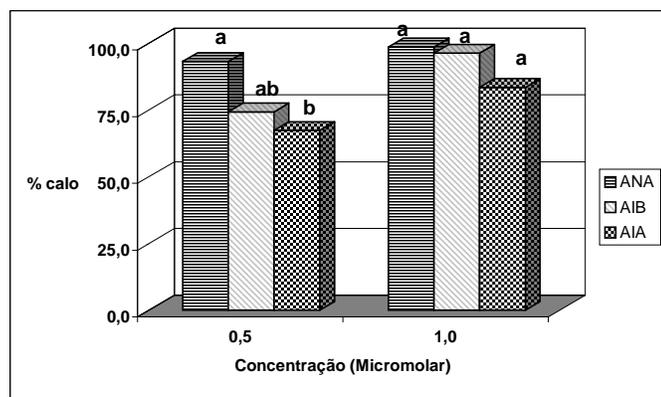


Figura 2 - Percentual de calo formado na base dos explantes do porta-enxerto de macieira M-7, sob diferentes tipos e concentrações de auxina. Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS, 1998.

Com relação à utilização de ANA na multiplicação *in vitro* de macieira, trabalhos de CHEEMA & SHARMA (1983) e OCHATT & CASO (1983) mostram que a aplicação de baixas concentrações desta auxina combinada com BAP induzem a proliferação de brotações. No entanto, no presente trabalho foi observado que o ANA não diferiu significativamente das demais auxinas, quanto ao número médio de brotações e de gemas e percentual de vitrificação. Além disso, foi observado que esta auxina determinou um maior percentual de calo na base dos explantes na concentração de 0,5 μM (Figura 2), o que se traduz em efeito indesejável em se tratando de experimento que tem como objetivo a multiplicação de clones, uma vez que a presença de calos representa uma possibilidade de variação somaclonal. Para a variável tamanho

médio das brotações, o ANA proporcionou os menores valores, diferindo significativamente do AIA na concentração de 0,5 μM e do AIB na concentração de 1,0 μM (Figura 1). O AIA foi a auxina que proporcionou o menor percentual de calo na base dos explantes, diferindo significativamente do ANA, não diferindo, porém, do AIB, na concentração de 0,5 μM . O maior tamanho médio de brotações foi obtido com AIA 0,5 μM , diferindo significativamente do ANA, sem contudo, diferir do AIB. Porém, na concentração de 1,0 μM , foi significativamente inferior ao AIB, não diferindo significativamente do ANA (Figura 1). Para as demais variáveis avaliadas (Tabela 1), o AIA não apresentou diferença significativa com as demais auxinas nas concentrações utilizadas.

TABELA 1 - Efeito dos tipos de auxina na multiplicação do porta-enxerto de macieira M-7. Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS, 1998.

Tipo de Auxina	Variáveis		
	Vitrificação (%)	Nº médio de brotações	Nº médio de gemas
AIB	10,53 a	16,07 a	8,41 a
AIA	20,99 a	13,07 a	8,74 a
ANA	24,67 a	11,82 a	7,36 a
C.V. (%)	89,6	19,8	12,5

Médias seguidas por letras distintas diferem entre si pelo teste de Duncan ($\alpha=0,05$)

Foi observado que na presença de AIB na concentração de 1,0 μM , os explantes apresentaram melhores resultados quanto ao tamanho médio das brotações (Figura 1). Nas demais variáveis avaliadas não diferiu significativamente das demais auxinas. Assim, o tratamento com AIB 1,0 μM demonstrou ser o mais eficiente na multiplicação do M-7. Estes resultados estão de acordo com as observações de LUNDERGAN & JANICK (1980), os quais sugerem que a presença de auxina no meio de multiplicação parece anular o efeito inibitório que as citocininas têm sobre o tamanho das brotações. Foi verificado, por estes autores, que nos meios de multiplicação de diversos clones de *Eucalyptus*, contendo citocinina, as partes aéreas se alongaram com a adição de AIA ou AIB.

A superioridade do AIB em relação ao AIA, pode ser explicada pelas características de instabilidade deste regulador de crescimento, frente às condições de autoclavagem, luminosidade nas condições de câmara de crescimento (NISSEN & SUTTER, 1990) e ação da AIA-oxidase nos tecidos do explantes (GRATTAPAGLIA & MACHADO, 1990). Ainda segundo estes autores, concentrações mais elevadas de auxina podem inibir a multiplicação ou favorecer a formação de calo, o que pode explicar o efeito fitotóxico do ANA em relação às demais auxinas, nas mesmas concentrações.

CONCLUSÃO

A auxina AIB, na concentração de 1,0 μM , é mais eficiente do que o AIA e o ANA para a multiplicação do porta-enxerto de macieira M-7.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CHEEMA, G.S.; SHARMA, D.P. *In vitro* propagation of apple rootstocks EMLA 25. **Acta Horticulturae**, v.131, p.75-89, 1983.
- DUNSTAN, D.I.; TURNER, K.E.; LAZAROFF, W.R. Propagation *in vitro* of apple rootstock M.4: effect of phytohormones on shoot quality. **Plant Cell Tissue Organ Culture**, v.4, p.55-60, 1985.
- 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-CNPQ, p.99-169, 1990.
- KRIKORIAN, A.D. Medios de cultivo: generalidades, composición y preparación. In: ROCA, W.M.; MROGINSKY, L.A (ed.). **Cultivo de tejidos en la agricultura: fundamentos y aplicaciones**. Cali: Centro Internacional de Agricultura Tropical, p.41- 77, 1991.
- LANE, W.D. Regeneration of apple plants from shoot meristem tips. **Plant Science Letters**, v.13, p.281-285, 1978.
- LUNDERGAN, C.A.; JANICK, J. Regulation of apple shoot proliferation and growth *in vitro*. **Horticultural Research**, v.20, p.19-24, 1980.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, v.15, p.473-497. 1962.
- NISSEN, S. J.; SUTTER, E. G. Stability of IAA and IBA in nutrient medium to several tissue culture procedures. **HortScience**, v.25, n.7, p.800-802, 1990.
- OCHATT, S.J.; CASO, H.C. *In vitro* meristem culture of M.4 apple (*Malus pumila* Mill). I. Optimal nutrient medium. **Plant Cell Tissue Organ Culture**, v.2, p.39-48, 1983.
- ROSS, C.W. Hormones and growth regulators: auxins and gibberellins. In: SALISBURY, F.B.; ROSS, C.W. **Plant Physiology**, 4th ed. California, Belmont: Wadsworth, p.357-377, 1992.
- ZONTA, E.P., MACHADO, A.A. **Sistema de Análise Estatísticas para Microcomputadores - SANEST**. Pelotas: Universidade Federal de Pelotas, 1984. 75p.