

MICROPROPAGAÇÃO E ACLIMATAÇÃO DE PLÂNTULAS DE MORANGUEIRO

Tamires Oviedo¹, Fabiana Raquel Mühl², Neuri Antonio Feldmann³, Anderson Rhoden³

Palavras chaves: Micropropagação. Isolamento de meristema. Explante. Mudas saudias.

INTRODUÇÃO

O Morangueiro surgiu devido ao cruzamento natural entre *Fragaria chiloensis*, origem do continente americano, e *Fragaria virginiana*, originária do continente europeu. Atualmente a classificação botânica aceita para as cultivares comerciais é *Fragaria x ananassa* Duchesne, produzido e apreciado em todo mundo sendo, dentro das pequenas frutas, a de maior expressão econômica (RIGON et al., 2005)

De acordo com Haiter (2010) o morango pode ser propagado vegetativamente, por meio dos estolões, ou através da micropropagação, método que apresenta inúmeras vantagens, como a quantidade de mudas produzidas em larga escala, sem a presença de patógenos que causam doenças, e em um curto espaço de tempo.

A utilização de mudas saudias consiste no ponto de partida para a obtenção de um melhor nível de resposta a qualquer tecnologia empregada no processo produtivo do morangueiro. Devido a todos estes fatores que a procura por mudas de morangueiro obtidas através da micropropagação vem crescendo demasiadamente (BRAMMER; IORCZESKI, 2002; OLIVEIRA et al., 2007).

De acordo com Murashige (1974 citado por GRATTAPAGLIA; MACHADO, 1998) a cultura de tecidos vegetais é dividida em três fases:

- Fase I: seleção dos exemplares, limpeza e cultura em meio nutritivo sob condições assépticas.
- Fase II: multiplicação dos propágulos através de diversos subcultivos em meio adequado para a multiplicação.
- Fase III: transferência dos brotos para o meio de enraizamento e transplante, e posteriormente para um substrato adequado.

¹ Acadêmica do Curso de Agronomia da Faculdade de Itapiranga. E-mail: Tamires_oviedo@hotmail.com

² Bióloga, Doutora em Agronomia, Professora do Curso de Agronomia da Faculdade de Itapiranga.

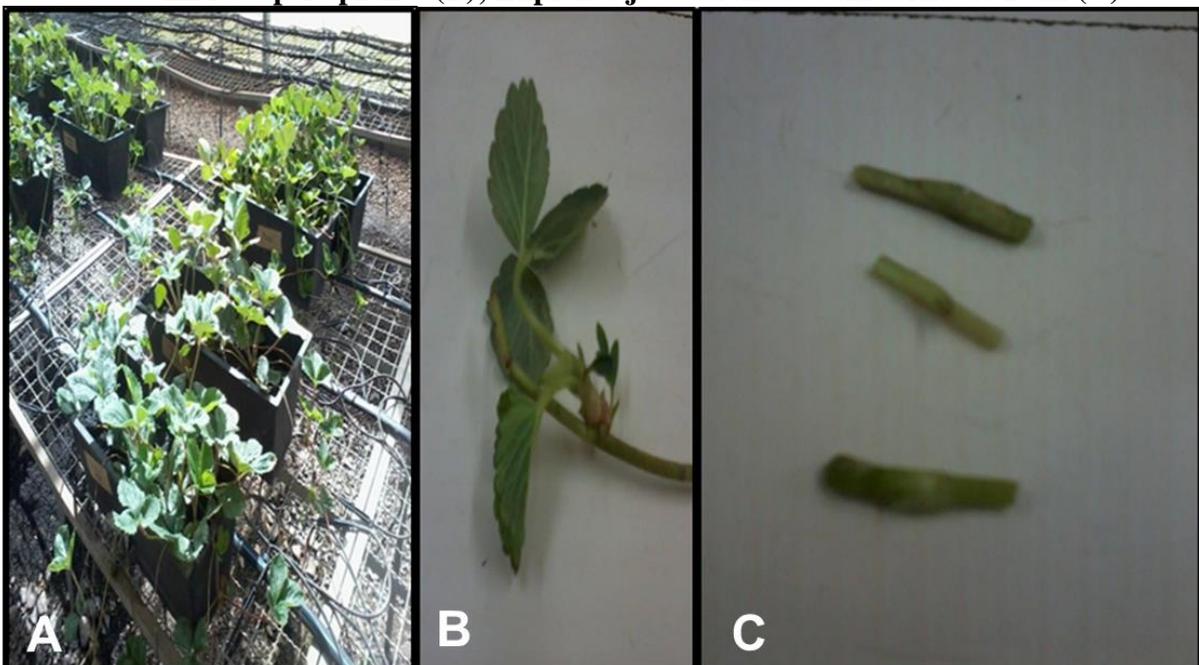
³ Engenheiro Agrônomo, Professor do Curso de Agronomia da Faculdade de Itapiranga.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado no Laboratório de Biotecnologia na Universidade de Passo Fundo - RS, realizando todas as fases da micropropagação em morango.

Para a retirada do meristema primeiramente foram coletados os explantes da planta matriz, e destas foram seccionados as brotações em torno de 2 cm e submetidos a um processo de desinfestação. A casa de vegetação e os explantes podem ser visualizados na Figura 1, que segue abaixo.

Figura 1 - Matrizes de morangueiro mantidas na casa de vegetação da Universidade de Passo Fundo (A); Explante utilizado a partir dos estolões e brotações emitidas pela planta (B); Explante já seccionados em torno de 2 cm (C).



Fonte: Do autor (2015)

Já no Laboratório o explante decorreu-se em pré-lavagem com água, e em seguida mergulhou-se as hastes da planta em uma solução de álcool 70% em torno de 3 minutos, sempre agitando o recipiente. Posteriormente passou água bi-destilada, e após foram colocados em uma solução de hipoclorito de sódio (Q-bon comercial) 50%, contendo algumas gotas de Tween, por 10 minutos. Em seguida procedeu-se a lavagem do material por três vezes com água bi-destilada e esterilizada (Figura 2). Depois foi regularizado o pH da solução, pois o hipoclorito deixa o pH muito alto, encontrando-se em torno de 12,20, então foi adicionado um ácido (HCL) para baixá-lo até pH 6,0.

Após a desinfestação sucedeu a retirada do meristema, sendo realizada na câmara de fluxo laminar.

Figura 2 - Propágulo obtido através do isolamento do meristema de *Chandler*.



Fonte: Do autor (2015)

Para o crescimento e desenvolvimento das plantas *in vitro*, são necessários meios nutritivos que forneçam substâncias essenciais. O meio básico, é conhecido como MS de Murashige e Skoog (1962), e é o mais utilizado na cultura de tecidos, seguido de algumas alterações de acordo com cada cultura, e a adição de reguladores de crescimento (auxinas, citocininas, giberelinas), vitaminas, carboidratos e açúcares (TORRES; CALDAS, 1998).

A segunda fase do cultivo *in vitro* é a multiplicação (Figura 3), tendo como objetivo principal multiplicar os explantes que já se encontram com um crescimento uniforme. Depois do estabelecimento *in vitro*, iniciou-se a repicagem do propágulo obtido, tendo cuidado com a homogeneidade das plantas produzidas, verificando a parte aérea, e posteriormente passando os mesmos para o meio nutritivo de multiplicação.

Depois de adquirido o número desejável de mudas durante a fase de multiplicação é realizada a fase de enraizamento. O enraizamento *in vitro* consiste na formação das raízes, onde o processo de rizogênese acontece em torno de três a quatro semanas no meio nutritivo específico para o enraizamento, e pode ser seccionado em três fases, indução, iniciação e alongamento.

Ao adquirir plântulas com raízes adventícias vindas da fase de multiplicação, as mesmas foram repassadas para a fase de aclimatação, e iniciar a fase de condições *ex vitro*. É

neste momento que as plantas foram removidas dos frascos e foi retirado todo o meio de cultura e divididas em grupos conforme o tamanho das mudas.

Em torno de 30 dias antes da entrega das mudas, as mesmas foram passadas para as bandejas, para iniciar o processo de aclimação.

Figura 3 - Multiplicação de morango



Fonte: Do autor (2015).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A qualidade do ambiente em que a planta matriz se encontra é um fator determinante para todo o processo de micropropagação. Por isso, todas as mudas de morango foram mantidas sob condições controladas, ou seja, bem nutridas e sem deficiência hídrica.

É importantíssimo regular o pH da solução para a desinfestação dos explantes, pois caso não realizá-la o pH encontra-se muito alto e os índices de contaminações durante o isolamento irão ser maiores, assim deve ser ajustada a solução para pH 6,0.

Mesmo assim, ocasionou alguns casos de contaminação, devido a oxidação de compostos fenólicos ser um problema bastante comum que ocorre no isolamento de meristemas.

A multiplicação é a fase mais longa do cultivo *in vitro*, por isso é necessário que se tenha boas condições ambientais aplicadas, verificando-se luminosidade e temperatura. Para a morfogênese da planta, a luz é indispensável. A temperatura mais indicada, é em torno de 20° a 25°C e fotoperíodo de 16 horas.

Em cada recipiente eram colocadas em torno de 10 explantes contendo 2 a 3 gemas em cada e após 20 a 30 dias esses eram repicados novamente. Realizou-se em torno de sete repicagens, número máximo de subcultivos. Quando se faz subcultivos além do indicado, no caso da cultura do morangueiro, são 7 repicagens, acaba ocorrendo perda da capacidade embriogênica das células, e as células começam a perder o potencial de regeneração das plantas e diminuir a totipotência das mesmas.

A temperatura indicada para a fase de enraizamento é a mesma utilizada para a fase de multiplicação, em torno de 20 a 30°C.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Considerando que a muda é o fator determinante para uma boa produção, a micropropagação é uma técnica que propicia ao produtor a garantia de ter mudas com sanidade garantida, livres de patógenos e que irão resultar em quantidade e qualidade durante o cultivo da cultura, aumentando sua produtividade e rentabilidade.

O alto custo da produção das mudas em condições *in vitro* muitas vezes é um fator determinante, e que deve ser diminuído para assim facilitar e aumentar o índice das mudas utilizadas no país. Mas deve-se verificar que mesmo sendo mudas com um custo acima que as mudas convencionais, a quantidade de produtos químicos utilizados durante o cultivo é bem menor, o que faz o custo de produção se igualar, e o resultado ser bem mais significativo, já que a produção de frutas através das mudas micropropagadas é altíssimo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BRAMMER, S. P.; IORCZESKI, E. J. **Atualização em técnicas Celulares e Moleculares aplicadas ao melhoramento genético vegetal**. Passo Fundo – RS, 2002.

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. **Micropropagação**. Brasília – DF, 1998.

HAITER, J.A.C.; PINTO, N.A.; TAVARES, L.S.; SANTOS M.O. **Otimização da micropropagação in vitro de morango (*Fragaria ananassa*) advindos de estolão**. Laboratório de Genética, Universidade Federal de Juiz de Fora – MG. São Paulo, setembro de 2010. Disponível em: <http://web2.sbg.org.br/congress/sbg2008/pdfs2010/GP230-33277.pdf>. Acesso em: 08/08/2015.

OLIVEIRA, R. P.; BRAHM, R. U.; SCIVITTARO W. B. Produção de mudas de morangueiro em casa-de-vegetação utilizando recipientes suspensos. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.25, n.1, p. 107- 109, 2007. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-05362007000100021. Acesso dia: 12/08/2015.

RIGON, L. **Perfil das pequenas frutas**. In: ANUÁRIO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA. Santa Cruz do Sul: Gazeta, p. 90-97, 2005. Disponível em: file:///E:/Usuario/Downloads/3255_2005_fruticultura_double_web.pdf. Acesso dia: 12/08/2015.