

Diferentes concentrações de sais do meio MS no estabelecimento *in vitro* de morangueiro

Different concentrations of in vitro MS salts in vitro of strawberry

Ana Luiza Arruda¹, Fernanda Grimaldi², Samila Camargo³, Pricila Santos da Silva⁴, Mariana Mendes Fagherazzi⁵, Adrik Francis Richter⁶, Leo Rufato⁷

Resumo: O morango (*Fragaria x ananassa*), pertence ao grupo chamado de pequenas frutas e é a espécie mais expressiva dentro desta categoria. A principal forma de propagação do morangueiro se dá via estolões, porém esta prática pode favorecer a disseminação de doenças. A utilização do cultivo *in vitro* como forma de propagação, proporciona a obtenção de plantas com alta qualidade genética e sanitária, além de ser possível obter em um curto espaço de tempo, uma grande quantidade de mudas. Este trabalho foi desenvolvido com a finalidade de avaliar a influência de diferentes concentrações de sais do meio de cultura MS no estabelecimento *in vitro* de ápices caulinares de morangueiro, cultivar Jonica. O experimento foi realizado nas dependências do Laboratório de Micropropagação Vegetal (LMV) pertencente à Universidade do Estado de Santa Catarina, Centro de Ciências Agroveterinárias (CAV/UEDESC) na cidade de Lages/SC. O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado, constituído de três tratamentos com cinco repetições de três tubos de ensaio cada. Após o estabelecimento *in vitro*, os explantes foram mantidos no escuro durante uma semana. Aos 21 dias após a instalação do experimento, foram avaliadas as seguintes variáveis: contaminação fúngica, contaminação bacteriana, oxidação fenólica e sobrevivência. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância pelo teste de Tukey à 5% de probabilidade de erro com auxílio do programa estatístico Assistat versão 7.7. O cultivo *in vitro* de ápices caulinares de morangueiro cv. Jonica em meio de cultura MS contendo a formulação original de sais, proporciona o maior índice de sobrevivência dos explantes.

Palavras Chave: *Fragaria x ananassa*; estabelecimento; micropropagação

Abstract: *The strawberry (*Fragaria x ananassa*), belongs to a group called small fruits and is the most expressive species within this category. The main form of propagation of the strawberry occurs through stolons, however, this practice can favor the spread of diseases. The use of in vitro culture as a form of propagation provides plants with high genetic and sanitary quality, besides being possible to obtain in a short time a great amount of plants. This work was developed with the purpose of evaluating the influence of different concentrations of the MS medium salts during the in vitro establishment of strawberry apex, cultivar Jonica. The experiment was developed in the premises of the Plant Micropropagation Laboratory (LMV) belonging to the Santa Catarina State University, College of Agriculture and Veterinary (CAV / UDESC) in the city of Lages / SC. The design was completely randomized, consisting of three treatments with five replicates of three tubes each. After the in vitro establishment, the explants were kept in the dark for one week. After 21 days of the experiment, the following variables were evaluated: fungal contamination, bacterial contamination, phenolic oxidation and survival. The data were submitted to analysis of variance by the Tukey test at 5% of error probability, using the statistical program Assistat version The in vitro cultivation of strawberry apex, cv. Jonica, in MS culture medium containing the original salt formulation provides the highest survival rate of the explants.*

Keywords: *Fragaria x ananassa; establishment; micropropagation*

1. INTRODUÇÃO

O morangueiro é pertencente à família *Rosaceae*, subfamília *Rosoideae*, gênero *Fragaria* L., que inclui mais de vinte espécies, as quais diferem tanto funcionalmente quanto estruturalmente (SILVA et al., 2007).

Entre as pequenas frutas, a cultura do morangueiro é uma das mais expressivas. No Brasil são produzidos em torno de 155 mil toneladas anualmente em uma área de 4.310 ha e o estado de Minas Gerais é o maior produtor nacional, seguido pelo Paraná e Rio Grande do Sul (FAGHERAZZI et al., 2017).

A qualidade das mudas é um dos fatores que exerce maior influência para uma melhor resposta às tecnologias empregadas no processo produtivo na cultura do morangueiro, que renovada anualmente pode evitar acúmulo de doenças e

pragas de um ano de cultivo para outro (OLIVEIRA et al., 2005), além de estar diretamente relacionada com a produtividade e a qualidade do fruto (OLIVEIRA & SCIVITTARO, 2009; HENZ, 2010).

O valor gasto com a compra de mudas pode chegar a 25% do custo total de produção da cultura, refletindo em uma procura por mudas com elevada qualidade fisiológica e fitossanitária, e um melhor método para produzir essa muda (ANTUNES et al., 2014).

A propagação *in vitro* é uma forma prática e eficaz para a produção de plantas em larga escala de plantas de morangueiro, em função de permanecerem em um ambiente controlado e livre de doenças (BARBOSA et al., 2013). Esta técnica permite a produção massal de mudas com alta qualidade genético-sanitária, atendendo as exigências e padrões necessários para a produção de matrizes de morangueiro (DIAS et al, 2014).

Os fatores que frequentemente determinam o sucesso da micropropagação de espécies vegetais são a fonte do explante e o meio nutritivo onde são cultivados (PASQUAL; HOFFMANN; RAMOS, 2001), sendo que os últimos fornecem substâncias essenciais para o crescimento dos tecidos e controlam, em grande parte, o padrão de desenvolvimento *in vitro* (CALDAS et al., 1998).

Diversos autores têm relatado a possibilidade de reduzir a concentração de sais do meio MS, para diversas espécies, pretendendo um melhor desenvolvimento das plantas e redução nos custos de produção (GEORGE & SHERRINGTON, 1984). A utilização de 50% dos sais do meio MS proporcionou um bom desenvolvimento *in vitro* de gloxínia (PAIVA et al. 1997). Segundo Dantas et al. (2000), concentrações de sais no meio básico MS (MURASHIGE & SKOOG, 1962) reduzidas a 1/2, 1/3 ou 1/4 possibilitaram melhor enraizamento *in vitro* de amoreira-preta, cultivar Caiguangue.

Através disso, objetivou-se neste estudo avaliar a influência de diferentes

concentrações dos sais do meio MS no estabelecimento *in vitro* de *Fragaria* sp, cv Jonica.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido na Universidade do Estado de Santa Catarina/ Centro de Ciências Agroveterinárias (CAV/UEDESC) no Laboratório de Micropropagação Vegetal (LMV), cidade de Lages/SC.

Os meristemas utilizados foram retirados de estolões de *Fragaria* L, cultivar Jonica. Posteriormente foram desinfestados em álcool 70%, durante um minuto, após em uma solução de hipoclorito de sódio, concentração de 2,5% e detergente comercial Tween 20® por 15 minutos e a seguir, passaram por uma tríplice lavagem, com água destilada autoclavada.

O meio de cultura utilizado foi o MS (Murashige e Skoog, 1962) em três concentrações de sais (50; 75 e 100%), suplementado com 30 g L⁻¹ de sacarose, 100 mg L⁻¹ de inositol e o pH ajustado para 5,8 antes da adição de 6 g L⁻¹ de ágar.

Posteriormente, o meio de cultura foi autoclavado a 121°C e 1,5 atm por 20 minutos. Após o estabelecimento *in vitro*, os explantes permaneceram no escuro, sob temperatura de 25 ± 2°C, por um período de sete dias, para redução nos índices de oxidação *in vitro*. Posteriormente, foram transferidos para condições de intensidade luminosa de 27 μmol.m⁻² .s⁻¹, em sala de crescimento, com fotoperíodo de 16 horas e temperatura de 25 ± 2°C.

O delineamento foi inteiramente casualizado, totalizando três tratamentos com cinco repetições contendo três tubos de ensaio cada.

Após 21 dias as variáveis analisadas foram: contaminação fúngica, contaminação bacteriana, oxidação fenólica e sobrevivência. Os dados foram transformados em $\sqrt{x + 1}$, onde x representa o dado obtido e submetidos à análise de variância e quando significativos os tratamentos foram comparados pelo teste

de Tukey à 5% de significância com auxílio do programa estatístico Assistat versão 7.7.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As concentrações de sais do meio de cultivo MS não afetaram as variáveis contaminação fúngica, contaminação bacteriana e oxidação na fase de estabelecimento *in vitro* de ápices caulinares de morangueiro cultivar Jonica, conforme pode ser verificado na tabela 1.

Tabela 1. Percentual de contaminação fúngica e bacteriana, oxidação e sobrevivência de explantes de morangueiro cultivar Jonica inoculados no meio de cultura MS com diferentes concentrações de sais

		Variáveis			
Tratamentos					
	Contaminação	Fúngica (%)	Contaminação Bacteriana (%)	Oxidação (%)	Sobrevivência (%)
100%		0 ns	6.7 ns	6.7 ns	86,7 a*
75%		6.7	6.7	13.3	66,7 ab
50%		20	20	20	40 b
CV (%)		15,23	18,35	22,10	12,18

*Médias seguidas de letras iguais não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey. ^{ns}: não significativo

Observou-se diferença significativa para a variável porcentagem de explantes sobreviventes em relação à utilização das diferentes concentrações de sais do meio MS.

As maiores taxas de sobrevivência dos explantes foram verificadas quando os mesmos foram inoculados em meio de cultura contendo 100% da concentração dos

sais, do que se comparado com o meio reduzido a $\frac{1}{2}$ da concentração (Tabela 1). Resultados semelhantes foram encontrados por Ribeiro et al. (2007, 2008) os quais analisaram as espécies *Ocimum basilicum* L. e *Zantedeschia aethiopica* L. Spreng. e verificaram que um maior número de folhas por explante foi obtido quando o cultivo ocorreu na concentração de sais original do meio MS.

De modo contrastante, Rodrigues et al. (2003) não observaram diferenças significativas no estabelecimento *in vitro* de porta-enxertos de *Prunus* sp. no meio MS nas concentrações de 75% e de 100%. Da mesma forma, Rocha et al. (2007) relataram que a concentração original e diluições (50 e 75%) do meio de cultivo MS não influenciaram o estabelecimento de porta-enxertos de *Prunus* cv. Tsukuba, obtendo médias elevadas para essa variável (96,67 a 99,33%).

Com o propósito de uma melhor visualização dos resultados, estes serão demonstrados a seguir em formato de figura. A variável sobrevivência está ilustrada na figura 1 e posteriormente, na figura 2, estão exemplificadas as variáveis que não diferiram estatisticamente entre os tratamentos.

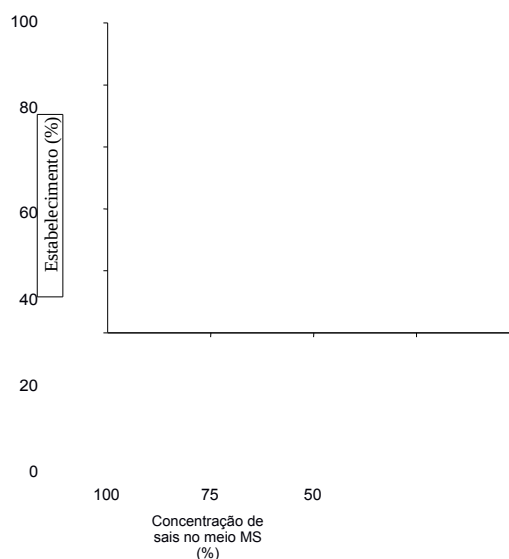


Figura 1. Porcentagens de sobrevivência de ápices caulinares cultivados em diferentes concentrações de sais do meio MS.

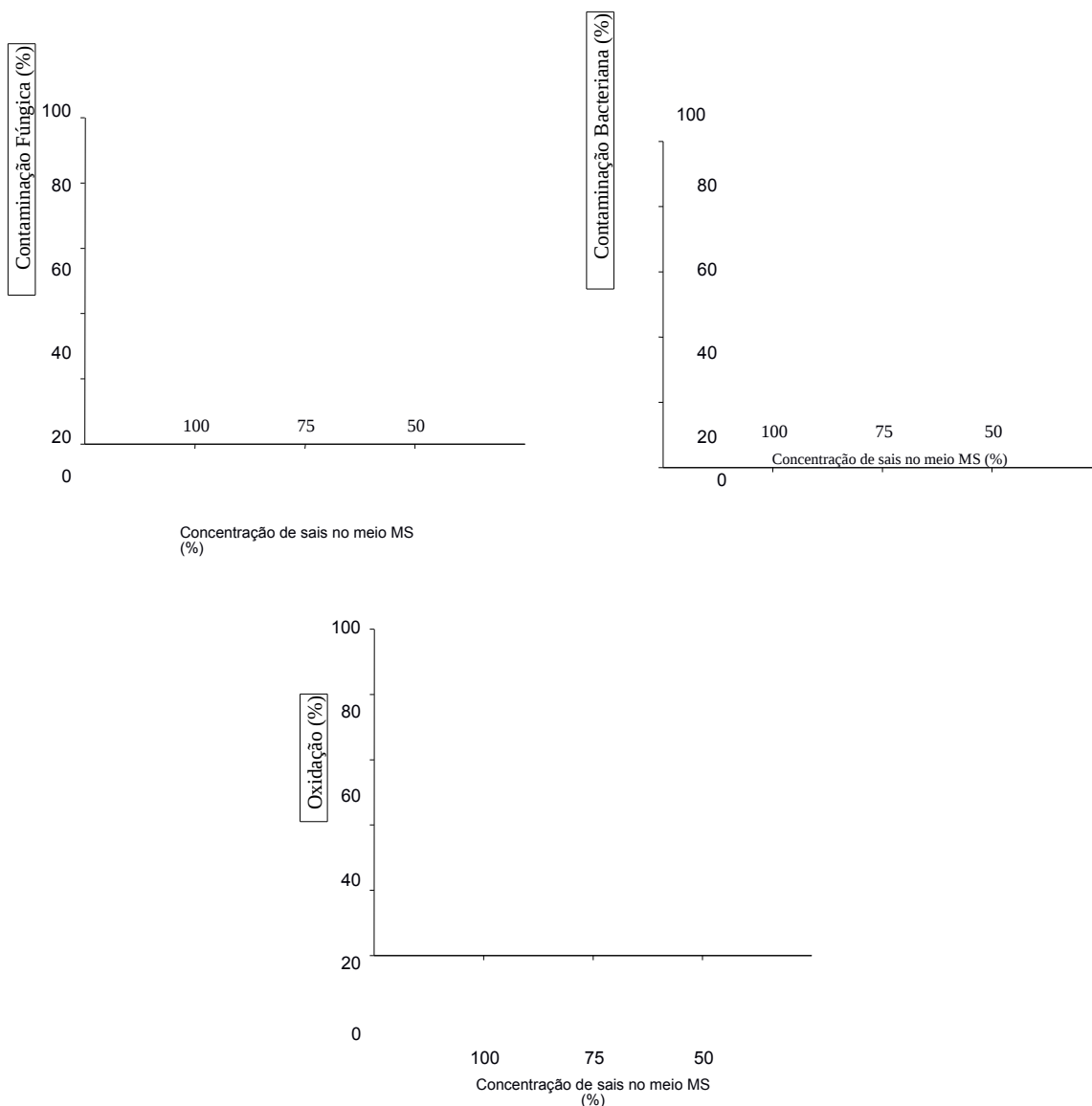


Figura 2. Porcentagens de contaminação fúngica, bacteriana e oxidação fenólica de ápices caulinares cultivados em diferentes concentrações de sais do meio MS.

4. CONCLUSÕES

A concentração de sais do meio MS influencia a sobrevivência de explantes no estabelecimento *in vitro* de ápices caulinares de morangueiro 'Jonica'.

Explantes inoculados em meio de cultura contendo 100% da concentração de sais proporcionam o melhor índice de sobrevivência, quando comparado com a utilização de diluições (75 e 50%).

5. REFERÊNCIAS

- ANTUNES, L. E. C.; VIGNOLO, G. K.; GONÇALVES, M. A. Morango mostra tendência de crescimento de mercado. In: Campo & Negócios, **Anuário HF**, p. 54- 57, 2014.
- BARBOSA, L.M.P. et al. Biochemical and morpho-anatomical analyses of strawberry vitro plants hyperhydric tissues affected by BA and gelling agents. **Revista Ceres**, v.60, n.2, p.152-160, 2013.
- CALDAS, L. S., HARIDASAN, P. & FERREIRA, M. E. Meios nutritivos. In: Torres AC, Caldas LS, Buso JA (Ed.). **Cultura de Tecidos e Transformação Genética de Plantas**. 1988. Brasília: EMBRAPA/CNPq, 1: 87-132
- DANTAS, M. C. A. et al. Enraizamento *in vitro* da amoreira-preta (*Rubus* sp.), cultivar Caigangue. **Agropecuária de Clima Temperado**. v. 3, n. 2, p. 123-130, 2000.
- DIAS, M. S. C. et al. Cultivares. **Informe Agropecuário**, v. 35, n. 279, p.39-47, 2014.
- FAGHERAZZI, A.F. et al. Strawberry production progress in Brazil. **Acta Horticulturae**, [s.l.], n. 1156, p.937-940, abr. 2017. International Society for Horticultural Science (ISHS).
- GEORGE, E. F.; SHERRINGTON, P. D. **Plant propagation by tissue culture**. Eversley: Exegetics, 1984. 709 p.
- HENZ, G. P. Desafios enfrentados por agricultores familiares na produção de morango no Distrito Federal. **Horticultura Brasileira**, v.28, p.260-265, 2010.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, v. 15, p. 473-497, 1962.
- OLIVEIRA R. P; SCIVITTARO W. B. Produção de frutos de morango em função de diferentes períodos de vernalização das mudas. **Horticultura Brasileira**, v.27, p.091- 095, 2009.
- OLIVEIRA, R. P. et al **Produção de Matrizes de Morangueiro por meio de Cultura de Tecidos**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2005. 34 p. (Sistemas de Produção, 7).
- PAIVA, P. D. O.; MAYER, M. B. D.; CAMPOS, R. J. C.; RODRIGUES, V. A.; PASQUAL, M. Propagação *in vitro* de gloxínia. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, v. 3, n. 2, p. 29-41, 1997.
- PASQUAL, M.; HOFFMANN, A.; RAMOS, J. D. **Cultura de tecidos: tecnologia e aplicação. Introdução: situação e perspectivas**. Lavras: UFLA/FAEPE, 2001. 72 p.
- RIBEIRO, M. de F. et al. Influência de diferentes concentrações de sais de MS e açúcares no cultivo *in vitro* de majericão roxo (*Ocimum basilicum* L.). **Revista Brasileira de Biociências**, v. 5, n. 2, p. 57-59, 2007. Suplemento.
- RIBEIRO, M. de N. O. et al. Diferentes concentrações de sais do meio MS e de sacarose na multiplicação *in vitro* de *Zantedeschia aethiopica* L. Spreng. (copo-de-leite). **Revista Ciência Agrônômica**, v. 39, n. 1, p. 101-106, 2008.
- ROCHA, P. S. G. et al. Estabelecimento *in vitro* de porta-enxertos de pessegueiros em diluições do meio MS acrescido de concentrações de BAP. **Bioscience Journal**, v. 23, n. 4, p. 83-87, 2007.

RODRIGUES, A. C. et al. Estabelecimento e multiplicação in vitro de Prunus sp. em diferentes meios de cultivo. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 25, n. 1, p. 131- 133, 2003.

SILVA, A.F.; DIAS, M.S.C.; MARO, L.A.C. Botânica e fisiologia do morangueiro. **Informe Agropecuário**, v. 28, n. 236, p.7-13, 2007.