

## Notas Científicas

### Propagação vegetativa in vitro e análise estrutural de macieira

Michele de Medeiros Rodrigues<sup>(1)</sup>, Maria das Dores Melo<sup>(1)</sup> e Magdi Ahmed Ibrahim Aloufa<sup>(1)</sup>

<sup>(1)</sup>Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Dep. de Botânica, Ecologia e Zoologia, Natal, RN. E-mail: dorinha.melo@uol.com.br, aloufa@digicom.br

Resumo – Foram testados os efeitos de diferentes concentrações de sacarose sobre a taxa multiplicativa de brotos in vitro e sobre a anatomia dos órgãos vegetativos de plântulas de macieira. A micropropagação foi obtida por organogênese direta a partir de ápices caulinares e segmentos internodais. Na análise estrutural, utilizou-se plântula desenvolvida em meio MS após 30 dias de cultura. A ausência de sacarose no meio de cultura ocasionou a morte ou atrofiamento do explante. A maior taxa de brotos foi obtida com os explantes de ápices caulinares, e o tamanho médio dos brotos, nas concentrações 30, 45 e 60 g L<sup>-1</sup>, variou entre 1 e 3 cm. A folha apresentou alterações estruturais de acordo com as concentrações de sacarose do meio.

Termos para indexação: *Malus domestica*, cultura in vitro, anatomia.

### In vitro propagation and structural analysis of apple tree

Abstract – Effects of different concentrations of saccharose on multiplicative rates of in vitro sprouts and on anatomy of vegetative organs of young apple plants were tested. The micropropagation was obtained by direct organogenesis starting from stem apexes and internodal segments. Explants were removed from young plants, germinated in vitro at two months age. For the anatomical analysis of vegetative organs, plantlets developed in M&S medium after 30 days of culture were used. Results showed that the medium without sucrose caused death of the explant. The highest rate of shoots appeared using explants of stem apexes, and the size of the shoots in the concentrations 30, 45 and 60 g L<sup>-1</sup> varied between 1 and 3 cm. The leaf presents structural alterations according to the medium sucrose concentration.

Index terms: *Malus domestica*, in vitro culture, anatomy.

As tendências do mercado mundial de alimentos indicam alto crescimento de produtos naturais não processados como frutas e vegetais (Farias & Martins, 2002). Atualmente, a produção de maçã é uma atividade econômica relevante na Região Sul do país, com repercussão no cenário internacional, e cerca de 1,5% da produção mundial (ABPM, 2004; Paganini et al., 2004).

As diferentes espécies e cultivares possuem características genéticas próprias, que as fazem responder diferentemente à micropropagação. Segundo Zimmerman (1983), existe uma variação comportamental em relação às condições a que são submetidas as espécies lenhosas na micropropagação e, por esta razão, é necessário que essa técnica seja adaptada às necessidades dos diferentes genótipos.

A sacarose é o açúcar mais utilizado na micropropagação (George & Sherrington, 1984), entretanto, teores elevados podem inibir a síntese de clorofila nas espécies cultivadas. Para Minotta (1981), em razão de o cultivo in vitro não ter condições de realizar a fotossíntese para sustentar seu crescimento e diferenciação, fontes de carboidrato são adicionadas, geralmente incorporando sacarose ao meio em concentrações de 2 a 3%, o que satisfaz a necessidade de carboidratos.

Segundo Calvete et al. (2002), o cultivo in vitro promove alterações anatômicas, morfológicas e fisiológicas nas plantas.

Este trabalho teve como objetivo verificar os efeitos de diferentes concentrações de sacarose sobre a taxa multiplicativa de brotos in vitro e sobre a anatomia dos

órgãos vegetativos de plântulas de *M. domestica* Borkh cv. Gala.

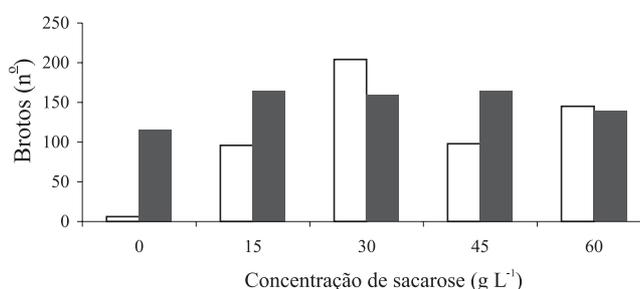
O experimento foi desenvolvido no Laboratório de Biotecnologia Vegetal do Dep. de Botânica, Ecologia e Zoologia da Universidade Federal do Rio Grande do Norte.

Ápices caulinares e segmentos internodais de macieira foram retirados de plântulas germinadas assepticamente *in vitro* com dois meses. Os explantes foram inoculados em meio de cultura sólido Murashige & Skoog (1962) suplementado com BAP (0,1 g L<sup>-1</sup>), com pH ajustado para 5,7. Diferentes concentrações de sacarose (0, 15, 30, 45 e 60 g L<sup>-1</sup>) foram testadas. Utilizaram-se, como parâmetros para avaliação dos resultados, o número e o comprimento de brotos.

Nas análises estruturais, utilizaram-se os órgãos vegetativos de plântulas desenvolvidas em meio MS após 30 dias de cultura. Os estudos foram realizados em material fresco e fixado em álcool 70%. As secções, obtidas à mão livre, foram coradas com dupla coloração (Kraus & Arduin, 1998). Na elaboração das ilustrações, utilizaram-se fotomicrografias registradas por meio de fotomicroscópio com projeção da escala micrométrica.

A ausência de sacarose provocou a morte ou o atrofiamento do explante. Na concentração de 15 g L<sup>-1</sup>, os níveis de brotações foram baixos, média de 96 brotos para segmentos internodais. Na concentração de 30 g L<sup>-1</sup> de sacarose, obteve-se a maior taxa de brotações, média de 204 brotos (Figura 1). Com relação ao tipo de explante, observou-se maior taxa de brotação em ápices caulinares. O tamanho médio dos brotos nas concentrações 15, 30, e 45 g L<sup>-1</sup> variou de 1 a 3 cm.

Os maiores números de brotos foram verificados nas concentrações de 30 e 45 g L<sup>-1</sup> de sacarose, que concorda com os resultados de Flores et al. (1999) que,



**Figura 1.** Número de brotos obtidos *in vitro* a partir de explantes de segmentos internodais (□) e ápices caulinares (■), em concentrações variáveis de sacarose.

ao estudarem o efeito da sacarose na multiplicação *in vitro* da macieira, observaram maior número de brotos na concentração de 45 g L<sup>-1</sup>.

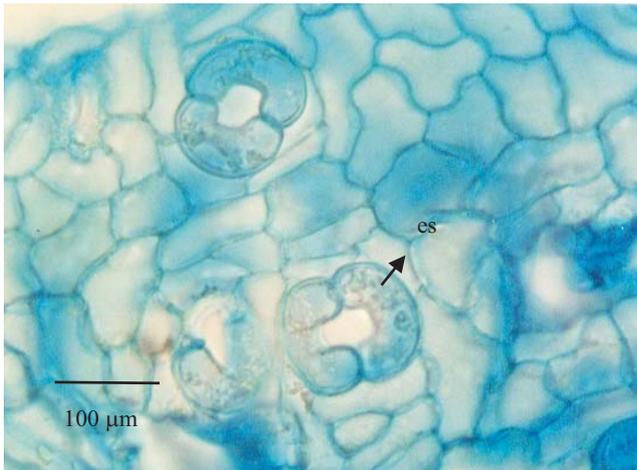
Com relação ao crescimento em altura dos brotos, os resultados mostraram maior taxa nas concentrações de 30 e 45 g L<sup>-1</sup> de sacarose. Chong & Pua (1985) observaram que o porta-enxerto de macieira Ottawa 3 apresentou maior crescimento das brotações, na fase de multiplicação, com 30 a 50 g L<sup>-1</sup> de sacarose.

As análises histológicas mostraram que, em estrutura primária de *M. domestica* com 30 dias, a epiderme é unisseriada na zona pilífera da raiz; algumas diferenciam-se em numerosos pêlos radiculares. A região do córtex constitui-se de 4 a 5 camadas de células parenquimáticas e a endoderme não apresenta estria de Caspary. No cilindro central, o periciclo é unisseriado. Os elementos do xilema e floema variam de tetra- a hexarca. Na espécie *Pyrostegia venusta*, *ex vitro*, Gabrielli (1992) verificou variação no número de pólos, na organização do estelo da raiz.

No terceiro internó, a anatomia do caule de *M. domestica* apresenta a mesma organização estrutural das espécies desenvolvidas *ex vitro*.

Na folha, em vista frontal, as células da epiderme da superfície adaxial apresentam sinuosidades recobertas por uma cutícula delgada. Calvete et al. (2002) verificaram em folhas de *Fragaria ananassa* Duch, *in vitro*, uma cutícula delgada em ambas as superfícies. Esses autores afirmam que, na maioria das espécies de plantas cultivadas *in vitro*, a cutícula é pouco desenvolvida, devido à alta umidade relativa (90 a 100%) que ocorre nessas condições. Em secção transversal, a folha é hipoestomática e dorsiventral. No mesófilo, o parênquima paliádico preenche cerca de 50%, enquanto o lacunoso é representado por células grandes. Pierik (1990) cita que plantas provenientes do cultivo *in vitro* possuem células paliádicas menores e em menor quantidade. Os feixes vasculares são do tipo colaterais, circundados por uma bainha parenquimática. Na epiderme da superfície abaxial, observam-se os estômatos, que formam células-guarda de formato arredondado; são grandes e estão sempre abertos (Figura 2).

A melhor concentração de sacarose utilizada para micropropagação foi de 30, 45 e 60 g L<sup>-1</sup>, sendo a maior taxa de multiplicação obtida com os explantes de ápices caulinares. O tamanho médio dos brotos varia entre 1 e 3 cm nas concentrações de 30, 45, 60 g L<sup>-1</sup>. Quanto à análise anatômica, verificou-se que o órgão que oferece



**Figura 2.** Vista frontal da epiderme abaxial da folha de macieira, evidenciando os estômatos abertos (es).

maior plasticidade é a folha, evidenciando-se a cutícula delgada, mesofilo reduzido e os estômatos sempre abertos.

### Referências

ABPM. **Dados estatísticos sobre a cultura da macieira.** Disponível em: <<http://www.abpm.org.br>>. Acesso em: 2 fev. 2004.

CALVETE, E.O.; AZEVEDO, M.; BORDIGNON, M.H.; SUZIN, M. Análises anatômicas e da biomassa em plantas de morangueiro cultivadas in vitro e ex vitro. **Horticultura Brasileira**, v.20, p.649-653, 2002.

CHONG, C.; PUA, E.C. Carbon nutrition of Ottawa 3 apple rootstock during stages of in vitro propagation. **Journal of Horticultural Science**, v.60, p.285-290, 1985.

FARIAS, R. de M.; MARTINS, C.R. Produção integrada de frutas - Revisão bibliográfica. **Revista da Faculdade de Zootecnia, Veterinária e Agronomia**, v.9, p.94-106, 2002.

FLORES, R.; LESSA, A.O.; PETERS, J.A.; FORTES, G.R. de L. Efeito da sacarose e do benomyl na multiplicação in vitro da macieira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.34, p.2363-2368, 1999.

GABRIELLI, A.C. Contribuição ao estudo anatômico de *Pyrostegia venusta* (Ker.) Miers - Bignoniaceae. **Revista Brasileira de Botânica**, v.15, p.95-104, 1992.

GEORGE, E.F.; SHERRINGTON, P.D. (Ed.). **Plant propagation by tissue culture.** Eversley: Exegetics, 1984. 709p.

KRAUS, J.E.; ARDUIN, M. **Manual básico de métodos em morfologia vegetal.** Seropédica: Edur, 1998. 198p.

MINOTTA, G. Ricerche sull impiego di differenti carboidrati nei substrati di micropropagazione del susino. **Rivista della Ortoflorofrutticoltura Italiana**, v.65, p.343-352, 1981.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F.A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. **Physiologia Plantarum**, v.15, p.473-497, 1962.

PAGANINI, C.; NOGUEIRA, A.; DENARDI, F.; WOSLACKI, G. Análise da aptidão industrial de seis cultivares de maçãs, considerando suas avaliações físico-químicas (dados da safra 2001/2002). **Ciência e Agrotecnologia**, v.28, p.1336-1343, 2004.

PIERIK, R.L.M. (Ed.). **Cultivo in vitro de las plantas superiores.** Madrid: Mundi-Prensa, 1990. 326p.

ZIMMERMAN, R.H. Factors affecting in vitro propagation of apple cultivars. **Acta Horticulturae**, v.131, p.171-178, 1983.

Recebido em 19 de julho de 2004 e aprovado em 5 de julho de 2005