



INDUÇÃO DE ENRAIZAMENTO IN VITRO E MICORRIZAÇÃO EX VITRO DE CULTURAS DE *MUSCADINIA ROTUNDIFOLIA*

Murilo Dalla Costa^{1*}, Jean Carlos Bettoni², Juliana Aparecida Souza³, João Frederico Mangrich dos Passos¹, Remi Natalin Dambrós⁴, Sidney Luiz Stürmer⁵

¹Pesquisador; Epagri Estação Experimental de Lages; ²Estudante de doutorado; Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal (PPGPV) CAV/Udesc; ³Estudante de mestrado; PPGPV, CAV/Udesc; ⁴Pesquisador aposentado; Epagri Estação Experimental de Videira; ⁵Professor; Universidade Regional de Blumenau (FURB).

*Epagri Estação Experimental de Lages, Rua João José Godinho, S/N, Bairro Morro do Posto, Lages - SC, CEP 88502-970; (49) 3289-6431, E-mail: murilodc@epagri.sc.gov.br

RESUMO

Cultivares de videira da espécie *Muscadinia rotundifolia* são fonte de resistência a agentes do declínio e morte de videiras no sul do Brasil e são empregados no melhoramento da frutífera. Devido à dificuldade de propagação via estaquia, a micropropagação e a micorrização são biotecnologias que podem acelerar a produção de mudas de *M. rotundifolia*. O objetivo do trabalho foi avaliar concentrações e origens de ácido indolacético (AIA) na indução de raízes in vitro e o efeito de inóculos de fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) no crescimento ex vitro do cultivar de videira Summit. Culturas in vitro foram transferidas a meio de enraizamento contendo cinco concentrações de AIA de origens sintética ou bacteriana. As plantas enraizadas foram aclimatizadas em substrato e inoculadas ou não (controle) com cinco isolados de FMAs. O aumento na concentração de AIA bacteriano aumentou a taxa de enraizamento. A inoculação de FMAs promoveu maior crescimento das mudas de videira. Conclui-se que o uso de AIA produzido a partir de suspensão bacteriana é alternativa para aumento da taxa de enraizamento in vitro e a inoculação de FMAs selecionados é uma estratégia para acelerar o crescimento de *M. rotundifolia* na fase de aclimatização ex vitro.

Palavras-chave: Summit, micropropagação, ácido indolacético, fungos micorrízicos arbusculares.

INTRODUÇÃO

Cultivares de *Muscadinia rotundifolia* são utilizados em programas de melhoramento de porta-enxertos e pela resistência a agentes do declínio e morte de videiras, um dos principais problemas fitossanitários da vitivinicultura no sul do Brasil (BOTTON; DALLA COLLETA, 2010). Um dos entraves na produção de mudas de *M. rotundifolia* é o enraizamento de estacas, que alcançam taxas abaixo de 50% mesmo com uso de auxinas (DENECA et al., 2009). A micropropagação e a micorrização são biotecnologias que podem melhorar a produção de mudas de *M. rotundifolia*. Técnicas de cultura de células e de tecidos vegetais permitem a propagação de genótipos superiores e a eliminação de viroses (BETTONI et al., 2016). A inoculação de FMAs, que se associam às raízes de plantas e formam uma simbiose mutualística denominada micorriza arbuscular, na fase de aclimatização, pode acelerar o crescimento de mudas. Em relação a *M. rotundifolia*, a avaliação de eficiência de isolados de FMAs se restringem a híbridos (ANZANELLO et al., 2011), não existindo relatos na literatura científica para a espécie. O objetivo do trabalho foi avaliar concentrações e origens de AIA na formação de raízes in vitro e o efeito de inóculos de FMAs no crescimento ex vitro do cultivar de videira Summit (*M. rotundifolia*).

METODOLOGIA

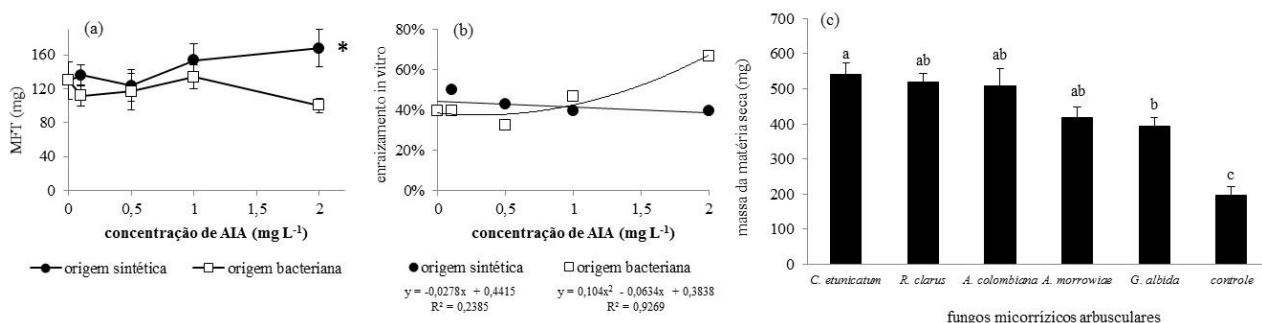
O experimento foi conduzido no laboratório de Biotecnologia da Epagri Estação Experimental de Lages, SC. Culturas in vitro do cv. Summit, em meio nutritivo Roubelakis (ROUBELAKIS-ANGELAKIS; ZIVANOVITC; 1991) com 0,5 mg L⁻¹ de 6-benzilaminopurina (BAP), foram transferidas a meios de enraizamento, constituído de Roubelakis sem BAP e com cinco concentrações

(0; 0,1; 0,5; 1,0; e 2,0 mg L⁻¹) de duas origens (sintética ou bacteriana) de AIA, um regulador de crescimento do tipo auxina e indutor de enraizamento. Solução-estoque de AIA (Sigma-Aldrich I2886) constituiu a fonte sintética. A origem bacteriana foi obtida de suspensão de cultivo de bactéria promotora de crescimento de plantas (*Rahnella* sp., POA127) em meio levedura-manitol com 500 mg L⁻¹ de L-triptofano. Após a quantificação da produção de AIA (ASGHAR et al., 2002), foram retirados volumes da suspensão bacteriana para corrigir as concentrações de AIA dos meios de cultura. Após 45 dias foram avaliadas o número e comprimento total de raízes e a massa da matéria fresca e estimado o percentual de enraizamento. O desenho experimental foi completamente ao acaso em arranjo fatorial 5 x 2, com 28 repetições cada. Os dados foram submetidos à análise de variância e em caso dessa ter sido significativa, as médias foram comparadas (Tukey, $p \leq 0.05$), exceto percentual de enraizamento, que foi submetido à análise de regressão. Culturas enraizadas foram aclimatizadas no substrato areia, nitossolo, Tecnomax F[®] (5:5:1, v/v/v) e inoculadas ou não (controle) com os isolados de FMAs *Claroideoglomus etunicatum* SCT080B, *Rhizophagus clarus* SCT720A, *Acaulospora colombiana* SCT115A, *A. morrowiae* SCT400B ou *Gigaspora albida* SCT200A (CICG – FURB). A inoculação foi realizada mediante deposição de 12 g de inóculo no leito de transferência das plantas. Após 100 dias, foi determinada a massa da matéria seca das plantas, após secagem a 60°C por 72h. O experimento foi em blocos ao acaso, com seis tratamentos e oito repetições cada. Os dados de massa da matéria seca foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas (Tukey, $p \leq 0,05$). Todas as análises foram realizadas na plataforma R (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2014).

RESULTADOS

O aumento na concentração de AIA no meio de cultura, independente da origem, não teve efeito no número e comprimento total de raízes formadas in vitro, não diferindo do controle sem o regulador de crescimento (dados não apresentados). Os meios com AIA sintético, independente da concentração, promoveram maior crescimento das culturas in vitro (Figura 1a, 1b). Por outro lado, esse tratamento não aumentou o enraizamento in vitro, enquanto que nas plantas em meio com AIA de origem bacteriana, o aumento na concentração da auxina induziu a formação de raízes, que alcançou 67% com adição de 2 mg L⁻¹ de AIA.

Figura 1 - Massa da matéria fresca (a) e taxa de enraizamento de culturas in vitro em meios contendo AIA de origens sintética ou bacteriana (b) e massa da matéria seca de *Muscadinia rotundifolia* cv. Summit inoculadas ou não (controle) com isolados de FMAs (c). * indica diferença entre os tratamentos de origem de AIA, independente da concentração. Barras indicam erro-padrão da média. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si (Tukey, $p \leq 0,05$).



A inoculação de FMAs na aclimatização teve efeito positivo no crescimento das plantas (Figura 1c). As videiras micorrizadas tiveram maior acúmulo de biomassa seca que as plantas não inoculadas. O maior incremento em biomassa foi por *Claroideoglomus etunicatum*, com acúmulo 170% superior ao controle. Além disso, foi constatada diferenças entre os isolados de FMAs, sendo que o isolado de *Claroideoglomus etunicatum* foi superior a *Gigaspora albida*.

DISCUSSÃO

O aumento de 27% na taxa de enraizamento das culturas in vitro do cultivar Summit com 2 mg L⁻¹ de AIA bacteriano foi resultado semelhante ao constatado em cultivar de porta-enxerto de macieira Marubakaido (MUNIZ et al., 2013), no qual a aplicação de suspensão de rizóbio produtor de AIA aumentou de 77% a 100% a formação de raízes de culturas in vitro. Esse aumento na taxa de enraizamento pode estar relacionado a outros reguladores ou promotores de crescimento produzidos pelo metabolismo bacteriano e presentes na suspensão de cultivo. A inoculação de FMAs promoveu a formação de micorrizas funcionais e assim maior crescimento das videiras. Micorrizas permitem a absorção de nutrientes de forma mais eficiente, especialmente fósforo, e de água, melhorando a nutrição e aumentando a resistência de videiras a estresses abióticos (TROUVELOT et al., 2015). Essa biotecnologia possui potencial de uso na propagação de videiras, pela incorporação de inóculos a base de FMAs em sistemas de produção de mudas micropropagadas.

CONCLUSÃO

- Ácido indolacético produzido a partir do cultivo de bactérias promotoras de crescimento de plantas é alternativa para indução de enraizamento in vitro de *M. rotundifolia*;
- A inoculação de FMAs selecionados é uma estratégia para acelerar o crescimento de *M. rotundifolia* na fase de aclimatização ex vitro.

REFERÊNCIAS

- ANZANELLO, R.; SOUZA, P.; CASAMALI, B. Fungos micorrízicos arbusculares (FMA) em porta-enxertos micropropagados de videira. **Bragantia**, v. 70, n. 2, p. 409-415, 2011.
- ASGHAR, H. et al. Relationship between in vitro production of auxins by rhizobacteria and their growth-promoting activities in *Brassica juncea* L. **Biology and Fertility of Soils**, v.35, n.4, p. 231-237, 2002.
- BETTONI, J. C. et al. Cryotherapy: a new technique to obtain grapevine plants free of viruses. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 38, n. 2, p. 1-13, 2016.
- BOTTON, M.; DALLA COLLETA, V. Avaliação da resistência de cultivares de *Vitis rotundifolia* à pérola-da-terra (Hemiptera: Margarodidae) na região sul do Brasil. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 32, n. 2, p. 213-216, 2010.
- DENEGA, S. et al. Enraizamento de estacas de nove cultivares de *Vitis rotundifolia* na primavera e verão tratados com ácido indol butírico. **Scientia Agraria**, v. 10, n. 3, p. 199-207, 2009.
- MUNIZ, A.W. et al. Rooting and acclimatization of micropropagated Marubakaido apple rootstock using *Adesmia latifolia* rhizobia. **SpringerPlus**, v. 2, n. 1, p. 437, 2013.
- R Development Core Team (2014) R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. < <http://www.R-project.org/> >
- ROUBELAKIS-ANGELAKIS, K. A.; ZIVANOVITC, S. B. A new culture medium for in vitro rhizogenesis of grapevine (*Vitis* spp.) genotypes. **HortScience**, v. 26, n. 12, p. 1551-1553, 1991.
- TROUVELOT, S. et al. Arbuscular mycorrhiza symbiosis in viticulture: a review. **Agronomy for sustainable development**, v. 35, n. 4, p. 1449-1467, 2015.