



# Aclimatização do porta-enxerto de macieira Seleção 69 em diferentes meios

Aleksander Westphal Muniz<sup>1</sup>, Fernanda Grimaldi<sup>2</sup>, Murilo Dalla Costa<sup>3</sup> e Gilberto Luiz Dalagnol<sup>4</sup>

**Resumo** – A fase de aclimatização é um dos fatores limitantes para a grande maioria das plantas micropropagadas devido às perdas decorrentes de estômatos inoperantes e à inatividade da fotossíntese. Um dos fatores mais importantes durante a aclimatização é a escolha do substrato ideal. O objetivo deste trabalho foi determinar os melhores substratos para aclimatização do porta-enxerto micropropagado de macieira Seleção 69. O delineamento experimental utilizado foi o completamente casualizado, com sete repetições. Os explantes do porta-enxerto de macieira foram transferidos para bandejas alveoladas com 128 células e aclimatizados em substratos com diferentes misturas de Plantmax, casca de arroz carbonizada e areia. A irrigação por nebulização foi realizada diariamente. Após 30 dias foi realizada a avaliação da matéria seca aérea e radicular. Os resultados obtidos foram analisados pela análise de variância e pela comparação de médias pelo método Scott-Knott. Nas condições desse experimento, os melhores substratos para aclimatização foram T1 (Plantmax 100%), T2 (Plantmax 80% + casca de arroz carbonizada 20%) e T6 (Plantmax 40% + casca de arroz carbonizada 30% + areia média 30%), tanto para a produção de matéria seca da parte aérea quanto radicular. Devido ao maior espaço de aeração, sugerem-se os substratos T1 e T6. Além disso, esses substratos apresentam macro- e micronutrientes em quantidades suficientes para o bom desenvolvimento das plantas de macieira micropropagadas.

**Termos para indexação:** micropropagação, substrato, *Pyrus malus*.

## Acclimatization of micropropagated apple rootstock Seleção 69 in different substrates

**Abstract** – The stage of acclimatization is a limiting factor for most micropropagated plants due to losses of inoperative stomata and inactivity of photosynthesis. One of the most important factors during acclimatization is the ideal choice of substrate. Therefore, the objective of this study was to determine the best substrates for acclimatization of the micropropagated apple rootstock Seleção 69. To evaluate the best substrate, a completely randomized design with seven replications was used. The explants of micropropagated apple rootstock S69 were transferred to trays with 128 cells. These explants were planted on substrates with different mixtures of Plantmax, rice hulls and sand. Spray irrigation was performed daily. After 30 days the evaluation of the root and shoot dry matter was realized. The results were analyzed by variance and Scott-Knott's test of means. Results showed that the best substrate for acclimatization were T1, T2 and T3, which presented shoot dry matter of 4.80, 4.14 and 5.03mg per plant, respectively. For roots the best dry matter production was obtained by substrates T1, T2, T5 and T6, with 0.96, 0.95, 1.23 and 1.39mg per plant, respectively. Considering both the shoot and the root dry matter, it can be concluded that the best substrates were T1, T2 and T6. However, substrates T1 and T6 must be selected for presenting the best physical and chemical characteristics.

**Index terms:** micropropagation, *Pyrus malus*, substrate.

## Introdução

A micropropagação *in vitro* tem sido amplamente utilizada na multiplicação de várias espécies vegetais, incluindo a macieira. Entretanto, sua utilização está limitada pela perda de plantas após sua transferência para o *ex vitro* (Pospíšilová et al., 1999). Esse tem sido o maior ponto de estrangulamento na

micropropagação de muitas espécies (Hazarika, 2003).

Durante o processo de cultivo *in vitro*, as plantas crescem sob baixos níveis de luminosidade, condição asséptica e alta umidade relativa do ambiente. Além disso, os meios de cultura fornecem os açúcares e nutrientes suficientes para o seu desenvolvimento em condições heterotróficas (Hazarika, 2003). Tal

processo pode determinar anomalias morfológicas e fisiológicas, como estômatos não funcionais e diminuição da fotossíntese, respectivamente (Rogalski et al., 2003). Dessa forma, as plantas apresentam dificuldades de sobrevivência quando colocadas diretamente na casa de vegetação ou no campo. Assim, as plantas devem passar gradualmente da condição *in*

Aceito para publicação em 13/6/11.

<sup>1</sup> Eng.-agr., Dr., Embrapa Amazônia Ocidental, C.P. 319, 69010-970 Manaus, AM, fone: (92) 3303-7800, e-mail: aleksander.muniz@cpaa.embrapa.br.

<sup>2</sup> Bióloga, M.Sc., e-mail: fernandagrimaldi@gmail.com.

<sup>3</sup> Eng.-agr., Dr., Epagri/Estação Experimental de Lages, C.P. 181, 88502-970 Lages, SC, fone: (49) 3224-4400, e-mail: murilodc@epagri.sc.gov.br.

<sup>4</sup> Eng.-agr., Dr., Epagri/Estação Experimental de Lages, e-mail: gldalagnol@epagri.sc.gov.br.

*vitro* para a condição *ex vitro*. Tal processo gradual denomina-se aclimatização.

Para a sobrevivência das mudas durante a aclimatização, faz-se necessário aumentar os teores de umidade e diminuir a luminosidade do ambiente. Além disso, durante esse processo, deve-se obter a formação de novas raízes. A obtenção dessas raízes deve ocorrer em substratos porosos com características físicas e químicas adequadas ao desenvolvimento da espécie (Pedrotti & Voltolini, 2001). Desse modo, a planta apresentará um desenvolvimento morfofisiológico adequado referente à transpiração, condutância estomática e fotossíntese (Vantelgen et al., 1992; Díaz-Pérez et al., 1995).

Assim, o objetivo deste trabalho foi a aclimatização do porta-enxerto micropropagado Seleção 69 em diferentes substratos.

## Material e métodos

O substrato comercial utilizado no processo de aclimatização foi o Plantmax HT. Os condicionadores usados na elaboração das misturas foram areia média (AM) e casca de arroz carbonizada (CAC). Os tratamentos consistiram na mistura do substrato comercial com os condicionadores areia e casca de arroz carbonizada, conforme a Tabela 1. O delineamento experimental adotado foi o completamente casualizado, com sete repetições. Cada parcela foi composta de oito plantas. A caracterização física dos substratos foi realizada conforme Kämpf & Fermino (2000). Já a caracterização química foi

realizada no laboratório de nutrição vegetal da Epagri/Estação Experimental de Caçador conforme as normas da Rolas (Rede Oficial de Laboratórios de Análise de Solo e de Tecido Vegetal dos Estados do Rio Grande do Sul e de Santa Catarina).

As plantas do porta-enxerto Seleção 69 (S69) foram transferidas do cultivo *in vitro* para bandejas de isopor alveoladas com 128 células contendo os diferentes substratos. Essas bandejas foram alocadas em túneis plásticos de aclimatização com nebulização. A nebulização foi realizada em dois turnos: o primeiro a cada hora por 1 minuto, e o segundo a cada 1,5 hora por 1 minuto. O primeiro turno foi utilizado durante a primeira semana, enquanto o segundo foi utilizado nas três semanas subsequentes. O experimento foi realizado com seis substratos, e foi avaliada a produção de matéria seca da parte aérea e das raízes do porta-enxerto micropropagado.

Os resultados foram submetidos à análise de variância e, para as variáveis com efeito de substratos significativo ( $p < 0,05$ ), as médias foram comparadas pelo teste de Scott-Knott ( $\alpha = 0,05$ ). A análise estatística foi realizada com o auxílio do programa Assistat 7.5.

O experimento foi conduzido na unidade de aclimatização da Epagri/Estação Experimental de Lages, SC. O experimento foi instalado no dia 10/11/2004 e avaliado no dia 9/12/2004.

## Resultados e discussão

A caracterização física dos substratos revelou que somente os

substratos T1 e T6 apresentaram porosidade total ideal entre 75% e 90% (Verdonck & Gabriels, 1988; Lemaire, 1995; Kämpf, 2002). Esses valores de porosidade permitem a manutenção de um conteúdo maior de água durante o cultivo das plantas em substratos. Em termos de densidade seca os substratos T1, T2 e T6 apresentaram valores menores do que o ideal entre 400 e 500g/L (Bunt, 1973). Entretanto, a densidade seca apresenta relação inversamente proporcional com a porosidade. Dessa forma, à medida que a densidade aumenta, ocorre uma restrição no crescimento radicular vegetal (Singh & Sinju, 1998). Por sua vez, o espaço de aeração dos substratos T1, T2 e T6 foram superiores ao valor considerado ideal, de 30%, em horticultura (Penningsfeld, 1983). Todavia, esse valor de espaço de aeração se aplica em sistemas de produção de mudas com irrigação esporádica, onde o volume de ar existente no substrato é dependente de seu teor e sua capacidade de retenção de água (Kämpf, 2002). E, ainda, os substratos T1, T2 e T6 apresentaram valores de capacidade de campo próximos aos valores sugeridos por De Boedt & Verdonck (1972) e por Kämpf (2002), os quais variam entre 24% e 40%.

A caracterização química dos substratos T1, T2 e T6 resultou em valores de macronutrientes diferentes dos recomendados para as necessidades da cultura da maçã (Tabela 2). Os valores de nitrogênio (8,40, 8,20 e 2,90g/kg) apresentados por T1, T2 e T6 foram menores que a recomendação mínima de 23g/kg, sugerida por Malavolta et al. (1997). O substrato T1 com valor de 3,60 apresentou disponibilidade de fósforo maior que a máxima recomendada de 2,5g/kg, enquanto os substratos T2 e T6, com 1,60 e 1,20g/kg respectivamente apresentaram valores inferiores ao mínimo recomendado, de 2g/kg. Em termos de potássio, os substratos T1, T2 e T6, com valores 4,40, 2,80 e 1,60g/kg respectivamente apresentaram valores abaixo do ►

Tabela 1. Composição dos substratos

Substrato (T)	Plantmax	CAC	AM
	.....%		
T1	100	-	-
T2	80	20	-
T3	70	20	10
T4	60	30	10
T5	50	30	20
T6	40	30	30

Nota: CAC = casca de arroz carbonizada; AM = areia média.

Tabela 2. Caracterização física dos substratos

Tratamento	DU	MS	DS	EP	Sd	DA	PA	PT	CapV	CapV	EA
	g/L	%	g/L	%	%	g/cm <sup>3</sup>	g	%	g	%	%
T1	60,8	60,4	36,72	54	46	0,48	230	95,8	80	33,33	62,47
T2	50,6	61,7	31,22	58	42	0,53	135	58,69	85	36,95	21,74
T3	66,1	76,28	50,4	56	44	0,76	200	86,95	110	47,82	39,13
T4	65,1	74,26	48,34	58	42	0,63	210	91	100	43,47	47,53
T5	67,04	78,37	52,54	60	40	0,7	210	95	90	40,9	54,1
T6	76,8	84,55	64,93	56	44	0,88	195	84,78	95	41,3	43,48

Nota: DU = densidade úmida; MS = matéria seca; DS = densidade seca; EP = espaço poroso; Sd = sólido; DA = densidade atual; PA = peso da água; PT = Porosidade Total; CapV = retenção de água na capacidade de vaso; EA = espaço de aeração na capacidade de vaso.

Tabela 3. Caracterização química dos substratos

Substrato	N	P	K	Ca	Mg	Fe	Mn	Zn	Cu	B	C
	g/kg					mg/kg					%
T1	8,4	3,6	4,4	12	18	4.978	250	72	52	27	26,1
T2	8,2	1,6	2,8	10,2	16	4.860	224	70	56	31	28,8
T3	5,1	2	2,4	6	11,2	4.632	194	40	48	21	12,8
T4	4,7	3,6	2,4	4,8	10,2	4.534	162	68	76	15	16,2
T5	3,7	1,6	2	4	8	4.402	140	42	54	11	13,1
T6	2,9	1,2	1,6	3,2	6,2	4.330	118	40	72	11	7
<b>Ideal</b>	<b>23 a 25</b>	<b>2 a 2,5</b>	<b>15 a 20</b>	<b>14 a 20</b>	<b>2 a 4</b>	<b>100 a 200</b>	<b>50 a 100</b>	<b>20 a 30</b>	<b>5 a 10</b>	<b>30 a 65</b>	<b>&gt;25</b>

Nota: Valores recomendados de N, P, K, Ca, Mg, Fe, Mg, Zn, Cu e B conforme Malavolta et al. (1997) e porcentagem de C conforme Schmitz et al. (2002).

mínimo recomendado de 15g/kg. Por sua vez, os valores de cálcio de T1, T2 e T6 (12, 10,20 e 3,20g/kg) também foram inferiores ao mínimo recomendado de 14g/kg. Já para o magnésio, os substratos T1, T2 e T6 apresentaram respectivamente valores de 18, 16, e 6,20g/kg, superiores ao máximo recomendado de 4g/kg.

A caracterização química dos substratos T1, T2 e T6 revelou que teores dos micronutrientes (Fe, Zn, Mn e Cu) estavam acima do máximo recomendado para a cultura da macieira, ao passo que o teor de boro desses substratos ficou abaixo do mínimo recomendado (Tabela 3).

Conforme a matéria seca da parte aérea (MSPA) do porta-enxerto da macieira Seleção S69, a interpretação dos resultados indicou que os substratos podem ser separados em dois grupos distintos (Tabela 4). O grupo I (T1, T2 e T6) apresentou uma produção de matéria seca da parte aérea maior que o grupo II (T3, T4, T5)

com 4,14 a 5,03mg e 1,19 a 2,89mg, respectivamente. A maior massa de matéria seca da parte aérea obtida no grupo I foi similar aos resultados observados em outros trabalhos de aclimatização de porta-enxertos de macieira M9 e Marubakaido, aclimatizados em substrato Plantmax (Pedrotti & Voltolini, 2001; Hoffmann et al., 2001). O substrato Plantmax também permitiu bons desempenhos na produção de matéria seca da parte aérea em porta-enxertos de videira (Zemke et al., 2003).

Com relação à produção de matéria seca das raízes (MSPR) dos porta-enxertos de macieira Seleção S69, os substratos também podem ser separados em dois grupos diferentes (Tabela 4). O grupo I (T1, T2, T5 e T6) produziu entre 0,95 e 1,39mg de matéria seca radicular e foi superior ao grupo II (T3 e T4), que

produziu entre 0,32 e 0,38mg. A produção de matéria seca radicular obtida nos substratos do grupo I corresponde às observações realizadas por Hoffmann et al. (2001), Zemke et al. (2003) e Villa et al. (2006) na aclimatização de outros porta-enxertos de macieira, pereira, videira e amoreira-preta.

Considerando tanto a produção de matéria seca da parte aérea quanto

Tabela 4. Matéria seca produzida de porta-enxertos micropropagados de macieira Seleção S69 em diferentes substratos

Substrato (T)	MSPA	MSPR
	mg/planta	
T1	4,80 a <sup>(1)</sup>	0,96 a
T2	4,14 a	0,95 a
T3	1,19 b	0,38 b
T4	1,56 b	0,32 b
T5	2,89 b	1,23 a
T6	5,03 a	1,39 a

<sup>(1)</sup> Médias com a mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste Scott-Knott ( $\alpha = 0,05$ ).

Nota: MSPA = matéria seca da parte aérea; MSPR = matéria seca das raízes.

radicular dos porta-enxertos de macieira Seleção S69, o melhor desempenho foi obtido nos substratos T1, T2 e T6, possivelmente porque esses substratos apresentaram características químicas e físicas que permitiram a aclimatização no período de 30 dias (Tabelas 2 e 3).

## Conclusão

Nas condições desse experimento, os melhores substratos para aclimatização do porta-enxerto S69 foram T1, T2 e T6, tanto para a produção de matéria seca da parte aérea quanto radicular. No entanto, por apresentarem maior espaço de aeração, sugerem-se os substratos T1 e T6. Além disso, esses substratos apresentam macro- e micronutrientes em quantidades suficientes para o bom desenvolvimento das plantas de macieira micropropagadas.

## Literatura citada

- BUNT, A.C. Some physical and chemical characteristics of loamless pot-plant substrates and their relation to plant growth. *Plant and Soil*, The Hague, n.38, p.1954-1965, 1973.
- DE BOODT, M.; VERDONCK, O. The physical properties of the substrates in horticulture. *Acta Horticulturae*, Wageningen, v.26, p.37-44, 1972.
- DÍAZ-PÉREZ, J.C.; SUTTER, E.G.; SHACKEL, K.A. Acclimatization and subsequent gas-exchange, water relations, survival and growth of microcultured apple plantlets after transplanting them in soil. *Physiologia Plantarum*, Copenhagen, v.95, n.2, p.225-232, 1995.
- HAZARIKA, B.N. Acclimatization of tissue-cultured plants. *Current Science*, Stamford, v.85, n.12, p.1704-1712, 2003.
- HOFFMANN, A.; PASQUAL, M.; CHALFUN, N.N.J. et al. Efeito de substratos na aclimatização de plantas micropropagadas do porta-enxerto de macieira 'Marubakaido'. *Ciência e Agrotecnologia*, Lavras, v.25, n.2, p.462-467, 2001.
- KÄMPF, A.N. *Análise física de substratos para plantas*. Viçosa: SBCS, 2002. p.5-7. (Boletim Informativo, 26).
- KÄMPF, A.N.; FERMINO, M.H. *Substrato para Plantas: a base da produção vegetal em recipientes*. v.1. Porto Alegre: Genesis, 2000. 312p.
- LEMAIRE, F. Physical, chemical and biological properties of growing medium. *Acta Hort.*, Wageningen, v.396, p.273-284, 1995.
- MALAVOLTA, E.; VITTI, G.C.; OLIVEIRA, S.A. *Avaliação do estado nutricional das plantas*. princípios e aplicações. 2.ed. Piracicaba, SP: Potafos, 1997. 319p.
- PEDROTTI, E.L.; VOLTOLINI, J.A. Enraizamento *ex vitro* e aclimatização do porta-enxerto de macieira 'M.9'. *Revista Brasileira de Fruticultura*, Jaboticabal, v.23, n.2, p.234-239, 2001.
- PENNINGSFELD, F. Kultur-substrate für den gartenbau, besonders in Deutschland: ein kritischer Überblick. *Plant and Soil*, The Hague, v.75, p.269-281, 1983.
- POSPÍSILOVÁ, J.; TICHÁ, I.; KADLECEK, P. et al. Acclimatization of micropropagated plants to *ex vitro* conditions. *Biologia Plantarum*, Prague, v.42, n.4, p.481-497, 1999.
- ROGALSKI, M.; MORAES, L.K.A. de; FELISBINO, C. et al. Aclimatização de porta-enxertos de *Prunus* sp. micropropagados. *Revista Brasileira de Fruticultura*, Jaboticabal, v.25, n.2, p.279-281, 2003.
- SCHMITZ, J.A.K.; SOUZA, P.V.D.; KÄMPF, A.N. Propriedades químicas e físicas de substratos de origem mineral e orgânica para o cultivo de mudas em recipientes. *Ciência Rural*, Santa Maria, v.32, p.937-944, 2002.
- SINGH, B.P.; SINJU, U.M. Soil physical and morphological properties and root growth. *HortScience*, Alexandria, v.33, p.966-971, 1998.
- VANTELGEN, H.J.; VANMIL, A.; KUNNEMAN, B. Effect of propagation and rooting condition on acclimatization of micropropagated plants. *Acta Botanica Neerlandica*, Amsterdam, v.41, n.4, p.453-459, 1992.
- VERDONCK, O., GABRIELS, R. Substrate requirements for plants. *Acta Horticulturae*, Wageningen, v.221, p.19-23, 1988.
- VILLA, F.; PASQUAL, M.; ARAÚJO, A.G. de et al. Micropropagação da amoreira-preta (*Rubus* spp.) e efeito de substratos na aclimatização de plântulas. *Acta Scientiarum*, Maringá, v.28, n.1, p.47-52, 2006.
- ZEMKE, J.M.; PEREIRA, F.; LOVATO, P.E. et al. Avaliação de substratos para inoculação micorrízica e aclimatização de dois porta-enxertos de videira micropropagados. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v.38, n.11, p.1309-1315, nov. 2003. ■