

ACLIMATAÇÃO DE VITROPLANTAS DE MORANGUEIRO EM PRESENÇA DE FUNGOS ENDOMICORRÍZICOS

ACCLIMATIZATION OF STRAWBERRY VITROPLANTS IN THE PRESENCE OF ENDOMICORRHIZAL FUNGI

Carlos Eduardo Corsato*
Otto Jesu Crocomo**

RESUMO: A fim de acompanhar a influência da natureza do cultivar, da altura das vitroplantas e da infecção com endomicorizas na condução do processo de aclimação do morangueiro (*Fragaria x ananassa* Duch.) micropropagado a partir da cultura de meristemas dos cvs. Sequóia, Campinas e AGF-80, as mudas foram mantidas em túneis de plástico com ambiente semi-controlado de estufa, irrigação semanal com água e quinzenal com solução nutritiva e com desenho experimental inteiramente casualizado. Na coleta do material vegetal, as vitroplantas foram divididas em três grupos de acordo com a altura das mesmas: pequeno (até 2 cm de altura), médio (de 2 a 5 cm), e grande (acima de 5 cm). As vitroplantas individualizadas foram plantadas em recipientes de plástico, contendo areia lavada, em presença de fungos endomicorrízicos *Acaulospora* sp. e *Glomus* sp. (MVA), dispostos em bandejas de plásticos, contendo solução nutritiva. Durante o processo de aclimação, observou-se que o cultivar Sequóia apresentou atraso na emissão de folhas novas em relação aos outros dois cultivares, sendo que, aos 60 dias, a taxa de sobrevivência apresentou diferenças significativas ao nível de 5% entre os 3 cultivares: Campinas e AGF-80, ca. 95% e Sequóia ca. 85%. Essa taxa foi influenciada pelo tamanho das vitroplantas sendo que as de tamanho grande apresentaram os menores índices de mortalidade. A percentagem de sobrevivência superou o nível de 75% independente da natureza do cultivar. Nos três cultivares, observou-se diferença estatística ao nível de 5% entre a colonização radicular pelos esporos MVA: *Acaulospora* sp. (61,3%) e *Glomus* sp. (53,3%). As vitroplantas colonizadas por *Glomus* sp. mostraram aumento significativo ao nível de 5% na altura (5,2 cm), diâmetro do colo (2 mm) e no número de folhas (5), em relação às vitroplantas testemunhas, as quais apresentaram altura 4,5 cm, diâmetro do colo 1,8 mm e número de folhas 4,5. A inoculação com *Acaulospora* sp. resultou num aumento significativo apenas na altura das vitroplantas de morangueiro, em relação às testemunhas.

PALAVRAS-CHAVE: *Fragaria*; micropropagação; endomicorriza

ABSTRACT: The present research was designed to study the behavior of different sizes of strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch.) vitroplants. They were obtained from meristem culture of Sequóia, Campinas and AGF-80 cultivars. After they were acclimated in plastic tunnels maintained in a pad house. The vitroplants were transferred from *in vitro* to *ex vitro* condition to plastic containers having washed sand as a substrate and inoculated with endomicorrhizal fungi (MVA) of the *Acaulospora* sp. and *Glomus* sp. genera with a complete randomized experimental design. The

* Depto. de Ciências Agrárias - UNIMONTES. e-mail: corsatoce@zipmail.com.br

** Centro de Biotecnologia Agrícola, - USP / ESALQ - Piracicaba, SP

vitroplants were divided into three groups: small (up to 2 cm height), medium (between 2 and 5 cm height) and big (above 5 cm height) being irrigated with distilled water weekly and with nutrient solution every fortnight. The survival rate 60 days after acclimatization was higher for Campinas and AGF-80 (95%) than for Sequóia (85%) where the later delay of emission new leaves during the process was observed. The survival rate was influenced by the size of the vitroplants; it was higher to plants in the big size, being ca. 75% independent of the nature of the cultivar. In the three cultivars statistical differences at 5% level was observed between the root colonization by MVA: *Acaulospora* sp. (61,3%) and *Glomus* sp. (53,3%). In relation to the control, under *Acaulospora* sp., only a significant increase in height has been observed.

KEY WORDS: *Fragaria*; micropropagation; endomicorrhizae

1- INTRODUÇÃO

A utilização da micropropagação para o morangueiro tem se tornado uma prática comum para a multiplicação rápida, e em grande escala, de plantas matrizes (Boxus et al., 1984), destinado tanto para fins de pesquisa quanto para a exploração comercial.

O período de transição da fase in vitro para a ex vitro, conhecida como período de aclimatação, é uma das etapas mais importantes no processo de obtenção de plantas pela técnica de cultura de tecidos (Preece & Sutter, 1991). Durante a aclimatação, as plantas são transferidas de um ambiente controlado para um ambiente não controlado, onde elas têm que reequilibrar suas atividades fisiológicas, dentre as quais a absorção de água e nutrientes e a atividade fotossintética (Desjardins et al., 1987). Essa fase de transição predispõe as plantas a um desequilíbrio hídrico e nutricional, decorrente de limitações de natureza anatômica e fisiológica, características das plantas micropropagadas. Tais limitações incluem cutícula pouco espessa, estômatos não funcionais, nutrição heterotrófica e sistema radicular pouco desenvolvido (Azcón-Aguilar & Barea, 1997). A aclimatação inadequada das plantas micropropagadas pode resultar, por essas razões, numa alta porcentagem de mortalidade. É imprescindível que as modificações do ambiente durante a aclimatação das plantas micropropagadas sejam conduzidas de forma controlada e contínua, possibilitando um ajuste gradativo das mesmas às novas condições. Em adição, durante a multiplicação de plantas in vitro, é comum a ocorrência de plantas em diferentes estágios de desenvolvimento num mesmo recipiente de cultivo. No momento da aclimatação, a discriminação das plantas por quaisquer razões pode, em alguns casos, resultar negativamente na contabilidade do processo.

Inúmeros estudos têm sido conduzidos com a finalidade de otimizar o ambiente *ex vitro*, de forma a diminuir o índice de mortalidade das plantas micropropagadas durante a sua aclimatação. Dentre os aspectos estudados citam-se, entre outros, alterações nas características do microclima (Desjardins et al., 1987; Zhang & Stoltz, 1989), o tipo e níveis de fertilidade do substrato empregado (Azcón - Aguilar et al., 1992; Williams et al., 1992; Wang et al., 1993; Noval et al., 1995), ou o uso de fungos endomicorrízicos (Kiernam et al., 1984; Chang, 1986; Hrselová et al., 1989; Chávez & Ferrera-Cerrato, 1990). Poucos trabalhos têm relacionado o sucesso da aclimatação às características morfológicas da planta; por exemplo, o tamanho e massa das plantas, a presença ou a dimensão do sistema radicular e de folhas, etc.

Alguns estudos têm sugerido que o sucesso da aclimatação das plantas oriundas de cultura *in vitro* seria dependente da quantidade de material armazenado nos seus tecidos (raiz e parte aérea), o qual serviria como fonte de carbono a ser consumido no início do processo, até a emergência de novas folhas (Grout & Millan, 1985; Desjardins et al., 1987). Hildebrand & Harney (1983), estudando o efeito de diferentes tamanhos de plantas na porcentagem de enraizamento durante a aclimatação de *Seringa vulgaris* micropropagada, concluíram que aquelas de maior tamanho enraizavam mais intensamente. Em trabalhos posteriores, Zhang & Stoltz (1989), estipularam um tamanho padrão mínimo, a partir do qual plantas micropropagadas de *Euphorbia fulgens* teriam poucas chances de sobrevivência durante a fase de aclimatação. Nesse mesmo ano, Christie & Brascamp (1989), ao estudarem o potencial de enraizamento de plantas micropropagadas de *Dafne adora* na fase de aclimatação, constataram que todas as plantas apresentaram boa capacidade de enraizamento, independente do seu tamanho e massa iniciais.

Os fungos endomicorrízicos do tipo vesículo-arbusculares (MVA) estão presentes em 90% das plantas vasculares (Oliveira, 1986). Em condições que favoreçam a simbiose, o manto de hifas que envolve as raízes pode trazer inúmeros benefícios à planta hospedeira. Dentre eles citam-se o aumento na absorção de água e nutrientes do solo, a redução dos danos provocados pelo ataque de pragas e doenças, além de auxiliar no ajustamento de plantas a ambientes adversos (Souza, 1986). De acordo com Nemeč (1974) e Kiernam et al. (1984), o morangueiro é hospedeiro de fungos MVA. Vários autores têm destacado a viabilidade em

se inocular os fungos MVA ao morangueiro micropropagado em face dos inúmeros benefícios da simbiose para o seu desenvolvimento; por exemplo, o aumento na taxa de sobrevivência de plantas durante a aclimação (Chang, 1986), o estímulo na produção de biomassa (Hršelová et al., 1989), dentre outros, quando comparado com testemunhas não micorrizadas.

O presente estudo teve por objetivo analisar o efeito do cultivar, do tamanho da planta e da inoculação com fungos endomicorrízicos do tipo-vesículo-arbusculares (MVA) durante a aclimação do morangueiro micropropagado.

2- MATERIAL E MÉTODO

Material Vegetal

Foram utilizados os cvs. Sequóia, Campinas e AGF-80 de morangueiro (*Fragaria x ananasa* Duch.) provenientes do Instituto Agrônomo de Campinas (IAC). As matrizes para o presente trabalho foram obtidas no banco de germoplasma in vitro do Centro de Biotecnologia Agrícola (CEBTEC/LCB/ESALQ/USP) formado pela cultura de meristemas desses cultivares e micropropagadas por cinco gerações, utilizando-se o meio de cultura Murashige & Skoog, (1962). As vitroplantas foram removidas dos frascos de cultivo e lavadas em água corrente para a remoção do excesso de ágar aderido às raízes. Em seguida, foram selecionadas apenas aquelas com raízes já desenvolvidas e com pelo menos dois pares de folhas. As vitroplantas foram separadas em três lotes com diferentes alturas, medidas do ápice radicular ao ápice foliar sendo: tamanho pequeno (até 2,0 cm), médio (de 2,0 até 5,0 cm) e grande (acima de 5,0 cm).

Fungos Endomicorrízicos

Foram utilizados dois gêneros de fungos endomicorrízicos do tipo vesículo - arbuscular (MVA), *Acaulospora* sp. e *Glomus* sp. O inoculante empregado foi obtido de uma coleção mantida pelo CEBTEC. Porções individuais (5,0 ml) foram aplicadas próximo às raízes no momento da aclimação. Cada porção, após quantificada em lupa, era composta de aproximadamente 55 esporos misturados a segmentos de raízes da planta multiplicadora, hifas e areia fina.

Instalação do Experimento

Após a lavagem e a separação por tamanho, as vitroplantas foram transferidas para copos de plástico descartável (200 ml capacidade) com o fundo perfurado contendo três quartos de seu volume preenchido com o substrato de plantio e com uma porção do inoculante. O substrato foi constituído de areia grossa de construção lavada cinco vezes em água corrente, e autoclavada por duas horas a 120 °C e a 1,0 atm de pressão. Após o preenchimento dos copos com o substrato arenoso, perfurou-se uma pequena cova (profundidade de 2,5 cm), no fundo da qual foi depositado uma porção do inoculante, plantado-se então as vitroplantas. Para o preenchimento das covas, utilizou-se uma pequena porção da areia tratada, evitando-se enterrar o colo.

No processo da aclimatação, os copos contendo as vitroplantas foram transferidos para bandejas de plástico contendo, a um quarto da sua altura, solução nutritiva completa (Hoagland & Arnon, 1938) diluída cinco vezes em água, sendo estas cobertas individualmente com túnel plástico para a diminuição da evapotranspiração, e alocadas sob bancadas em casa de vegetação. Lentamente as vitroplantas foram submetidas luminosidade maior e umidade relativa menor e ao décimo dia foram retirados os túneis plásticos. Aos vinte dias, as vitroplantas foram removidas das bandejas, passando a ser irrigadas individualmente com água uma vez por semana, e quinzenalmente com a mesma solução nutritiva diluída (15ml/planta).

Aos 60 dias da aclimatação foram estimadas a porcentagem de sobrevivência, a altura das vitroplantas, o diâmetro do colo, o número de folhas e a porcentagem de raízes colonizadas pelos fungos MVA (Giovanetti & Mosse, 1980) após o tratamento com “tripan blue” (Philips & Hayman, 1970).

O controle de pragas surgidas (ácaros, pulgões e formigas) durante a permanência das plantas na estufa foi efetuado, utilizando-se os métodos tradicionais de controle.

Delineamento Experimental

Na implantação do experimento foram combinados três cultivares, três tamanhos de vitroplantas e dois gêneros de fungos MVA e a testemunha, num arranjo fatorial completo

(3x3x3). Cada tratamento teve quinze repetições, totalizando 405 unidades experimentais com delineamento inteiramente ao acaso.

Os dados foram analisados pelo Sistema de Análise Estatística – SANEST (ALVES et al., 1993), com o objetivo de evidenciar o efeito do cultivar, do tamanho da planta aclimatada e do tratamento com fungos MVA na porcentagem de sobrevivência das vitroplantas e no seu desenvolvimento.

3- RESULTADO E DISCUSSÃO

Observações Visuais Durante a Aclimação

Transcorridos cinco dias da aclimação foi observado o início do desenvolvimento de primórdios foliares pelas vitroplantas recém aclimatadas, resultado esse semelhante ao descrito por Grout & Millan (1985). Ao término do primeiro mês, verificou-se um atraso na emissão de novas folhas pelas vitroplantas do cultivar Sequóia, em comparação com os outros dois cultivares.

Porcentagem de Sobrevivência aos 60 dias da Aclimação: Efeito do Cultivar

A porcentagem de sobrevivência foi elevada para todos os cultivares testados (Figura 1). As vitroplantas de Campinas e AGF-80 tiveram sobrevivência iguais (94,8%) e estatisticamente superiores em relação ao cultivar Sequóia (85,2%). Esse resultado não surpreende, pois, dos três cultivares empregados, somente os dois primeiros foram selecionados para as condições tropicais, enquanto Sequóia foi introduzido dos Estados Unidos da América (Tessarioli Neto, 1982). É possível que o maior número de perdas para esse cultivar seja um reflexo da interação genótipo-ambiente que, nesse caso, estaria em desequilíbrio quando comparado com Campinas e AGF-80. Esse fato pode estar relacionado com a observação citada anteriormente, em que foi registrado um atraso na emissão de novas folhas pelas vitroplantas de Sequóia, ao completar trinta dias do período de aclimação.

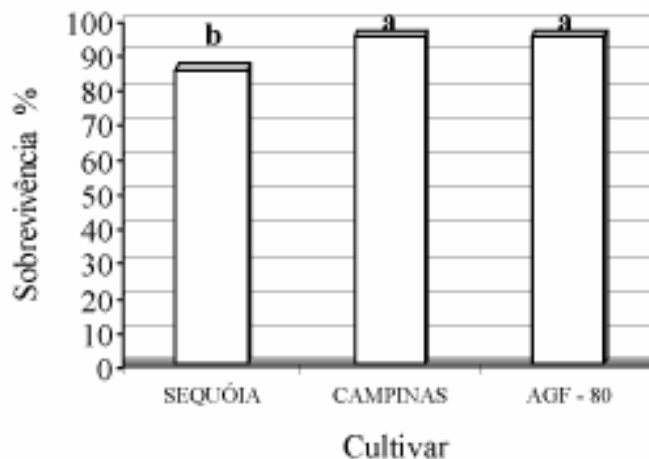


Figura 1 - Porcentagem de sobrevivência aos 60 dias da aclimação em três cultivares de vitroplantas de morangueiro. Médias seguidas de letras distintas diferem entre si ao nível de 5% de significância.

Efeito da Interação: Tamanho da Planta x Cultivar

A porcentagem de sobrevivência superou a 75% para todos os tamanhos de vitroplantas independente do cultivar considerado (TABELA 1). A aclimação de Sequóia e Campinas no tamanho grande, resultou num aumento estatisticamente significativo na porcentagem de sobrevivência em relação às de tamanho pequeno. Esses resultados confirmam a hipótese de que plantas de maior tamanho e com maior quantidade de material de reserva teriam maior chance de sobreviverem durante a fase de aclimação (Grout & Milão, 1985; Desjardins et al., 1987; Zhang & Stoltz, 1989). Apenas para Sequóia a aclimação das vitroplantas de tamanho médio mostrou-se estatisticamente vantajosa em relação às de tamanho pequeno, possivelmente por ser um cultivar mais sensível, conforme citado anteriormente. Para Campinas não houve diferença significativa na porcentagem de sobrevivência das vitroplantas aclimatadas no tamanho médio em relação aos outros tamanhos testados. No cultivar AGF-80, a aclimação das vitroplantas de tamanho médio resultou em porcentagem de sobrevivência estatisticamente inferior em relação às de tamanho grande.

TABELA 1 - Efeito de três tamanhos de vitroplantas na porcentagem de sobrevivência aos 60 dias da aclimação de diferentes cultivares de morangueiro.

Cultivar	Tamanho	Sobrevivência
Sequóia	Pequeno	76.7 b
	Médio	88.9 a
	Grande	92.2 a
Campinas	Pequeno	90.1 b
	Médio	7.8 ab
	Grande	98.9 a
AGF- 80	Pequeno	95.6 ab
	Médio	91.1 b
	Grande	100 a

Médias seguidas de letras distintas diferem entre si ao nível de 5% de significância.

Efeito da inoculação com fungos endomicorrízicos vesículo-arbusculares (MVA)

Ao contrário do resultado obtido por Chang (1986), que obteve um acréscimo de 30% na porcentagem de sobrevivência durante a aclimação de vitroplantas de morangueiro micorrizadas com fungos MVA (gên. *Glomus* sp.), os resultados obtidos no presente trabalho (Figura 2), mostram que esse mesmo tratamento resultou em porcentagem de sobrevivência estatisticamente inferiores em relação à testemunha. A porcentagem de sobrevivência obtida nas plantas inoculadas com o fungo *Acaulospora* sp. não apresentou diferença estatística significativa ao nível de 5% em relação àquelas obtidas para os outros dois tratamentos.

Existem duas hipóteses que poderiam explicar a baixa eficiência da inoculação com fungos MVA no aumento da porcentagem de sobrevivência. As condições vigentes no processo de aclimação poderiam ter retardado o estabelecimento da fase simbiótica. Isto porque, a diminuição da intensidade luminosa provocada pela cobertura de plástico (túnel e casa de vegetação), onde as vitroplantas foram aclimatadas, embora tivesse contribuído para a diminuição da evapotranspiração, teria prejudicado sua atividade fotossintética, impedindo-as de produzir quantidades adequadas de fotoassimilados para sustentar a sua sobrevivência e a demanda requerida pelo fungo durante o seu estabelecimento no sistema radicular. Nessas condições sub-ótimas para a atividade fotossintética, os endófitos poderiam ter se tornado parasíticos, prejudicando o desenvolvimento do hospedeiro (Bethenfalvay et al., 1982). Outra possibilidade é que a fase crítica em que teria ocorrido o ajustamento

fisiológico das plantas à nova condição *ex vitro* tivesse coincido com uma baixa colonização radicular pelos fungos MVA, cuja atividade teria sido inibida nos primeiros vinte dias da aclimação, período em que o substrato ficou saturado com a solução nutritiva. Saif, citado por Wang et al. (1993), lembra que a baixa difusão de O₂ provoca uma inibição na germinação dos esporos de fungos MVA e, portanto, na colonização radicular. A diminuição do volume de água colocado nas bandejas, a remoção antecipada dos túneis plásticos ou o uso de outros tipos de substratos, constituem-se em alternativas a serem testadas visando-se a obtenção de um ambiente que favoreça simultaneamente a aclimação das vitroplantas e o estabelecimento imediato dos fungos MVA nas raízes.

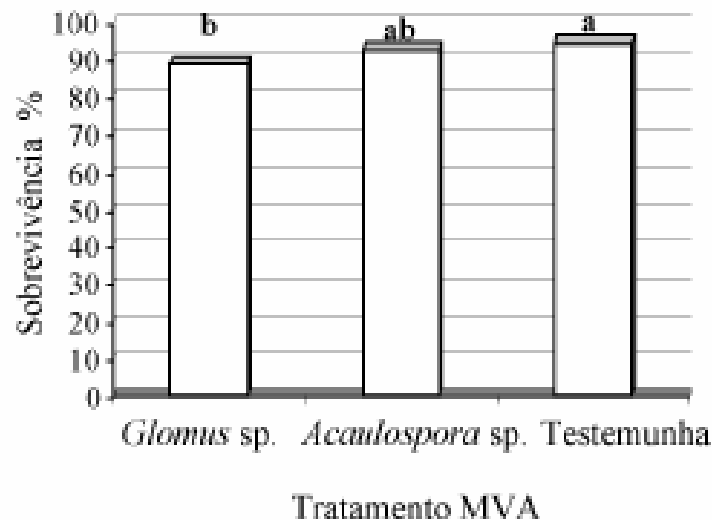


Figura 2- Porcentagem de sobrevivência aos 60 dias da aclimação de morangueiro micropropagado e inoculado com dois gêneros de fungos endomicorrízicos vesículo-arbusculares (MVA). Médias seguidas de letras distintas diferem entre si ao nível de 5% de significância.

Efeito da Interação: Tamanho da vitroplanta x Fungos MVA

A porcentagem de sobrevivência das vitro-plantas inoculadas com fungos MVA não foi influenciada estatisticamente em relação à testemunha em nenhum dos tamanhos de vitroplanta avaliados. Entretanto, a análise dos dados resultantes dessa interação (TABELA 2) mostra que a inoculação das plantas nos tamanhos médio e grande com o fungo *Acaulospora* sp. resultaram, para ambos os tamanhos, no segundo melhor índice de sobrevivência, com exceção da testemunha. No tamanho pequeno, contudo, as vitroplantas

inoculadas com esse mesmo fungo superaram a taxa de sobrevivência ao nível de 5% apresentado pela testemunha. A inoculação com *Glomus* sp. resultou na menor taxa de sobrevivência nesse mesmo nível de significância estatístico, independente do tamanho de vitroplanta considerada.

Paralelamente a essas observações, verificou-se uma diminuição na porcentagem de raízes colonizadas pelos fungos MVA (TABELA 2), na medida em que se aumentou o tamanho da vitroplanta no ato da sua inoculação.

A maior porcentagem de raízes colonizadas observada nas vitroplantas de tamanho pequeno (TABELA 2), explica-se pelo fato desta ocorrer preferencialmente nas raízes mais jovens, antes da suberização (Azcón-Aguilar & Barea, 1997). Como a produção de novas raízes, que em geral ocorre tardiamente durante a aclimação, a infecção pode ter sido inexpressiva no início, estabelecendo-se melhor com o desenvolvimento de novas raízes. Este fato pôde ser verificado para as vitroplantas de maior tamanho que, no ato da aclimação, apresentavam raízes mais grossas e desenvolvidas em comparação às de tamanho menor que, por sua vez, possuíam raízes mais finas e delicadas. A porcentagem de raízes colonizadas pelo gênero *Glomus* sp. mostrou-se mais intensa nas vitroplantas de tamanho pequeno em comparação àquela verificada para *Acaulospora* sp. Por outro lado, ocorreu o inverso nas vitroplantas de tamanho médio e grande, onde a porcentagem de raízes colonizadas por *Acaulospora* sp. foi estatisticamente superior.

Nesse contexto, verifica-se que em relação à inoculação com *Glomus* sp., o fungo *Acaulospora* sp. mostrou-se potencialmente mais efetivo para a diminuição da porcentagem de mortalidade durante a aclimação do morangueiro micropropagado, principalmente em vitroplantas mais jovens.

TABELA 2 - Porcentagem de sobrevivência e de raízes colonizadas aos 60 dias da aclimação do morangueiro micropropagado e inoculado com dois gêneros de fungos endomicorrízicos vesículo-arbusculares (MVA) em três tamanhos de planta.

Tamanho da planta	Fungo MVA	Sobrevivência (%)	Raízes Colonizadas (%)
Pequeno	<i>Acaulospora</i> sp.	90 a	66.8 b
	<i>Glomus</i> sp.	84.4 a	74.9 a
	Testemunha	87.8 a	0
Médio	<i>Acaulospora</i> sp.	91.1 a	67.5 a
	<i>Glomus</i> sp.	88.8 a	55.4 b
	Testemunha	97.8 a	0
Grande	<i>Acaulospora</i> sp.	97.8 a	49.7 a
	<i>Glomus</i> sp.	94.4 a	29.6 b
	Testemunha	98.9 a	0

Médias seguidas de letras distintas diferem entre si ao nível de 5% de significância.

Efeito dos fungos MVA no Crescimento das Vitroplantas

Aos sessenta dias da aclimação os dois tipos de fungos MVA já haviam colonizado mais de 50% das raízes (TABELA 3). Os dados de crescimento indicam que as plantas micorrizadas já estariam sendo beneficiadas em relação às testemunhas. As plantas colonizadas por *Glomus* sp. apresentaram um aumento estatisticamente significativo na altura, no diâmetro do colo e no número de folhas quando comparada com as plantas testemunha. A inoculação com *Acaulospora* sp. resultou num aumento significativo apenas na altura das plantas em relação à testemunha. Esses resultados assemelham-se às respostas obtidas após a aclimação de vitroplantas de macieira (Lin et al., 1987a) e de pêra (Lin et al., 1987b), cuja altura e número de folhas foram significativamente superiores nas plantas micorrizadas, em comparação às plantas do controle. O crescimento superior verificado nas plantas inoculadas com *Glomus* sp., embora tenham apresentado uma menor porcentagem de raízes colonizadas, justificam a preferência por esse gênero de fungo MVA empregado na aclimação do morangueiro micropropagado, conforme estudos conduzidos por Kiernam et al. (1984); Chang (1986); Hrselová et al. (1989) e Chávez & Ferrera-Cerrato (1990).

Esses resultados indicam que não existe uma correlação direta entre a porcentagem de raízes colonizadas e o estímulo no crescimento da planta hospedeira. Mosse & Hayman (1973), citados por Wang et al. (1993), comentam que o endófito mais infectivo não necessariamente é o mais efetivo.

TABELA 3 - Influência da inoculação aos 60 dias da aclimação no crescimento de morangueiro micropropagado e inoculado com dois tipos de fungos endomicorrízicos vesículo-arbusculares (MVA).

Fungo MVA	Altura (cm)		Diâmetro do colo (mm)	Nº de Folhas	Raízes Colonizadas (%)			
<i>Acaulospora</i> sp.	5.3	a	1.9	ab	4.7	ab	61.3	a
<i>Glomus</i> sp.	5.2	a	2.0	a	5.0	a	53.3	b
Testemunha	4.5	b	1.8	b	4.5	b	0	

Médias seguidas de letras distintas diferem entre si ao nível de 5% de significância.

4- CONCLUSÕES

A porcentagem de sobrevivência das vitroplantas foi influenciada pelo cultivar e pelo tamanho da vitroplanta aclimatada, mostrando-se potencialmente capaz de ser aumentada. Os cv. Campinas e AGF-80, e as plantas com tamanho superior a cinco centímetros, mostraram-se mais indicadas para a aclimação.

A inoculação com fungos endomicorrízicos não resultou no aumento da porcentagem de sobrevivência das plantas. O crescimento foi significativamente estimulado nas plantas inoculadas com *Glomus* sp., em relação às plantas testemunha.

Os resultados indicam que não existe uma correlação direta entre a porcentagem de raízes colonizadas e o estímulo no crescimento da planta hospedeira.

Referências bibliográficas

ALVES, M. I. F.; MACHADO, A. A.; ZONTA, E.P.

Tópicos especiais de estatística utilizando o Sanest

(Sistema de análise estatística para microcomputadores). Porto Alegre: Ufrg, 1993. 110p.

AZSCÓN-AGUILAR, C.; BARCELÓ, A.; VIDAL, M.T.; VIÑA, G. Further studies on the influence of mycorrhizae on growth and development of micropropagated avocado plants. *Agronomie, Versailles*, v.12, p. 837-840, 1992.

AZSCÓN-AGUILAR, C.; BAREA, J.M. Applying mycorrhiza biotechnology to horticulture: significance and potentials. *Scientia Horticulturae*, Amsterdam, v.68, p.1-24, 1997.

BETHENFALVAY, G.J.; BROWN, M.S.; PACOVSKY, R.S. Parasit and mutualistic associations between a mycorrhizal fungus and soybean: development of the host plant. *Phytopatology*, Lancaster, v.72, p.889-893, 1982.

BOXUS, Ph.; DAMIANO, C.; BRASSEUR, E. Strawberry. In: EVANS, D.A.; SHARP, W.R.; AMIRATO, P.V.; YAMADA, Y. (Ed.) *Handbook of plant cell tissue and organ culture*. New York: MacMillan. 1984. cap.17, p.453-486.

CHANG, D.C.N. Responses of micropropagated (cultivar) Harunoka strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch.) to *Glomus endomicorrhizal* fungi. *HortScience*, Alexandria, v.21, p.885, 1986.

CHÁVES, MC. G.; FERRERA-CERRATO, R. Effect of vesicular-arbuscular mycorrhizae on tissue culture derived plantlets of strawberry. *HortScience*, Alexandria, v. 25, p.903-905, 1990.

CHRISTIE, C.B.; BRASCAMP, W. Exflasking high health *Daphne adora* plantlets. *Combined Proceedings - International Plant Propagators Society*, v.38, p.394-398, 1989.

DESJARDINS, Y.; GOSSELIN, A.; YELLE, S. Acclimatization of ex vitro strawberry plantlets in CO₂ - enriched environments and supplementary lighting. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, Alexandria, v.112, p.846-851, 1987.

GIOVANNETTI, M.; MOSSE, B. An evaluation of the techniques for measuring V.A. mycorrhizal infection in roots. *New Phytologist*, Cambridge, v.84, p.489-500, 1980.

GROUT, M.C.; MILLAN, S. Photosynthetic development of micropropagated strawberry plantlets following transplanting. *Annals of Botany*, London, v.55, p.129-131, 1985.

HILDEBRANDT, V.; HARNEY, P.M. In vitro propagation of *Syringa vulgaris* "Vesper". *HortScience*, Alexandria, v.18, p.432-434, 1983.

HOAGLAND, DR.; ARNON, DI. The water culture method for growing plants without soil. Berkeley: University of California, Agricultural Experimental Station, 1938. 34p. (Circular, 347).

HRSELOVÁ, H.; VEJSADOVÁ, H.; PRIKRYL, L.; VANCURA, V.; VIT, A. Effects of inoculation with vesicular arbuscular mycorrhizal fungi on growth of strawberries. In: *INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON INTERRELATIONSHIPS BETWEEN MICROORGANISMS AND PLANTS IN SOIL*, Liblice, 1987. Proceedings. Amsterdam: Elsevier Science, 1989. p.109-114.

KIERNAN, J.M.; HENDRIX, J.W.; STOLTZ, L.P.; MARONEK, D.N. Characterization of strawberry plants specific mycorrhizal fungi. HortScience, Alexandria, v.19, p.883-885, 1984.

LIN, M.T.; MATTOS, M.A.M.; ASSIS, M.; CABEL, S.R. Influência de inoculantes endomicorrízicos no desenvolvimento de porta-enxertos micropropagados de macieira MM 106 em dois substratos. In: REUNIÃO BRASILEIRA SOBRE MICORRIZAS, 2., São Paulo, 1987. Anais... São Paulo: Secretaria do Meio Ambiente e da Agricultura, 1987a. p. 10-11.

LIN, M.T.; MATTOS, M.A.M.; ASSIS, M.; CABEL, S.R. Alta dependência endomicorrízica de plântulas micropropagadas de pêra. In: REUNIÃO BRASILEIRA SOBRE MICORRIZAS, 2., São Paulo, Anais... São Paulo: Secretaria do Meio Ambiente e da Agricultura, 1987b. p.11.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. Physiologia Plantarum, Munksgaard, v. 5, p.473-497, 1962.

NEMEC, S. Populations of Endogone in strawberry field in relation to root infection. Transactions of the British Mycological Society, Cambridge, v.62, p.45-49, 1974.

NOVAL, B.; FERNÁNDEZ, F.; HERRERA, R. Efecto del uso de micorriza arbuscular y combinaciones de sustrato sobre el crecimiento y desarrollo de vitroplantas de piña. Cultivos Tropicales, La Habana, v.16, p.19-22, 1995.

OLIVEIRA, E. Taxonomia da Endogonaceae. In: REUNIÃO BRASILEIRA SOBRE MICORRIZAS, 1.,

Lavras, 1985. Anais... Lavras: Faepe, 1986. p100-109.

PHILIPS, J.M.; HAYMAN, D.S. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular - arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. Transactions of the British Mycological Society, Cambridge, v.55, p.158-161, 1970.

PREECE, J.E.; SUTTER, E.G. Acclimatization of micropropagated plants to the greenhouse and field. In: DEBERG, P.C.; ZIMMERMAN, R.H. (Ed.) Micropropagation technology and application. Dordrecht: Kluwer Academic Press, 1991. p. 71-93.

SOUZA, P. Micorrizas: histórico, perspectivas e potencial para a agricultura tropical. In: REUNIÃO BRASILEIRA SOBRE MICORRIZAS, 1., Lavras, 1985. Anais... Lavras: Faepe, 1986. p 1-4.

TESSARIOLI-NETO, J. Avaliação do potencial produtivo e de seus componentes em diferentes clones de morangueiro (Fragaria x ananassa Duch.), 1982. 82f.

Dissertação (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba.

WANG, H.; PARENT, S.; GOSSELIN, A.; DESJARDINS, Y. Vesicular arbuscular mycorrhizal peat - based substrates enhance symbiosis establishment on growth of three micropropagated species. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, Alexandria, v.118, p.896-901, 1993.

WILLIAMS, S.C.K.; VESTBERG, M.; UOSUKAINEN, M.; DOOD, J.C.; JEFFRIES, P. Effects of fertilizers and arbuscular mycorrhizal fungi on the post-vitro growth of micropropagated strawberry. *Agronomie*, v.12, p. 851-857, 1992.

ZHANG, B.; STOLTZ, L.P. Acclimatization systems for *Euphorbia fulgens* microcuttings. *HortScience*, Alexandria, v.24, p.1225-1226, 1989.