

ENRAIZAMENTO *in vitro* DO PORTA-ENXERTO DE *Prunus* cv. Mr. S. 1/8: CONCENTRAÇÕES DE IBA EM MEIO DE CULTURA ACRESCIDO DE ÁGAR OU VERMICULITA

In vitro *ROOTING OF Prunus ROOTSTOCK* cv. Mr. S. 1/8: IBA CONCENTRATIONS IN CULTURE MEDIUM WITH AGAR OR VERMICULITE

Rangel Campos VIAGANÓ¹; Valmor João BIANCHI²; Paulo Sérgio G. da ROCHA²; Márcia Wulff SCHUCH²; José Carlos FACHINELLO²

1. Universidade Federal de Pelotas-Ufpel, Instituto de Biologia, Departamento de Botânica; 2. Professor, Ufpel, Instituto de Biologia, Departamento de Botânica. valmorjb@yahoo.com

RESUMO: Este trabalho objetivou avaliar as concentrações do ácido indolbutírico e a utilização da vermiculita como substituto do ágar no meio de enraizamento *in vitro* do porta-enxerto de *Prunus* cv. Mr. S. 1/8. As brotações foram cultivadas em meio MS acrescido de 0; 2,46; 4,92 e 7,38 μM de IBA, 30 g L^{-1} de sacarose e 100 mg L^{-1} de mio-inositol. O pH do meio foi ajustado para 5,6 antes da adição de 7 g L^{-1} de ágar ou 200 g L^{-1} de vermiculita. O cultivo das brotações ocorreu em temperatura de 24 ± 1 °C, fotoperíodo de 16 horas de luz e densidade de fluxo luminoso de 27 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. O delineamento experimental foi em blocos completamente casualizados em esquema fatorial 4x2, com quatro repetições. Após 35 dias, avaliou-se a percentagem de enraizamento, número médio de raízes e comprimento médio das raízes. Concentrações maiores que 2,46 μM de IBA em meio de cultivo com vermiculita não aumentaram a percentagem de enraizamento, o número médio de raízes e comprimento médio das raízes. Verificou-se que é possível substituir o ágar por vermiculita no meio e obter percentagem de enraizamento superior a 90%. Em meio de cultivo acrescido de ágar o aumento da concentração do fitoregulador estimulou a formação e o comprimento das raízes até 4,92 μM de IBA.

PALAVRAS-CHAVE: Rizogênese. *Prunus ceracifera*. Auxina. Micropropagação

INTRODUÇÃO

A propagação de espécies frutíferas por meio das técnicas de micropropagação tem possibilitado a obtenção de um grande número de plantas, em curto espaço de tempo, com ótimo estado fitossanitário e manutenção as características genéticas (COUTO et al., 2004). Contudo, uma das etapas mais difíceis do cultivo *in vitro* é a fase de enraizamento, principalmente de espécies frutíferas lenhosas; sendo este fator limitante na propagação das espécies do gênero *Prunus* (ROGALSKI et al., 2003).

Para a indução de raízes *in vitro*, geralmente, os meios de cultura são acrescidos de diferentes tipos e concentrações de auxinas, sendo estas as variáveis que mais influenciam no sucesso do enraizamento (ROCHA, 2006). As fontes de auxinas mais utilizadas em meios de cultivo para formação de raízes em porta-enxertos de *Prunus* spp. (ROCHA et al. 2006; HARADA; MURAI, 1996) são o ácido indolbutírico (IBA), o ácido naftaleno acético (ANA) e o ácido 3-indolacético (AIA), os quais podem ser utilizados sozinhos ou combinados entre si (BERTAZZA et al., 1995).

Embora as fontes de auxinas sejam consideradas indutoras de enraizamento nem sempre

a percentagem de enraizamento e o número de raízes formadas podem ser maximizados com o aumento da concentração, pois a utilização de elevadas concentrações no meio de cultura pode afetar negativamente o enraizamento *in vitro* das brotações, o crescimento das raízes e induzir a formação de calo na base dos explantes (ROGALSKI et al., 2003). A formação de calo nessa região onde ocorre o enraizamento é indesejável, pois a qualidade do sistema radicular pode ser afetada principalmente no que se refere à conexão vascular com o explante, de modo a comprometer o sucesso da aclimação das brotações (FACHINELLO et al., 1995).

Quanto à constituição do meio de enraizamento, embora o ágar seja citado em vários trabalhos de enraizamento *in vitro* das brotações de espécies frutíferas lenhosas, tem-se observado que o sistema radicular formado nas brotações cultivadas em meio de cultura solidificado com ágar é quebradiço e não possui pêlos radiculares, além disto, dentre os componentes do meio de cultura, o ágar é a substância de maior custo (ROCHA et al., 2006).

Na fase de enraizamento *in vitro* podem ser utilizados na substituição do ágar substratos inertes, a exemplo da vermiculita embebida em meio de

cultura líquido, a qual pode ser uma alternativa mais barata do que o ágar (LEITE et al., 2002). De acordo com Caldas et al. (1998) a vermiculita umedecida com solução nutritiva favorece a formação de raízes devido à alta aeração que este material proporciona no meio de enraizamento.

Objetivou-se, com este trabalho, avaliar o efeito de diferentes concentrações do ácido indolbutírico e a utilização da vermiculita como substituto do ágar no meio de enraizamento *in vitro* das brotações do porta-enxerto de *Prunus* cv. Mr. S. 1/8.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado no Laboratório de Cultura de Tecidos de Plantas do Departamento de Botânica - Instituto de Biologia da UFPel, localizado em Pelotas - RS.

Brotações do porta-enxerto de *Prunus cerasifera* cv. Mr. S. 1/8 estabelecidas *in vitro* e com comprimento aproximado de 10 mm foram utilizadas para enraizamento. Para a indução do enraizamento utilizou-se o meio de cultura MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962) acrescido de 0; 2,46; 4,92 e 7,38 μM de IBA, 30 g L^{-1} de sacarose e 100 mg L^{-1} de mio-inositol. O pH do meio de cultura foi ajustado para 5,6. Como agente solidificante utilizou-se 7 g L^{-1} de ágar, exceto no tratamento onde o suporte foi a vermiculita. O meio de cultura foi distribuído em frascos de (250 mL), onde se colocou um volume de 30 mL de meio por frasco. Para os tratamentos que continham vermiculita, adicionou-se 6 g deste material nos frascos já contendo o meio de cultura líquido. Em seguida, realizou-se a autoclavagem dos frascos a uma temperatura de 120 °C durante 15 minutos.

Em câmara de fluxo laminar, com o auxílio de pinça e bisturi, removeu-se o primeiro par de folhas basais das brotações em seguida as mesmas foram inoculadas em frascos contendo o meio de cultura. Após a inoculação, os frascos foram levados para sala de crescimento com fotoperíodo de 16 horas, luminosidade de 27 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e temperatura de 24 ± 1 °C.

O delineamento experimental foi em blocos completamente casualizados em esquema fatorial 4x2 (concentração de IBA x suporte do meio), com quatro repetições, sendo a unidade experimental um frasco contendo cinco explantes cada.

Após 35 dias de cultivo avaliou-se a percentagem de enraizamento, número médio de raízes, comprimento médio das raízes.

Realizou-se análise da variância dos dados e a comparação dos dados qualitativos por teste de Duncan e os dados quantitativos por regressão polinomial, ao nível de 5% de probabilidade, através do programa SANEST (ZONTA; MACHADO, 1987). A percentagem de enraizamento e número médio de raízes foram transformados segundo arco de seno de $(x/100)^{1/2}$ e $(x+k)^{1/2}$, respectivamente.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para a variável percentagem de brotações enraizadas, ocorreu interação entre os fatores suporte do meio de cultura e concentrações de IBA. No meio de cultura MS com vermiculita, observou-se um comportamento linear decrescente na percentagem de enraizamento, na medida em que, se aumentou a concentração de IBA, além disto, os maiores percentuais de enraizamento foram obtidos no tratamento controle (94,7%) e no meio de cultura contendo 2,46 μM de IBA (92%), respectivamente (Figura 1). No entanto, no meio MS com ágar houve aumento no percentual de enraizamento até a concentração de 4,92 μM de IBA e a partir desta concentração observou-se diminuição do percentual de enraizamento das brotações (Figura 1). Possivelmente, a inibição do enraizamento no meio de cultivo acrescido de ágar, a partir de 4,92 μM de IBA, pode estar relacionada com a fitotoxidez gerada pelo excesso desta auxina no meio de cultura. De acordo com Grattapaglia; Machado (1998), quando a concentração de auxina utilizada no meio de cultura é excessiva ocorre um comprometimento da rizogênese causado pela fitotoxidez.

De acordo com Pasqual et al. (2000) e Caldas et al. (1998) a utilização de vermiculita umedecida com solução nutritiva contribui para a formação de raízes devido a maior aeração e retenção de água no meio de cultura. Os resultados do presente trabalho são similares aos obtidos por Rocha et al. (2006) e Tibola et al. (2004), que avaliando o uso da vermiculita na substituição do ágar no meio MS, concluíram que é possível obter alta percentagem de enraizamento e substituir o ágar por vermiculita no enraizamento do porta-enxerto de *Prunus* cv. Mr. S. 2/5.

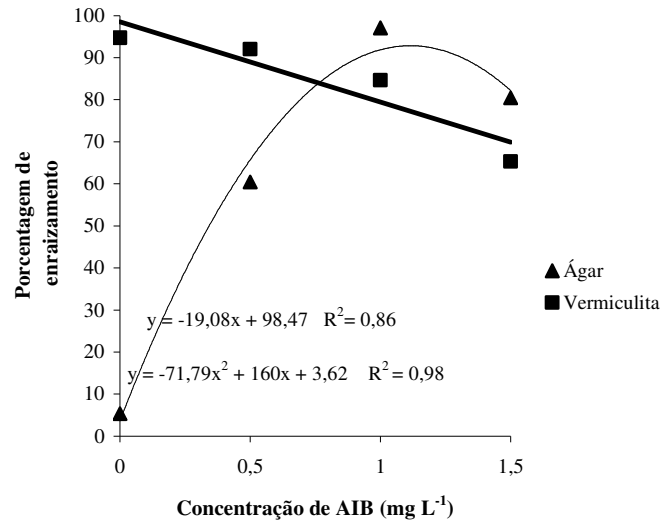


Figura 1. Porcentagem de enraizamento das brotações do porta-enxerto cv. Mr. S. 1/8, aos 35 dias de cultivo, em meio MS acrescido de ágar ou vermiculita e diferentes concentrações de BAP. Pelotas- RS, 2004.

Com relação ao número médio de raízes formadas por brotação, houve interação entre os fatores estudados (Figura 2). Observou-se que o aumento da concentração de IBA no meio MS com ágar contribuiu para a formação do maior número de raízes. O maior número médio de raízes formadas (1,6 raízes/brotação) foi observado no meio MS contendo ágar e 4,92 μM de IBA. No meio MS com vermiculita observou-se um ajustamento quadrático, além disto, notou-se que a adição de até 2,0 μM de IBA no meio de cultura promoveu o aumento do número de raízes formadas, porém, após esta concentração de IBA houve diminuição no número médio de raízes formadas (Figura 2). Este resultado

é semelhante aos obtidos por Rocha et al. (2006) que trabalhando com o enraizamento *in vitro* do porta-enxerto cv. Mr. S. 2/5, obtiveram o número médio de 1,5 e 2,0 raízes/brotação no meio MS com ágar ou vermiculita, respectivamente.

Magalhães Jr.; Peters (1991) e Tricoli et al. (1985), obtiveram aumento no número de raízes em brotações de *Prunus* spp. cultivadas *in vitro*, na medida em que, aumentou-se a concentração de IBA ao meio de enraizamento. Pio et al. (2002), também observaram que houve aumento no número de raízes formadas em porta-enxerto de citrus com o aumento da concentração de IBA.

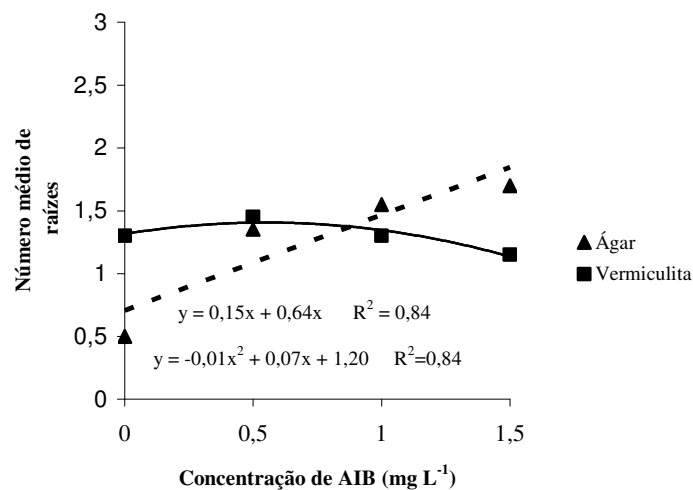


Figura 2. Número médio de raízes formadas, aos 30 dias de cultivo, das brotações do porta-enxerto cv. Mr. S. 1/8 em meio MS acrescido de ágar ou vermiculita e diferentes concentrações de BAP. Pelotas-RS, 2004.

Para o comprimento médio das raízes formadas, também houve interação entre os fatores estudados. Observa-se uma resposta quadrática quando cultivou-se os explantes no meio de cultura contendo ágar, além disto, observou-se que o maior comprimento médio das raízes (40,26 mm) ocorreu no meio contendo 4,92 μM de IBA. Após esta concentração de IBA, ocorreu um decréscimo no comprimento médio das raízes (Figura 3). No meio de cultura com vermiculita, observou-se um comportamento linear, aproximadamente constante, para as diferentes concentrações de IBA. Avaliando o efeito de diferentes concentrações de auxina no enraizamento da ameixeira (*Prunus salicina*) cv. Santa Rosa, Magalhães Jr.; Peters (1991) também verificaram que o aumento da concentração de IBA no meio de cultura inibiu o comprimento das raízes formadas. Rogalski et al. (2003) verificaram que níveis mais elevados de IBA no meio de enraizamento, afetaram negativamente o comprimento de raízes de porta-enxertos de *Prunus*

spp., ocorrendo formação de calo na base das brotações cultivadas.

As auxinas são responsáveis pela indução dos primórdios radiculares, contudo não são importantes para o crescimento das raízes, de modo que, em alguns casos podem exercer efeitos inibitórios no alongamento das raízes, principalmente em meios de cultura contendo elevadas concentrações de auxina, entretanto, poderá variar de acordo com o genótipo utilizado (CAMPANA et al., 1994). De acordo com Grattapaglia; Machado (1998), as raízes mais curtas são as mais adequadas para o transplantio, devido às mesmas se encontrarem em fase de crescimento ativo e por evitarem a quebra no momento da retirada do meio de cultura. Conforme Rocha et al. (2006) o tamanho adequado das raízes é de aproximadamente 20 a 30 mm, pois raízes maiores tendem a enovelar entre si dependendo do diâmetro do frasco e do número de explantes cultivados no mesmo.

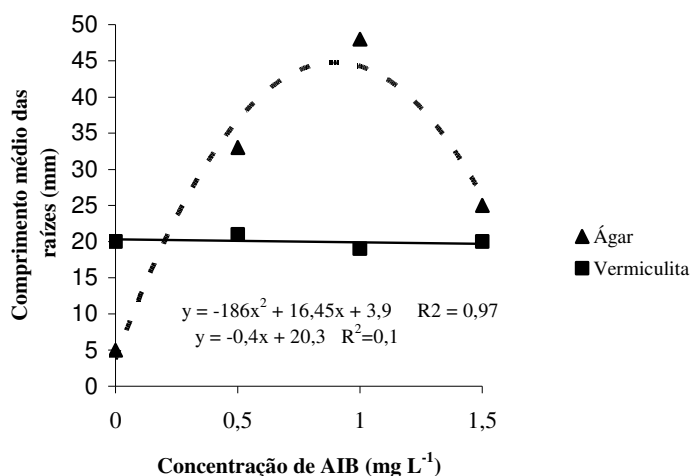


Figura 3. Comprimento médio das raízes formadas, aos 35 dias de cultivo, pelo porta-enxerto cv. Mr. S. 1/8 cultivado em meio MS acrescido de ágar ou vermiculita e diferentes concentrações de BAP. Pelotas-RS, 2004.

CONCLUSÕES

É possível obter alto percentual de enraizamento do porta-enxerto cv. Mr. S. 1/8 no meio MS com vermiculita, assim como substituir o ágar por vermiculita no meio de enraizamento.

Concentrações de IBA acima de 0,5 mg L⁻¹ no meio de cultura MS contendo vermiculita não aumentam a porcentagem de enraizamento, número

de raiz e comprimento de raiz do porta-enxerto cv. Mr. S. 1/8.

Concentrações de IBA superior a 1,0 mg L⁻¹ interfere negativamente no percentual de enraizamento e no comprimento médio das raízes do porta-enxerto de *Prunus* cv. Mr. S. 2/5 quando cultivados em meio contendo ágar como solidificante.

ABSTRACT: The aim of this work was to evaluate the effects of the indole-3-butyric acid (IBA) and the use of vermiculite as agar substitute in the medium for *in vitro* rooting of *Prunus* rootstock cv. Mr. S. 1/8. The shoot tips were cultured in MS salts, sucrose (30 g L⁻¹), myo-inositol (100 mg L⁻¹), and added with IBA (2,46; 4,92 e 7,38 μM). The pH was adjusted to 5,6 before the agar (7 g L⁻¹) addition or 6 g of vermiculite per pot. The culture conditions were 24 ± 1 °C of temperature, 16 hours of photoperiod and 27 μmol m² s⁻¹ of luminous flow density. The experiment was carried out in a complete randomized block by using a factorial 4x2, with four replications. After 35 days, it was evaluated the percentage of rooting, average of roots number per shoot, and average of roots length. IBA concentrations larger than 2,46 μM in the medium with vermiculite didn't increase the rooting percentage, the average of roots number per shoot, and the average of roots length. It was verified that is possible to use vermiculite as agar substitute and to obtain rooting percentage larger than 90%. In the medium solidified with agar, increasing IBA concentration, until 4,92 μM, it stimulated the roots formation and the roots length.

KEYWORDS: Rhizogenesis. *Prunus ceracifera*. Auxins. Micropropagation.

REFERÊNCIAS

- BERTAZZA, G.; BARALDI, R.; PREDIERI, S. Light effects on *in vitro* rooting of pear cultivars of different rhizogenic ability. **Plant Cell Tissue and Organ Culture**, Dordrecht, v. 41, p. 139-143, jan., 1995.
- CALDAS, L. S.; HARIDASAN, P.; FERREIRA, M. E. Meios nutritivos. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. **Cultura de tecidos e transformação de plantas**. Brasília: EMBRAPA-SPI: EMBRAPA-CNPH, 1998. p. 87-132.
- CAMPANA, B. M.; CASTAGNARI, F.; COVATTA, F.; HENNINGS, M.; POLERO, H. J. Enraizamento *in vitro* Del portainjerto Damas GF 1869 (*Prunus insititia* x *Prunus spinosa*). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v. 16, n. 3, p. 85-94, dez., 1994.
- COUTO, M.; OLIVEIRA, R. P.; FORTES, G. R. L. **Multiplicação *in vitro* dos porta-enxertos de *Prunus* sp. 'Barrier' e 'Cadamam'**, Joboticabal, v. 26, n. 1, p. 5-7, abr., 2004.
- FACHINELLO, J. C.; HOFFMANN, A.; NACHTIGAL, J. C.; KERSTEN, E.; FORTES, G. R. L. **Propagação de plantas frutíferas de clima temperado**. 2. ed. Pelotas: UFPEL, 1995. 178 p.
- GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A. C., CALDAS, L. S., BUSO, J. A., eds. **Cultura de Tecidos e Transformação Genética de Plantas**. Brasília: EMBRAPA-SPI: EMBRAPA-CNPH, 1998. p. 183-260.
- HARADA, H.; MURAI, Y. Micropropagation of *Prunus mume*, **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Dordrecht, v. 46, p. 265-267, may., 1996.
- LEITE, G. B.; FINARDI, N.; FORTES, G. R. L. Uso de vermiculita como substrato e efeito da luz no enraizamento *in vitro* da pereira, cv. Bartlett e do clone OHxF97. **Ciência e Agrotécnica**, Lavras, v. 26, n. 5, p. 997-982, set./out., 2002.
- MAGALHÃES JÚNIOR, A. M., PETERS, J. A. Cultura *in vitro* de ameixeira: Efeito do ácido indolbutírico, tipo de lâmpada e intensidade luminosa no enraizamento. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Campinas, n. 3, v. 1, p. 57-61, jan., 1991.

- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. I. A revised medium for rapid growth and biossay with tabacco tissue culture. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 15, p. 473-479, apr., 1962.
- PASQUAL, M.; SILVA, A. B.; MACIEL, A. L. R.; PEREIRA, A. B.; ALVES, J. M. C. Enraizamento *in vitro* de um porta-enxerto de macieira em diversos substratos. **Scientia Agrícola**. Piracicaba, v. 57, n. 4, out./dez., 2000.
- PIO, R.; RAMOS, J. D.; PIO, L. A. S.; MENDONÇA, V.; SILVA, A. B.; PASQUAL, M. Enraizamento *in vitro* de brotações do porta-enxerto de citros *tangerina sunki x Trifoliata english* 63-256 com o uso de sacarose e ácido indolbutírico. **Ciência Agrotécnica**, Lavras, v. 26, n.1, p. 66-70, jan./fev., 2002.
- ROCHA, P. S. G., FACHINELLO, J. C.; SCHUCH, M. W.; BIANCHI, V. J. CAMPOS, R. V. Efeito do ágar, vermiculita e sacarose no enraizamento do porta-enxerto cv. Mr. S. 2/5 *in vitro*. **Revista Científica Rural**, Bagé, v. 11, n.1, p. 54-59, jan./jun., 2006.
- ROCHA, P. S. R. **Propagação *in vitro* de porta-enxertos de *Prunus ssp.*** 2006, 101p. Tese (Doutorado em Fruticultura de Clima Temperado) – Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2006.
- ROGALSKI, M.; MORAES, L. K. A.; FELISBINO, C.; CRESTANI, L.; GUERRA, M. P.; SILVA, A. L. Enraizamento *in vitro* de porta-enxertos de *Prunus*. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 25, n. 2, p. 293-296, ago., 2003.
- TIBOLA, C. T.; RADMANN, E. B.; RODRIGUES, A. C.; FORTES, G. R.; FACHINELLO, J. C. Diferentes meios de cultivo no enraizamento *in vitro* de porta-enxertos de *Prunus sp.* **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 10, n. 2, p. 191-195, abr./jun., 2004.
- TRICOLI, D. W.; MAYMNARD, C. A.; DREW, A. P. Tissue culture of propagation of matures trees of *Prunus serotia* Enrh. I. Establishment, multiplication, and rooting *in vitro*. **Forest Science**, Oxfordshire, v.31, n. 1, p. 201-208, mar., 1985.
- ZONTA, E. P.; MACHADO, A. A. SANEST - **Sistema de Análise Estatística para Microcomputadores**. Pelotas: DMEC/IFM/UFPel, 1987. 138p.