PEREIRA, J.E.S.; FORTES, G.R.L. Produção de mudas pré-básicas de batata por estaquia a partir de plantas micropropagadas. *Horticultura Brasileira*, Brasília, v.22, n.2, p.186-192, abril-junho 2004.

# Produção de mudas pré-básicas de batata por estaquia a partir de plantas micropropagadas

## Jonny Everson Scherwinski Pereira<sup>1</sup>; Gerson Renan de Luces Fortes<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Embrapa Acre, C. Postal 321, 69908-970 Rio Branco-AC; Email: jonny@cpafac.embrapa.br; <sup>2</sup>Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, C. Postal 02372, 70770-900 Brasília-DF

#### **RESUMO**

O uso de estacas de batata a partir de plantas multiplicadas in vitro pode transformar-se em técnica bastante eficiente para melhorar a taxa de multiplicação de material com alta qualidade fitossanitária. O trabalho objetivou estabelecer um protocolo para a produção de mudas pré-básicas por estaquia a partir de microestacas obtidas de plantas de batata recém aclimatizadas e oriundas da micropropagação. Em dois experimentos, foram estudados os efeitos do tipo de material propagativo (basal, mediano e apical), do tempo de exposição das microestacas (zero e um minuto) a seis diferentes concentrações de AIB (0; 250; 500; 750 e 1000 mg L-1), do período de aclimatização das plantas (15 e 30 dias) e do tipo de substrato (areia e vermiculita) na produção de mudas pré-básicas de batata. Verificou-se que microestacas das três posições apresentaram taxas de enraizamento superiores a 90% quando a coleta foi realizada em plantas de batata com 15 dias de aclimatização, seguido do tratamento de imersão rápida em solução de AIB na concentração de 500 mg L<sup>-1</sup> e utilizando-se areia ou vermiculita como substrato.

**Palavras-chave:** Solanum tuberosum L., enraizamento, propagação vegetativa, semente básica, cultura de tecidos.

#### **ABSTRACT**

# Production of pre-basic potato plants by cuttings obtained from micropropagated plants

The use of cuttings from micropropagated potato plants can become an efficient technique to improve the multiplication rate of potato genotypes of high genetic quality and sanitary level. A protocol for the production of pre-basic potato material by microcuttings, obtained from plants with a short period of acclimatization, was established. The influence of cutting position (basal, medium and apical), the collection period (15 and 30 days), the immersion time (zero and one minute) in different IBA concentrations (0; 250; 500; 750 and 1000 mg L<sup>-1</sup>), and substrate types (sand and vermiculite) were analyzed in two experiments. Basal, medium and apical microcutting position presented rooting rates up to 90% when collected from 15 days acclimatization potato plants followed by treatment through fast immersion in IBA solution at 500 mg L<sup>-1</sup> and in sand or vermiculite as substrate.

**Keywords:** *Solanum tuberosum* L., rooting, vegetative propagation, basic seed, tissue culture.

#### (Recebido para publicação em 3 de abril de 2003 e aceito em 10 de outubro de 2003)

Um dos fatores mais limitantes da cultura da batata (*Solanum tuberosum* L.) é a sua suscetibilidade a grande número de doenças. Por ser cultura propagada vegetativamente, uma vez infectados, os tubérculos-semente levam à degenerescência da cultura com influências diretas sobre a produtividade (Assis, 1999; Lopes e Reifschneider, 1999). Se por um lado, o controle de fungos e bactérias pode ser feito por meio de produtos químicos, o mesmo não acontece com as viroses, devido à interação dos vírus com as células da planta (Fortes e Pereira, 2003).

Na prática, há duas formas de se obter material propagativo livre de vírus: por meio do cultivo das sementes verdadeiras ou botânicas ou através da cultura de meristemas. O uso de sementes verdadeiras para multiplicação da batata tem importância apenas para trabalhos de melhoramento da espécie, devido, principalmente, à variabilidade

que este tipo de material pode apresentar, quando utilizado em cultivo comercial, além dos problemas relacionados à falta de tecnologia de produção a partir deste tipo de material propagativo. A cultura de meristemas, associada à micropropagação, é uma técnica comumente utilizada para obtenção ou recuperação de plantas livres de vírus (Fortes e Pereira, 2003). Embora sendo rotineiramente utilizada na cultura da batata, essa técnica ainda apresenta elevados custos, sendo importante portanto, a busca de novos métodos que permitam o aumento da taxa de multiplicação de materiais comprovadamente livres de patógenos (Pereira e Fortes, 2003). Contudo, para que os materiais obtidos cheguem aos bataticultores em boas condições sanitárias e em breve espaço de tempo, devem ser multiplicados de maneira rápida e de forma que se previna a reinfecção por diversos patógenos (Pereira et al., 2001b;

Medeiros et al., 2001; Pereira, 2002).

A possibilidade de utilização de estacas das hastes de plantas de batata micropropagadas pode constituir-se em técnica eficiente para aumentar a taxa de multiplicação de maneira prática e econômica, além de possibilitar sua multiplicação durante os diferentes períodos do ano. O método constitui-se num procedimento de propagação vegetativa para obter de forma acelerada um incremento no número de plantas livres de doenças, principalmente viroses, utilizando porções vegetativas de diferentes partes da planta, tais como hastes de plantas juvenis. Desta forma, acredita-se que de uma única planta sadia possa se produzir dezenas de novas plantas e, consequentemente, aumentar a taxa de multiplicação do material prébásico (Bryan et al., 1981; Silva, 1987). Salienta-se ainda que, além de aumentar a taxa de multiplicação, esta propagação rápida pode tornar-se em técnica eficiente para a produção de mudas para programas de produção de material prébásico sob condições hidropônicas (Pereira *et al.*, 2001b; Medeiros *et al.*, 2001; Pereira, 2002).

Este trabalho teve por objetivo estabelecer um protocolo para a produção de mudas pré-básicas de batata de alta qualidade fitossanitária, por meio de estaquia a partir de plantas recém aclimatizadas oriundas da micropropagação.

# **MATERIAL E MÉTODOS**

Os experimentos foram desenvolvidos na Embrapa Clima Temperado, em Pelotas (RS). O material vegetal utilizado nos experimentos encontrava-se na fase de multiplicação, em meio de cultura semisólido, formado pelos sais e vitaminas do meio de MS (Murashige e Skoog, 1962), acrescido de 30 g L<sup>-1</sup> de sacarose, 100 mg L-1 de mio-inositol e 6 g L-1 de ágar. Brotações de batata da cultivar Baronesa foram separadas em segmentos de 0,8 a 1,0 cm de comprimento com uma gema axilar e subcultivadas em novo meio de cultura MS, onde permaneceram por 30 dias em sala de crescimento sob temperatura de 25±2°C, fotoperíodo de 16 horas e radiação de 35 mmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>, fornecida por lâmpadas fluorescentes branca frias.

#### Transplantio e aclimatização

Após o período de crescimento sob condições *in vitro*, as plantas enraizadas, com alturas entre 5 e 7 cm, tiveram suas raízes lavadas para retirada do excesso de meio de cultura. A seguir, foram transplantadas para bandejas de isopor de 72 células, preenchidas com substrato formado por uma mistura de terra de mato, vermiculita e esterco bovino na proporção de 3:1:1 (v/v), previamente esterilizado com brometo de metila, a fim de eliminar os agentes patogênicos em potencial.

O transplantio, realizado em casa de vegetação com temperatura de 25±5°C, foi efetuado com cuidado e rapidez para evitar o dessecamento das plantas. Na primeira semana de aclimatização, as plantas foram mantidas sombreadas, sob malhas de sombrite (interceptação luminosa de 60%), e irrigadas pelo menos duas vezes ao dia, procurando-se manter as folhas sempre úmidas.

#### Preparo das microestacas

As microestacas, de gema e folha única, foram obtidas a partir de plantas de batata com 15 ou 30 dias de aclimatização, com altura média de 8-12 cm. Para verificar o potencial organogênico das diferentes partes da planta, as hastes cortadas foram divididas em três partes, sendo assim classificadas como basais, medianas ou apicais. De cada porção obtiveram-se três microestacas. No total, foram obtidas nove microestacas por planta, com tamanho aproximado de 1,0 a 1,5 cm.

### Influência do tempo de exposição a diferentes concentrações do ácido indolbutírico e tipo de material propagativo

O trabalho foi desenvolvido nos meses de janeiro a abril de 2001. Após um mês de aclimatização, as extremidades das microestacas de gema e folha única, obtidas de diferentes partes da planta (basal, mediana e apical), foram colocadas em contato com uma solução do ácido indolbutírico (AIB) nas concentrações de 0 (testemunha, imersão em água), 250; 500; 750 e 1000 mg L<sup>-1</sup> por tempo considerado zero (imersão rápida) e um minuto.

Em seguida ao tratamento, as microestacas foram colocadas para enraizar em caixas plásticas (30x50x15 cm), contendo substrato formado por areia de granulometria média, a qual foi previamente esterilizada através de autoclavagem, em condições de casa de vegetação. Na primeira semana, o material vegetativo foi mantido em ambiente sob sombrite (interceptação luminosa de 60%) e com irrigação de duas a três vezes por dia para manter as folhas sempre úmidas.

O delineamento experimental foi blocos casualizados. Cada tratamento foi formado por cinco repetições, sendo cada parcela formada por dez microestacas. Os tratamentos seguiram um esquema fatorial 2x3x5, com dois tempos de imersão (zero e um minuto), três tipos de microestacas (basal, mediana e apical) e cinco concentrações de AIB (0; 250; 500; 750 e 1000 mg L-1).

# Influência do período de aclimatização das plantas, origem do material propagativo e do substrato

O trabalho foi desenvolvido de junho a setembro de 2001. A extremidade inferior das microestacas de gema e folha única, obtidas de diferentes porções da planta (basal, mediana ou apical) e em diferentes períodos de aclimatização (15 ou 30 dias), foram colocadas em contato com uma solução do ácido indolbutítico (AIB) na concentração de 500 mg L<sup>-1</sup> por imersão rápida. A escolha da concentração da solução de AIB e do tempo de imersão foram de acordo com os resultados obtidos no primeiro experimento.

Em seguida ao tratamento, as microestacas foram colocadas para enraizar da mesma forma que no experimento anterior, com exceção do substrato que foi formado por areia (granulometria média, previamente esterilizada por autoclavagem) ou vermiculita (granulometria fina).

O delineamento experimental utilizado foi blocos casualizados. Cada tratamento foi constituído por quatro repetições, sendo cada parcela formada por dez microestacas. Os tratamentos seguiram esquema fatorial 2x2x3, com duas épocas de coleta das microestacas (15 e 30 dias de aclimatização), dois tipos de substrato (areia e vermiculita) e três tipos de microestacas (basal, mediana e apical).

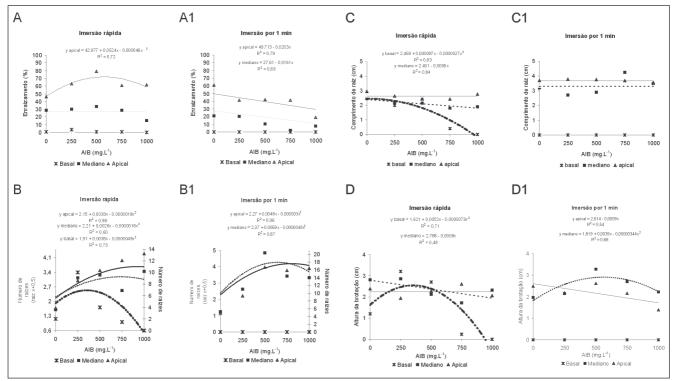
Para ambos experimentos, após 30 dias de cultivo avaliaram-se a porcentagem de estacas enraizadas, o número e comprimento médio de raízes por estaca, a altura da brotação crescida a partir da gema lateral e o número de folhas formadas.

Variáveis expressas em porcentagem (x) foram transformadas segundo arco seno $\sqrt{x/100}$ . Para aquelas obtidas através de contagem (número de raízes e folhas) (x) os dados foram transformados segundo  $\sqrt{x+0.5}$ .

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

# Influência do tempo de exposição a diferentes concentrações do ácido indolbutírico e tipo de material propagativo

Sob imersão rápida, não se observou diferenças significativas para a taxa de enraizamento das estacas de origem mediana e basal em relação às diferentes concentrações de AIB utilizadas.



**Figura 1.** Porcentagem de enraizamento (A e A1), número de raízes formadas (B e B1), comprimento de raízes (C e C1) e altura da brotação crescida (D e D1) em estacas de batata de origem basal, mediana e apical em função do tempo de exposição a diferentes concentrações de AIB. Pelotas, Embrapa Clima Temperado, 2001.

Para estes dois tipos de material, o enraizamento médio foi considerado baixo, de aproximadamente 28 e 1%, respectivamente. Para as de origem apical, houve um comportamento ascendente na porcentagem de enraizamento até a concentração de 500 mg L<sup>-1</sup> de AIB, onde 78% das microestacas originadas deste material mostraram enraizamento. Nas estacas testemunhas, o enraizamento foi de aproximadamente 43% (Figura 1A).

De um modo geral, o tratamento das estacas por um minuto em concentrações mais elevadas de AIB provocou diminuição na porcentagem de enraizamento dos materiais de origem apical e mediano (Figura 1A1). Assim, para ambos materiais, o ajuste indicou regressões lineares decrescentes onde o decréscimo na variável estudada foi de aproximadamente 2,0 e 1,6%, respectivamente, para cada aumento unitário na concentração de AIB. Nestes tratamentos, as testemunhas foram as que apresentaram a maior porcentagem de enraizamento (61% e 21%) numa clara evidência de que por tratar-se de material herbáceo e, portanto, com baixo requerimento em auxina, um aumento no tempo de exposição, associado a concentrações mais elevadas do regulador de crescimento, tenham ocasionado algum efeito fitotóxico nas microestacas.

As estacas de origem basal, tratadas por um minuto em solução de AIB, não apresentaram enraizamento. Este fato impossibilitou avaliar as demais variáveis deste tratamento (Figura 1A1).

A capacidade de qualquer porção vegetativa em formar raízes é função de um complexo número de fatores intrínsecos e extrínsecos ao material que se quer enraizar. Para Wilson (1993), embora sejam muitas as fontes de variação no enraizamento, a porção da planta de onde se obtém a estaca pode ser particularmente importante. Para algumas espécies vegetais, as estacas basais e medianas enraízam melhor, enquanto que em outras, as porções apicais apresentam melhor resultado. Há ainda relatos que demonstram não haver influência da posição da estaca na planta sobre o enraizamento (Chalfun, 1989; Wilson, 1993). No entanto, sabendo-se que a extremidade de ramos constitui-se como um dos principais centros de síntese de

auxina nas plantas (Gianfagna, 1987), seria de se esperar que as porções vegetativas mais apicais das plantas de batata testadas neste experimento apresentassem melhor enraizamento. Além disso, porções mais apicais são constituídas de tecidos mais jovens do que os da base da planta, fato que, em geral, pode proporcionar melhores resultados (Pereira e Fortes, 2001). Tais hipóteses poderiam explicar os resultados obtidos no experimento que testou o tempo de exposição e diferentes concentrações de AIB no enraizamento, no qual se observou nítida superioridade das microestacas de origem apical sobre as medianas e basais em formar raízes.

As auxinas, além de estarem implicadas em diversas atividades físiológicas da planta, como crescimento de ramos, dominância apical e desenvolvimento de frutos, também apresentam importante papel na indução de raízes, sendo, por isso, amplamente utilizadas em trabalhos que envolvem a propagação de plantas através de estacas. Um dos melhores e mais utilizados estimulantes do enraizamento é o ácido indolbutírico (AIB) que, além de pos-

**Tabela 1.** Porcentagem de enraizamento de mudas de batata em função do tipo de material vegetal (porção basal, mediana ou apical) e período de aclimatização das plantas (15 e 30 dias) (A) e substrato (B). Pelotas, Embrapa Clima Temperado, 2001.

Época de coleta —	Origem do material			Substrato	
	Basal	Mediano	Apical	Areia	Vermiculita
15 dias	95,5aA	95,3aA	95,3aA	91,9aA	97,9aA
30 dias	33,3bB	82,8aB	93,4aA	81,2bA	63,7bB
C.V (%)			16,0		

Médias seguidas por letras distintas, minúsculas na vertical e maiúsculas na horizontal, diferem entre si pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade.

suir uma atividade auxínica fraca sobre os tecidos, é degradado de forma lenta pelos sistemas enzimáticos de degradação sendo, portanto, relativamente estável no solo (Gianfagna, 1987; Awad et al., 1988). Entretanto, é difícil estabelecer limites quanto à concentração a ser utilizada. É evidente supor, contudo, que estacas herbáceas necessitam concentrações inferiores às das lenhosas e que devido às variações observadas nas taxas de enraizamento, particularmente para a batata, os resultados encontrados na literatura mostram a necessidade de se utilizar soluções enraizadoras em concentrações que podem variar em função da cultivar (Silva, 1987).

Embora neste experimento o principal objetivo tenha sido o de verificar a viabilidade do enraizamento das estacas, sendo, portanto, a porcentagem de enraizamento a principal variável a ser observada, o número e tamanho de raízes e a altura da brotação também foram avaliados no final do experimento. Observa-se que tanto sob imersão rápida como por um minuto, as estacas de origem apical e mediana apresentaram aumento no número de raízes formadas até a concentração de 750 mg L<sup>-1</sup>, aproximadamente. As de origem basal na concentração de 500 mg.L-1 de AIB apresentaram decréscimo no número de raízes formadas por estaca (Figuras 1B e 1B1).

Raízes originadas a partir de estacas apicais não apresentaram diferenças significativas em relação ao comprimento nos diferentes tratamentos com AIB (Figuras 1C e 1C1). Em relação às estacas de origem mediana, observou-se comportamento linear decrescente da variável estudada em função das concentrações de AIB testadas. Para as basais, o

modelo quadrático foi o que melhor se ajustou para explicar o comprimento de raízes em função das concentrações da auxina utilizada. Calculando-se pela equação de regressão, o ponto máximo para a variável corresponde a 18 mg L<sup>-1</sup>, o que proporcionaria raízes com comprimento de 2,45 cm (Figura 1C). Sob imersão de um minuto, não foram observadas diferenças para o comprimento das raízes nas microestacas de origem mediana e apical em função das concentrações de AIB. Para estas, o comprimento médio foi de 3,3 e 3,7 cm, respectivamente (Figura 1C1).

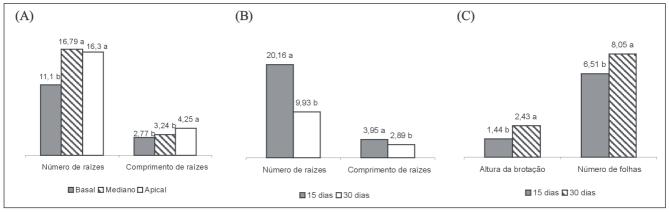
Sob imersão rápida, não foram observadas diferenças estatísticas significativas para a altura de brotações crescidas a partir da gema lateral de microestacas de origem apical nas diferentes concentrações de AIB (Figura 1D). Para estas, a altura média foi de aproximadamente 2,25 cm, independentemente das concentrações de AIB testadas. Para as medianas, apesar do baixo coeficiente de determinação (R<sup>2</sup>=0,49), houve redução no crescimento (altura) das brotações com o aumento nas concentrações de AIB e, nas estacas basais, embora somente 1% delas tenha apresentado enraizamento, as brotações crescidas foram maiores na concentração de 250 mg L-1 de AIB.

Verificou-se que a altura das brotações de microestacas apicais, quando submetidas à imersão por um minuto, apresentaram diminuição no crescimento da gema lateral com o aumento nas concentrações de AIB. Por outro lado, as estacas medianas apresentaram melhora no crescimento até a concentração de 500 mg L<sup>-1</sup> de AIB, aproximadamente, quando então houve diminuição na altura das brotações (Figura 1D1).

Influência do período de aclimatização das plantas, tipo de material propagativo e do substrato

De maneira geral, os maiores índices de enraizamento foram observados quando a coleta das microestacas ocorreu aos 15 dias de aclimatização, independentemente da origem do material utilizado (Tabela 1). Assim, microestacas de origem basal, mediana e apical coletadas aos 15 dias alcançaram em média 95% de enraizamento (Figura 5A). Microestacas coletadas aos 30 dias de aclimatização das plantas de batata oriundas da cultura de tecidos, apresentaram, de maneira geral, menor porcentagem de enraizamento quando comparadas àquelas obtidas aos 15 dias de aclimatização, com exceção para as de origem apical. A obtenção de material neste período (30 dias) fez com que fossem observadas diferenças significativas em função da origem da estaca utilizada. Estacas obtidas da porção mediana e apical não mostraram diferenças significativas apresentando, entretanto, porcentagens de enraizamento superiores àquelas de origem basal, que alcançaram índice de apenas 33,3%. Portanto, dois aspectos poderiam ser considerados a partir destes resultados: a confirmação da viabilidade de se utilizar material de qualquer parte da planta para o enraizamento e que resultados superiores são obtidos quando há uma precocidade de extração microestacas, demonstrando que o estado fisiológico da planta matriz parece ser um dos fatores mais importantes para facilitar o enraizamento.

A época de coleta das microestacas também apresentou diferença significativa para porcentagem de enraizamento em função do substrato utilizado. Verificou-se melhores resultados quando as



**Figura 2.** Número e comprimento médio (cm) de raízes e altura da brotação lateral (cm) e número de folhas formadas em mudas de batata em função do tipo de material vegetal (porção basal, mediana ou apical) (A) e do período de aclimatização das plantas (15 e 30 dias) (B). Pelotas, Embrapa Clima Temperado, 2001.

(Médias seguidas por letras distintas dentro de cada variável, diferem entre si pelo teste de Duncan em 5% de probabilidade. C.V. 9,6%, 19,3%, 26,6% e 7,4%, respectivamente)

microestacas foram obtidas aos 15 dias de aclimatização, independentemente do tipo de substrato utilizado (Tabela 1). A coleta das microestacas aos 30 dias, além de apresentar menor porcentagem de enraizamento quando comparado às obtidas aos 15 dias, também diferiu significativamente para o substrato utilizado. No substrato formado por areia, houve 81,2% de enraizamento das estacas, resultado significativamente superior ao obtido em vermiculita que teve 63,7% de enraizamento (Tabela 1).

Como citado anteriormente, dentre os muitos fatores a serem considerados num trabalho de enraizamento, o tipo de substrato é, reconhecidamente, um dos que apresenta importância destacada. Dentre outras características, este deve proporcionar boa retenção de ar e água para uma eficiente oxigenação e dissipação de gases e controle sobre o surgimento de doenças causadas normalmente pela excessiva retenção de umidade (Bordás et al., 1988; Couvillon, 1988). Neste trabalho, de modo geral, houve superioridade na porcentagem de enraizamento das microestacas quando se utilizou areia como substrato. Isso sugere, que a areia poderia ser utilizada para este tipo de trabalho, apresentando como outra grande vantagem, o seu baixo custo.

Além de serem constituídas de tecidos mais jovens, uma das hipóteses sugeridas para explicar os melhores índices de enraizamento das microestacas neste segundo experimento talvez pu-





**Figura 3.** Microestacas de batata sob enraizamento (A) e mudas enraizadas após 30 dias em casa de vegetação (B). Pelotas, Embrapa Clima Temperado, 2001.

desse estar relacionado com fatores nutricionais da planta matriz. É possível que a precocidade na extração do material tenha favorecido enraizamento pela maior presença de reservas nas microestacas já que um período mais prolongado para a coleta do material poderia levar a planta a se utilizar destas reservas, acumuladas ainda no período em que permaneceram in vitro, para sustentar o seu crescimento nas primeiras semanas de aclimatização (Cappelades et al., 1991; Pereira et al., 2001a). Além disso, diversos trabalhos têm mostrado haver correlação positiva entre o conteúdo de reservas nas estacas e a taxa de enraizamento (Davis e Hartmann, 1988; Chalfun, 1989). Entretanto, por não terem sido realizados mais experimentos para verificar tal hipótese e como houve aumento na porcentagem de enraizamento também nos materiais coletados aos 30 dias de aclimatização das plantas, é bem possível que outros fatores estejam envolvidos nestes resultados. A época de realização dos trabalhos poderia ser um deles, visto que o experimento foi conduzido entre os meses de junho e setembro, meses com clima mais ameno àquele do primeiro experimento (janeiro a abril).

Para a variável número de raízes, observou-se que microestacas de origem mediana ou apical apresentaram em média a formação de 16,5 raízes adventícias por estaca (Figura 2A). Este número foi significativamente superior às de origem basal que formaram 11,1 raízes por planta, após 30 dias de permanência em casa de vegetação. Quando se avaliou a influência da época de coleta no número de raízes, observouse que também para esta variável

microestacas coletadas aos 15 dias foram as que apresentaram os melhores resultados, significativamente superiores às estacas obtidas de plantas com 30 dias de aclimatização (20,2 e 9,9 raízes/planta, respectivamente), confirmando os efeitos benéficos que a antecipação da coleta traz para o enraizamento de microestacas de batata.

Comportamento semelhante ao número de raízes foi observado quanto ao comprimento das raízes formadas. Entretanto, para esta variável, diferentemente do que foi observado para número de raízes, diferenças estatísticas também foram observadas entre as estacas de origem mediana e apical, com os melhores resultados sendo verificados para as apicais (Figura 2A). As medianas, embora apresentando comprimento médio superior às basais em cerca de 0,5 cm, não diferiram estatisticamente destas. Assim, como o verificado para número de raízes, microestacas coletadas de plantas de batata com 15 dias de aclimatização, independentemente da origem e substrato que não mostraram interação significativa, foram as que apresentaram os melhores resultados para comprimento de raízes. Nestas, o comprimento médio observado foi de 3,9 cm, significativamente superior aos 2,9 cm apresentados pelas raízes originadas de microestacas coletadas aos 30 dias de aclimatização das plantas (Figura 2B).

Para altura de brotação lateral e número de folhas, não foram observadas interações estatísticas significativas entre tipo de estaca (basal, mediana ou apical) e tipo de substrato utilizado (areia e vermiculita). Para ambas características, diferenças estatísticas só ocorreram quanto à época de coleta. Assim, tanto para altura de brotação como número de folhas, obteve-se os melhores resultados quando as estacas foram coletadas aos 30 dias de aclimatização das plantas de batata. As mudas originadas deste material, apresentaram, em média, broto lateral com 2,4 cm de altura e com 8,0 folhas (Figura 2C). Provavelmente, estes resultados estejam relacionados com o vigor do material vegetal, visto que, quando coletados aos 30 dias de aclimatização, as plantas apresentavam maior vigor (hastes mais

engrossadas, folhas maiores) e, portanto, tenham se utilizado desta característica para o crescimento da parte aérea.

O aspecto das microestacas de batata em cultivo e das mudas enraizadas após 30 dias de cultivo podem ser observados na Figura 3.

A multiplicação vegetativa de mudas de batata oriundas da cultura de tecidos por meio de microestacas, apresentou-se como uma importante alternativa para aumentar os índices de multiplicação do material produzido in vitro e, consequentemente, se reduzir os custos desta técnica. A metodologia desenvolvida neste trabalho mostrou-se rápida, de baixo custo e de fácil aplicabilidade. Utilizando microestacas de gema e folha única, pode-se obter um rendimento de oito a dez vezes na produção de mudas pré-básicas de batata, levando-se em consideração que cada gema presente na microestaca originará uma nova planta. Este índice pode ser ainda maior visto que mais de uma extração pode ser realizada da planta mãe, se nesta for mantida uma gema para nova brotação. Portanto, a técnica pode trazer beneficios diretos aos produtores, pois torna mais acessível a aquisição de material de alta qualidade sanitária, que em função da facilidade de enraizamento poderia ser multiplicado várias vezes, mantendo as características genéticas da planta que lhe deu origem. Além disso, poderia constituirse como uma importante fonte de material para a produção em hidroponia (Pereira, 2002).

Concluiu-se que a coleta de microestacas de plantas de batata com 15 dias de aclimatização, associada ao tratamento do material através de imersão rápida em solução de AIB na concentração de 500 mg L<sup>-1</sup> e cultivo em substrato formado por areia, constitui-se como protocolo para a produção de mudas prébásicas de batata com alta qualidade fitossanitária por meio da estaquia.

# LITERATURA CITADA

ASSIS, M. Novas tecnologias na propagação de batata. *Informe Agropecuário*, Belo Horizonte, v.20, n.197, p.30-33, 1999.

AWAD, A.E.; DAWH, A.K.; ATTYA, M.A. Cutting thickness and auxin affecting the rooting and consequently the growth, and flowering of *Bougainvillea glabra* L. *Acta Horticulturae*, v.226, p.445-449, 1988.

BORDÁS, J.M.C.; BACKES, M.A.; KAMPF, A.N. Características físicas e químicas de substratos comerciais. In: Congresso Florestal Estadual, 6, Nova Prata, 1988. *Anais...* v.1, p.427-435, 1988.

BRYAN, J.E.; JACKSON, M.T.; QUEVEDO, M.; MELÉNDEZ, N. Esquejes de tallo juvenil, una técnica de multiplicación rápida de papa. In: *Técnicas de multiplicación rápida*. Lima: Centro Internacional de la Papa, 1981. 9 p. (Serie CIP de diapositivas didacticas. Guia I/2).

CAPPELADES, M.; LEMEUR, R.; DEBERGH, P. Effects of sucrose on starch acumulation and rate of photosyntesis in Rosa cultured *in vitro*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, v.25, n.1, p.21-26, 1991.

CHALFUN, N.N.J. Fatores bioquímicos e fisiológicos no enraizamento de estacas de Hibiscus rosa-sinensis L. Viçosa: UFV, 1989. 85 p. (Tese doutorado).

COUVILLON, G.A. Rooting responses to different treatments. *Acta Horticulturae*, v.227, p.187-196, 1988.

DAVIS, Jr. F.T.; HARTMANN, H.T. The physiological basis of adventicious formation. *Acta Horticulturae*, v.227, p.113-120, 1988.

FORTES, G.R.L.; PEREIRA, J.E.S. Batata-semente Pré-básica: Cultura de Tecidos. In: PEREIRA, A.S.; DANIELS, J. (Eds.). *O cultivo da batata na região sul do Brasil*. Brasília: Embrapa, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2003. p.421-433.

GIANFAGNA, T.J. Natural and synthetic growth regulators and their use in horticultural and agronomic crops. In: DAVIES, P.J. Ed. *Plant hormones and their role in plant growth and development*. Dordrech: Kluver Academic Publishers. 1987. p.614-635.

LOPES, C.A.; REIFSCHNEIDER, F.J.B. Manejo integrado das doenças da batata. *Informe Agropecuário*, Belo Horizonte, v.20, n.197, p.56-60, 1999.

MEDEIROS, C.A.B.; PEREIRA, A.S.; DANIELS, J.; PEREIRA, J.E.S. Sistemas hidropônicos para produção de sementes pré-básicas de batata. In: ENCONTRO NACIONAL DE PRODUÇÃO E ABASTECIMENTO DE BATATA E SEMINÁRIO NACIONAL DE BATATA SEMENTE, 11, 2001, Uberlândia. *Anais...* Uberlândia: UFU, 2001. p.1-4.

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

PEREIRA, J.E.S.; FORTES, G.R.L. Multiplicação e aclimatização da macieira influenciada pelo tipo de explante e pelo tempo de permanência em meio de enraizamento. *Revista Brasileira de Fruticultura*. Jaboticabal, v.23, n.2, p.417-420, 2001. PEREIRA, J.E.S.; FORTES, G.R.L. Protocolo para a produção de material propagativo de batata em meio líquido. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v.38, n.9, p.1035-1043, 2003.

PEREIRA, J.E.S.; MATTOS, M.L.T.; FORTES, G.R.L. Bactérias endofíticas contaminantes em explantes de batata micropropagados e antibióticos para o controle *in vitro*. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v.38, n.7, p.827-834, 2003.

PEREIRA, J.E.S. Otimização da produção de material pré-básico de batata sob condições de cultivo in vitro, ex vitro e hidropônico. Pelotas: UFPel. 2002. 126 p. (Tese doutorado).

PEREIRA, J.E.S.; FORTES, G.R.L.; SILVA, J.B. Efeito da aplicação de baixa temperatura em plantas de macieira sobre o crescimento durante a aclimatização. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v.36, n.1, p.89-95, 2001a.

PEREIRA, J.E.S.; MEDEIROS, C.A.B.; FORTES, G.R.L.; PEREIRA, A.S.; DANIELS, J. Avaliação de dois sistemas hidropônicos na produção de material pré-básico de batata. *Horticultura Brasileira*, Brasília, v.19, suplemento CD-Rom, 2001b. 3p.

SILVA, R.M. Multiplicação rápida. In: REIFSCHNEIDER, F.J.B. (Ed.). *Produção de batata*. Brasília: Embrapa/CNPH, 1987. p.194-207. WILSON, P.J. Propagation characteristics of *Eucalyptus globulus* Labill. ssp. *globulus* stem cutting in relation of their original position in the parent shoot. *Journal of Horticultural Science*, v.68, p.715-724, 1993.