

Kenia Michele de Quadros Tronco¹ Dilson Antônio Bisognin² Frederico Dimas Fleig²
Micheli Angélica Horbach³

ENRAIZAMENTO *EX VITRO* E ACLIMATIZAÇÃO DE MICROESTACAS DE *Ilex paraguariensis* A. St Hil.

Palavras chave:
substrato
fitorreguladores
erva-mate

RESUMO: A técnica de microestaquia e enraizamento *ex vitro* pode resultar em mudas com o sistema radicular de melhor qualidade e com maior número de raízes secundárias, quando comparada com a estaquia convencional. O objetivo deste trabalho foi avaliar o enraizamento *ex vitro* e a aclimatização de microestacas de erva-mate em diferentes doses do fitorregulador ácido 3-indolibutírico (AIB) e substratos. Em sala de cultivo foi avaliada diferentes doses de ácido 3-indolibutírico (0, 250, 500, 1000 e 2000 mg.L⁻¹) e diferentes substratos utilizados puros (areia grossa, casca de arroz carbonizada, vermiculita, fibra de coco e substrato comercial). Em câmara úmida foram avaliados os mesmos substratos utilizados puros e as seguintes composições de mesmas proporções de volume: casca de arroz carbonizada + areia grossa; casca de arroz carbonizada + areia grossa + substrato comercial; casca de arroz carbonizada + substrato comercial. O enraizamento e a aclimatização *ex vitro* de microestacas de erva-mate podem ser realizados em câmara úmida, sendo necessário o uso de ácido 3-indolibutírico na dose de até 1250 mg.L⁻¹. O substrato composto em iguais proporções volumétricas de casca de arroz carbonizada + areia grossa + substrato comercial proporcionou uma maior porcentagem de microestacas enraizadas.

Histórico:
Recebido 04/06/2012
Aceito 07/04/2015

EX VITRO ROOTING AND ACCLIMATIZATION OF *Ilex paraguariensis* A. St Hil. MICROCUTTINGS

Keywords:
substrate
phytoregulator
holly

ABSTRACT: The technique of microcutting and *ex vitro* rooting can result in plantlets with better quality of radicular system and larger number of secondary roots, when compared with conventional cutting. The objective of this work was to evaluate the *ex vitro* rooting and acclimatization of holly microcuttings in different doses of phyto regulator indole-3-butyric acid (IBA) and substrate. In the growth room were evaluated different doses of indole-3-butyric acid (0, 250, 500, 1000 and 2000 mg.L⁻¹) and different substrates used pure (coarse sand, carbonized rice husk, vermiculite, coconut fiber and commercial substrate). In humid chamber were evaluated the same pure substrates and the following combinations of the same volume ratios: carbonized rice husk + coarse sand; carbonized rice husk + coarse sand + commercial substrate; carbonized rice husk + commercial substrate. The *ex vitro* rooting and acclimation of holly microcuttings can be done in the humid chamber, necessitating the use of indole-3-butyric acid at a dose of 1250 mg.L⁻¹. The substrate composed in equal proportions of carbonized rice husk + coarse sand + commercial substrate provided a higher percentage of rooted microcuttings.

Correspondence:
kenia.tronco@unir.br

¹ UNIR, Rolim de Moura, Rondônia, Brasil

² UFSM, Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brasil

³ UNIOESTE, Marechal Cândido Rondon, Paraná, Brasil

INTRODUÇÃO

O cultivo *in vitro* de embriões zigóticos acelera a propagação da erva-mate (*Ilex paraguariensis* A. Saint Hilaire) e se constitui em uma ótima fonte de explantes, devido à natureza juvenil que confere alto poder regenerativo e maior capacidade de enraizamento aos propágulos (LITZ, 1991; HARTMANN et al., 2011). Plântulas originadas a partir do cultivo *in vitro* de embriões zigóticos podem ser utilizadas para a produção de microestacas. Essas microestacas podem ser enraizadas em meio de cultura apropriado, ou diretamente em substrato. O enraizamento *ex vitro* e a aclimatização em substrato produzem um sistema radicular de melhor qualidade, possibilitando maior suprimento de água e nutrientes para a planta (DÍAZ-PÉREZ et al., 1995), o que pode viabilizar o uso comercial da microestaquia pela redução de tempo e dos custos de produção das mudas (MACIEL et al., 2002).

Vários fatores influenciam no desenvolvimento das raízes e na formação da parte aérea da planta propagada, como o uso de fitorreguladores, o tipo de substrato e o ambiente de enraizamento, incluindo luz, umidade e temperatura (HARTMANN et al., 2011). O ácido 3-indolibutírico (AIB) é a auxina mais utilizada para estimular o enraizamento dos propágulos, devido à baixa toxidez para a maioria das espécies. No entanto, a dose utilizada deve ser adequada para cada espécie e tipo de propágulo (TITON et al., 2003).

O substrato de enraizamento deve possuir baixa densidade, boa capacidade de absorção e de retenção de água, boa aeração e drenagem e ser isento de patógenos e substâncias tóxicas (KAMPF, 2005). Além disso, tão importante e necessário quanto o enraizamento, é o crescimento de várias raízes na planta, sendo que na aclimatização *ex vitro* de microestacas, o uso de substratos porosos auxilia na produção de um maior número de raízes secundárias (HARTMANN et al., 2011).

As condições do ambiente exercem um papel fundamental no enraizamento e na aclimatização das microestacas, sendo a faixa ideal de temperatura entre 25 e 30°C e umidade relativa do ar acima de 80% (GOULART; XAVIER, 2008). Na microestaquia, a aclimatização se dá na sala de cultivo (HORBACH et al., 2011) ou em câmara úmida em casa de vegetação,

no entanto não há registros de trabalhos que relacionem o ambiente com diferentes substratos no enraizamento *ex vitro* e na aclimatização de microestacas de erva-mate. O objetivo deste trabalho foi avaliar o enraizamento *ex vitro* e a aclimatização de microestacas de erva-mate sob diferentes doses de ácido 3-indolibutírico e substratos.

MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos no Núcleo de Melhoramento e Propagação Vegetativa de Plantas, do Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Santa Maria, RS. Embriões zigóticos foram excisados conforme descrito em Horbach et al. (2011) e as plântulas emergidas tiveram seus ápices podados, formando microcepas que permaneceram *in vitro* para o crescimento de brotações.

Para os experimentos, foram utilizadas brotações de quatro genótipos mantidos *in vitro*. Em câmara de fluxo laminar, as brotações foram coletadas e as microestacas foram padronizadas para 1 cm de comprimento, com um segmento nodal e uma ou duas folhas cortadas pela metade. Os parâmetros foram avaliados de maneira independente, ou seja, a mesma microestaca pode ter enraizado e/ou brotado e/ou formado calo.

Ensaio em sala de cultivo

Antes da instalação dos ensaios, os substratos utilizados foram esterilizados em autoclave por 1 h. No primeiro ensaio, a base das microestacas foi imersa por 10 segundos em uma solução de AIB, diluído em solução alcoólica na proporção de 50% e então foram acomodadas em substrato comercial. Os tratamentos utilizados foram doses de 0, 250, 500, 1000 e 2000 mg·L⁻¹ de AIB.

No segundo ensaio foram avaliados os substratos areia (granulometria grossa), casca de arroz carbonizada, vermiculita (granulometria média), fibra de coco e substrato comercial. Cada substrato testado foi distribuído em copos plásticos com drenos, que foram acomodados em bandejas de polietileno encobertas com filme de PVC transparente. As microestacas foram acomodadas individualmente nos copos plásticos e as bandejas foram mantidas em sala de cultivo, com

fotoperíodo de 16 h e temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, sendo a umidade do substrato mantida por meio de irrigações diárias.

Ensaio em câmara úmida

No primeiro ensaio, foram avaliados substratos utilizados puros: areia de granulometria grossa; casca de arroz carbonizada, vermiculita (de granulometria média), fibra de coco e substrato comercial. No segundo ensaio, foram avaliadas as composições de substratos em iguais proporções de volume, formados por casca de arroz carbonizada + areia grossa, casca de arroz carbonizada + areia grossa + substrato comercial, e casca de arroz carbonizada + substrato comercial.

Nos dois ensaios, as microestacas tiveram sua base imersa em solução de $1000\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de AIB por 10 segundos e então foram acomodadas, individualmente, em copos plásticos com drenos, contendo o substrato a ser avaliado. Os copos plásticos foram mantidos em bandejas de polietileno drenadas, em câmara úmida com nebulização intermitente com o auxílio de um umidificador, acionado 12 vezes ao dia por 15 min., para manter a umidade relativa do ar acima de 80%. A câmara úmida estava instalada embaixo de uma bancada na casa de vegetação climatizada, essa com a temperatura regulada para a máxima de 37°C .

Avaliações e análises estatísticas

Aos 30 dias após o início dos ensaios, as microestacas foram avaliadas quanto à porcentagem de enraizamento, de brotação, de formação de calo, de microestacas inalteradas (quando a estaca estava viva, mas não enraizou, não formou calo e não emitiu brotação) e de mortalidade. Aos 60 dias as microestacas foram avaliadas para a porcentagem de enraizamento, de brotação e de mortalidade e para o comprimento da maior raiz, sendo então transferidas para a casa de vegetação sob tela de polietileno com 50% de permeabilidade aos raios solares para completar a aclimatização.

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, com cinco repetições de quatro microestacas cada. Os dados foram submetidos ao teste de homogeneidade de variâncias e, quando necessário, transformados antes da análise estatística. Foi realizada a análise da variância e as médias foram comparadas por regressão polinomial ou teste de Tukey

a 5% de probabilidade, conforme o caso, com o auxílio do programa Statistical Package for the Social Sciences (SPSS Inc. Chicago II).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ensaio em sala de cultivo

Na avaliação realizada aos 30 dias, a mortalidade das microestacas não foi afetada pela concentração de AIB. Para os demais parâmetros avaliados, o ponto de máxima eficiência técnica foi aproximadamente na dose de $1000\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de AIB, com as maiores porcentagens de enraizamento com a dose de $1250\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de brotação com $1100\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, e a menor porcentagem de microestacas inalteradas com a dose de $1000\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de AIB (Figura 1).

Aos 30 dias, microestacas tratadas com a dose $0\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de AIB não haviam apresentado sistema radicular, e apresentaram a maior porcentagem de mortalidade (40%). A dose de $2000\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de AIB indicou um possível efeito fitotóxico, pois a maioria das microestacas apresentaram escurecimento na base, que, provavelmente, interferiu na formação radicular e na parte aérea. Na saída da sala de cultivo, todas as microestacas sobreviventes estavam enraizadas e a dose de $1000\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ apresentou a menor porcentagem de mortalidade e o maior comprimento da maior raiz (dados não apresentados).

Na dose de $1000\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ a porcentagem de formação de calo e brotação em microestacas foi alta (52, 5% e 66,0% respectivamente), não afetando a porcentagem de enraizamento das microestacas.

Resultados similares foram encontrados com o enraizamento *ex vitro* de microestacas de maçã (*Malus pumila* Mill) cultivadas *in vitro*, sendo que as maiores porcentagens de enraizamento foram observadas na dose de 500 e $1000\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de AIB, e doses superiores a $1000\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de AIB foram prejudiciais, inibindo o enraizamento (PEDROTTI; VOLTOLINI, 2001). Da mesma maneira, no enraizamento *ex vitro* de microestacas de teca (*Tectona grandis* L.), foram observados os maiores comprimentos da raiz principal aos 30 dias utilizando 1000 e $2000\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de AIB (FERMINO JÚNIOR et al., 2011). No entanto, microestacas retiradas de microjardim clonal *ex vitro* de mirtilo (*Vaccinium ashey* Reade) precisaram de $2000\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de AIB para enraizarem (SCHUCH et al., 2007).

Em oposição a esses resultados, Pompelli e

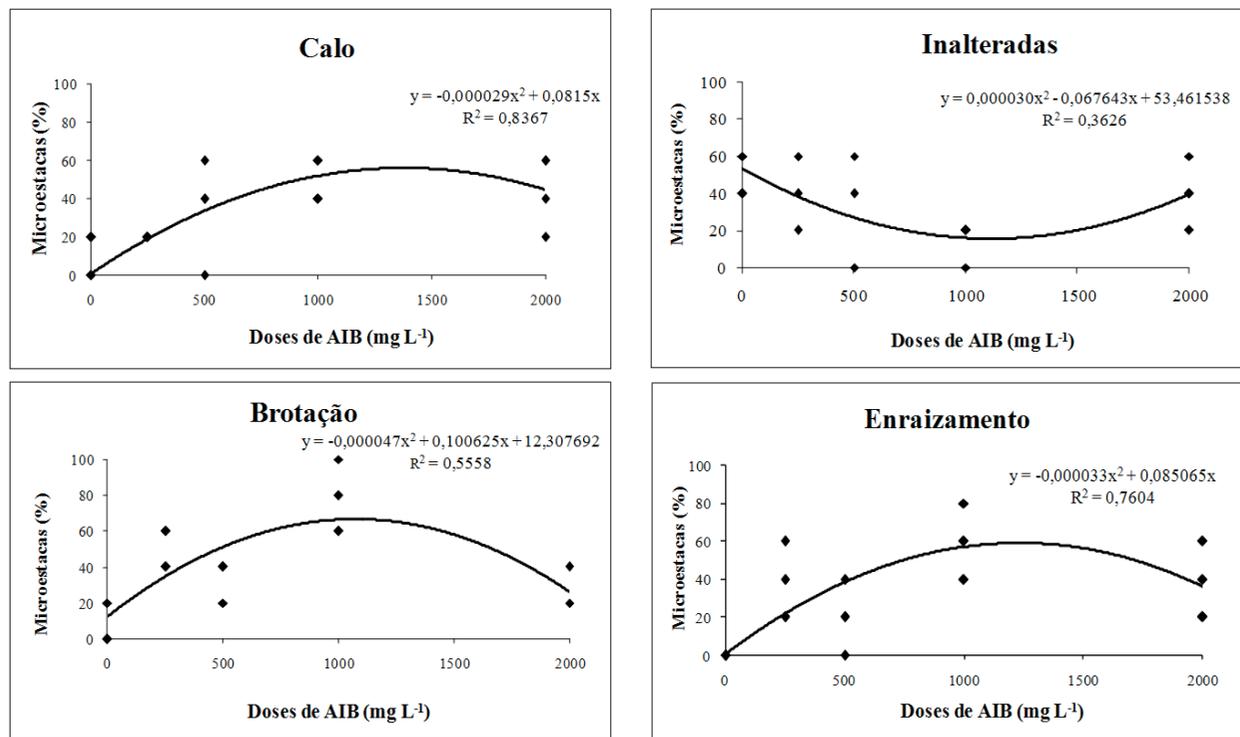


FIGURA 1 Porcentagem de enraizamento de microestacas, de brotação, de formação de calo e de microestacas inalteradas de erva-mate, sob doses crescentes de AIB, em avaliação aos 30 dias e realizado em sala de cultivo. Santa Maria, RS.

FIGURE 1 Microcuttings percentage of rooting, shooting, callus formation and unchanged microcuttings of holly to increasing doses of IBA, in assessment at 30 days and performed in cultivation room. Santa Maria, RS.

Guerra (2006), estudando o enraizamento *ex vitro* de microestacas de bromélia (*Dyckia distachya* Hassler) estabelecidas *in vitro*, observaram que a porcentagem de enraizamento não foi influenciada pelo uso de AIB. Da mesma forma, Titon et al. (2003) verificaram que doses de 0 a 2000 mg·L⁻¹ não alteram a porcentagem de enraizamento em casa de vegetação e o crescimento de microestacas de *Eucalyptus grandis* W. Hill ex Maiden retiradas de microjardim clonal.

É reconhecido que a capacidade de enraizamento é variável coma maturidade do material a ser propagado, entre espécies e entre genótipos (DAMIANI et al., 2009; MARINHO et al., 2009), o que justifica as variações de resposta à aplicação de AIB encontradas na literatura. No entanto, neste estudo, o uso de até mg·L⁻¹ de AIB estimulou o enraizamento, já aos 30 dias, em microestacas de erva-mate.

Avaliando os substratos, aos 30 dias de cultivo, o substrato vermiculita apresentou 100% de mortalidade e foi desconsiderado para as análises estatísticas. Os substratos apresentaram diferenças para todas as variáveis, exceto para microestacas inalteradas (Tabela I). A casca

de arroz carbonizada apresentou a maior porcentagem de enraizamento e brotação, enquanto que a areia grossa apresentou as menores porcentagens nessas variáveis, embora não tenha diferido do substrato comercial. Não houve formação de calo nas microestacas em areia grossa. A areia grossa e a fibra de coco apresentaram as maiores porcentagens de mortalidade e as menores porcentagens de enraizamento.

Aos 60 dias, todos os parâmetros avaliados apresentaram diferenças entre os tratamentos (Tabela I). A casca de arroz carbonizada novamente apresentou as maiores porcentagens de enraizamento e brotação, além de apresentar o maior comprimento médio da maior raiz, não diferindo do substrato comercial, além de apresentar as menores porcentagens de mortalidade.

Em oposição à ineficiência da vermiculita em sala de cultivo encontrada neste trabalho, para o enraizamento *ex vitro* de microestacas de teca (*Tectona grandis* L) em sala de cultivo, o uso de vermiculita foi viável (FERMINO JÚNIOR et al., 2011). Já em relação à eficiência da casca de arroz carbonizada, Maciel et al. (2002) encontraram resultados semelhantes no enraizamento *ex vitro* de macieira (*Malus*

TABELA 1 Porcentagem de enraizamento de microestacas, brotação, emissão de calo, microestacas inalteradas, mortalidade e o comprimento médio da maior raiz, após 30 e 60 dias de avaliação, utilizando substratos puros e realizado em laboratório em sala de cultivo. Santa Maria, RS.

TABLE 1 Microcuttings percentage of rooting, shoots, callus emission, unchanged microcuttings, mortality and average length of the largest root, after 30 and 60 days of evaluation, using pure substrates in the growth cultivation room at laboratory. Santa Maria, RS.

Substrato	Enraizamento (%)	Brotação (%)	Calo (%)	Inalteradas (%)	Mortalidade (%)
Avaliação realizada aos 30 dias					
Areia grossa	5,0 b*	25,0 b	0,0 b	30,0 ^{ns}	65,0 c
Casca de arroz carbonizada	45,0 a	80,0 a	55,0 a	25,0	5,0 a
Substrato comercial	20,0 ab	75,0 a	50,0 a	20,0	20,0 ab
Fibra de coco	10,0 ab	35,0 ab	55,0 a	0,0	45,0 bc
Média	20,0	53,75	40	18,75	33,75
Coefficiente de variação (%)	63,8	57,7	30,2	17,4	27,7
Substrato	Enraizamento (%)	Brotação (%)	Comprimento médio da maior raiz (cm)	Mortalidade (%)	
Avaliação realizada aos 60 dias					
Areia grossa	5,0 b*	15,0 b	0,08 b	75,0 c	
Casca de arroz carbonizada	60,0 a	70,0 a	1,01 a	25,0 a	
Substrato comercial	25,0 ab	60,0 a	0,55 ab	30,0 ab	
Fibra de coco	15,0 b	25,0 b	0,29 b	65,0 bc	
Média	26,25	42,5	0,46	48,75	
Coefficiente de variação (%)	24,7	29,1	1,0	31,4	

*Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5 % de probabilidade de erro. ns: valores não significativos pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade de erro.

prunifolia Willd.). Da mesma maneira, na microestaquia de mirtilo (*Vaccinium* spp), o substrato comercial apresentou alta taxa de sobrevivência (69,8%) em relação à areia grossa (56,8%) (SCHUCH et al., 2007).

Ensaio em câmara úmida

Nas avaliações realizadas aos 30 e 60 dias de cultivo em câmara úmida, os substratos testados diferiram para as porcentagens de enraizamento e mortalidade (Tabela 2). A porcentagem de brotação e a presença de calo foram baixas para todos os tratamentos. A areia grossa, a casca de arroz carbonizada, o substrato comercial e a vermiculita apresentaram a maior porcentagem de enraizamento e a menor porcentagem de mortalidade.

Aos 60 dias, as microestacas em areia grossa apresentaram alta porcentagem de mortalidade em relação à primeira avaliação, sendo que este fato ocorreu até mesmo com microestacas já enraizadas (Tabela 2). As

microestacas em fibra de coco que haviam apresentado raízes na primeira avaliação, não sobreviveram na segunda avaliação e, além disto, este substrato não apresentou nenhuma estaca com raiz ou broto.

Ao comparar os mesmos substratos nas avaliações de 30 e 60 dias nos dois ambientes de enraizamento, pode-se observar que a areia grossa, quando utilizada em sala de cultivo, apresentou baixa porcentagem de enraizamento, porém apresentou maior porcentagem de enraizamento em câmara úmida. O substrato comercial apresentou maiores porcentagens de enraizamento das microestacas quando foi utilizada a câmara úmida como ambiente de enraizamento. Na sala de cultivo houve um melhor controle de temperatura, entretanto não houve controle eficiente de umidade relativa do ar. Assim, em sala de cultivo foi necessário corrigir diariamente a umidade do substrato, sendo que o ambiente permaneceu com menor umidade relativa do ar. Já na câmara úmida pôde-se ter um controle menos

TABELA 2 Porcentagem de enraizamento de microestacas, brotação, emissão de calo, microestacas inalteradas, mortalidade e o comprimento médio da maior raiz, após 30 e 60 dias de avaliação, utilizando substratos puros em câmara úmida. Santa Maria, RS.

TABLE 2 Percentage of rooting, shoots, callus emission, unchanged microcuttings, mortality and average length of the largest root, after 30 and 60 days of evaluation, using pure substrates in humid chamber. Santa Maria, RS.

Substrato	Enraizamento (%)	Brotação (%)	Calo (%)	Inalteradas (%)	Mortalidade (%)
Avaliação realizada aos 30 dias					
Areia grossa	55,0 a*	0,0 ^{ns}	15,0 ^{ns}	30,0 ^{ns}	10,0 a
Casca de arroz carbonizada	35,0 ab	5,0	0,0	25,0	35,0 ab
Substrato comercial	40,0 a	0,0	15,0	35,0	15,0 a
Fibra de coco	5,0 b	10,0	0,0	20,0	65,0 b
Vermiculita	30,0 ab	5,0	5,0	40,0	25,0 a
Média	33	4	7	30	30
Coeficiente de variação(%)	19,8	6,9	0,6	15,9	24,9
Substrato	Enraizamento (%)	Brotação (%)	Comprimento médio da maior raiz (cm)	Mortalidade (%)	
Avaliação realizada aos 60 dias					
Areia grossa	15,0 bc*	10,0 ab	0,13 cd		85,0 b
Casca de arroz carbonizada	35,0 ab	25,0 ab	0,34 bc		55,0ab
Substrato comercial	55,0 a	50,0 a	0,57 ab		30,0 a
Fibra de coco	0,0 c	0,0 b	0,00 d		75,0 b
Vermiculita	50,0 a	25,0 ab	0,67 a		30,0 a
Média	31	22	0,34		55
Coeficiente de variação(%)	16,0	16,1	17,3		50,8

*Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5 % de probabilidade de erro; ns: valores não significativos pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade de erro.

eficiente de temperatura, porém a umidade relativa do ar foi mantida alta durante todo o período com o auxílio de umidificador. Diante disto, os ambientes utilizados para o enraizamento e a aclimatização das microestacas variaram quanto à umidade relativa e a temperatura do ar, o que afetou o enraizamento das microestacas nos diferentes substratos.

Estas distintas respostas fisiológicas entre os substratos observados nestes experimentos também foram observadas por Fermino Júnior et al. (2011) no enraizamento *ex vitro* de teca (*Tectona grandis* L.), sendo que as diferentes respostas devem-se ao fato de os substratos utilizados, como a vermiculita e o substrato comercial, apresentarem composições e características diferentes.

Avaliando os substratos formulados a partir da mistura dos materiais, pode-se observar que aos 30 dias

todos os parâmetros avaliados apresentaram diferença entre os tratamentos, exceto para a presença de calo (Tabela 3). Nenhuma das composições de substrato apresentou microestacas inalteradas. A brotação foi baixa no tratamento de casca de arroz carbonizada + areia grossa. As composições C+A+S e C+S apresentaram alta porcentagem de enraizamento e baixa porcentagem de mortalidade.

A porcentagem de microestacas enraizadas no tratamento C+A+S apresentou um decréscimo da primeira avaliação para a segunda avaliação (de 95% para 85%) devido ao fato de algumas plantas terem morrido mesmo depois de enraizadas. A composição de C+A apresentou a maior mortalidade também aos 60 dias, além de o menor comprimento médio da maior raiz e a menor porcentagem de brotação (Tabela 3). As composições C+A+S e C+S apresentaram a maior

Tabela 3- Porcentagem de enraizamento de microestacas, de brotação, de formação de calo e de mortalidade de microestacas de erva-mate após 30 e 60 dias de avaliação, em diferentes composições de substratos em câmara úmida. Santa Maria, RS.

Table 3 - Percentage of rooting, shooting, callus formation, of unchanged and mortality of holly microcuttings after 30 and 60 days of evaluation in different substrate compositions in a humid chamber. Santa Maria, RS.

Substratos / Composição	Enraizamento (%)	Brotação (%)	Calo (%)	Mortalidade (%)
Avaliação realizada aos 30 dias				
C+A*	50,0 b**	15,0 b	25,0 ^{ns}	50,0 b
C+S	70,0 ab	75,0 a	5,0	30,0 ab
C+A+S	95,0 a	70,0 a	10,0	5,0 a
Média	71,67	53,33	13,33	28,33
CV	34,6	46,3	9,2	22
Substratos/ Composição	Enraizamento (%)	Brotação (%)	Comprimento médio da maior raiz (cm)	Mortalidade (%)
Avaliação realizada aos 60 dias				
C+A*	50,0 b**	15,0 b	0,48 b	50,0 b*
C+S	80,0 a	70,0 a	1,66 a	20,0 a
C+A+S	85,0 a	75,0 a	1,83 a	15,0 a
Média	71,67	53,33	1,33	28,33
CV	25,1	46,3	20,8	1,2

*C+A-casca de arroz carbonizada + areia grossa; C+S-casca de arroz carbonizada + substrato; C+A+S-casca de arroz carbonizada + areia grossa + substrato comercial; **Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5 % de probabilidade de erro; ns: valores não significativos pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade de erro.

porcentagem de enraizamento, o maior comprimento da maior raiz, as maiores porcentagens de brotação e as menores porcentagens de mortalidade.

A formação de calo e emissão de broto parece não ter influenciado o enraizamento das microestacas, pois os substratos que apresentaram altas porcentagens de enraizamento (C+A e C+A+S) também apresentaram calo e broto. Portanto, neste estudo, a presença de calo não pode ser considerada como prejudicial para o enraizamento adventício.

Na aclimatização de violetas (*Saintpaulia ionantha* Wendl), as mudas apresentaram maior sobrevivência quando foi utilizada a mistura de componentes para a formulação composição de substratos, comparado com os substratos utilizados puros (MACIEL et al., 2000). Utilizando substrato comercial mais areia, Meneguete et al. (2004) obtiveram 90 % de sobrevivência em estacas de orquídea (*Epidendrum ibaguense* Lindl.). Comportamento semelhante foi observado no enraizamento de miniestacas de erva-mate, sendo que a composição de casca de arroz carbonizada + substrato

comercial + vermiculita foi indicada (BRONDANI et al., 2007).

Segundo Libardi (2005), com o uso de diferentes tipos de materiais para a composição do substrato de enraizamento, é possível se obter níveis adequados de retenção de água e aeração quando comparado ao substrato composto por apenas um material, além de aumentar a ramificação e a formação de raízes secundárias. Corroborando com este autor, nos ensaios desse estudo, a composição de substratos apresentou até 95% de enraizamento *ex vitro* e aclimatização de microestacas na saída da câmara úmida. Esses resultados mostram que é possível realizar o enraizamento *ex vitro* e a aclimatização de microestacas de erva-mate com a obtenção de altas porcentagens de enraizamento aos 60 dias, na saída da câmara úmida.

CONCLUSÕES

Microestacas de erva-mate retiradas de microcepas *in vitro* podem ser enraizadas *ex vitro* e

aclimatizadas em câmara úmida na casa de vegetação. Para o enraizamento *ex vitro* e a aclimatização, as microestacas de erva-mate podem ser tratadas com ácido 3-indolibutírico, na dose de até 1250 mg·L⁻¹, e plantadas em substrato composto de proporções iguais de casca de arroz carbonizada + substrato comercial ou casca de arroz carbonizada + areia grossa + substrato comercial.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BRONDANI, G. E.; WENDLING, I.; SANTIN, D.; BENEDETTI, E. L.; ROVEDA, L. F.; ORRUTÉA, A. G. Ambiente de enraizamento e substratos na miniestaquia de erva-mate. **Scientia Agrária**, Curitiba, v.8, n.3, p. 257-267, julho-agosto, 2007.
- DAMIANI, C. R.; PELIZZA, T. R.; SCHUCH, M. W.; RUFATO, A. R. Luminosidade e IBA no enraizamento de microestacas de mirtilheiro dos grupos *rabbiteye* e *southern highbush*. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal - SP, v. 31, n. 3, p. 650-655, setembro, 2009.
- 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, fevereiro, 1995.
- FERMINO JÚNIOR, P. C. P.; RAPOSO, A.; SCHERWINSKI-PEREIRA, J. E. Enraizamento *ex vitro* e aclimatização de plantas micropropagadas de *Tectona grandis*. **Floresta**, Curitiba, PR, v. 41, n. 1, p. 79-86, jan./mar. 2011.
- GOULART, B.; XAVIER, A. Efeito do tempo de armazenamento de miniestacas no enraizamento de clones de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla*. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 32, n. 4, p. 671-677, julho-agosto, 2008.
- HARTMANN, H. T.; KESTER, D. E.; JUNIOR DAVIES, F. T.; GENEVE, R. L. **Plant propagation: principles and practices**. 8th. ed. New Jersey: Englewood, 2011. 900 p.
- HORBACH, M. A.; BISOGNIN, D. A.; KIELSE, P.; QUADROS, K. M.; FICK, T. A. Micropropagação de plântulas de erva-mate obtidas de embriões zigóticos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.41, n.1, p. 113-119, jan. 2011.
- KÄMPF, A. N. **Produção comercial de plantas ornamentais**. Guaíba: Agrolivros, 2005, 256p.
- LIBARDI, P. L. **Dinâmica da água no solo**. Editora da Universidade de São Paulo: São Paulo, 2005, 344p.
- LITZ, R. E. Cultivo de embriones y óvulos. In: ROCA, W. M.; MROGINSKI, L. A.; (Org.). **Cultivo de tejidos en la agricultura: fundamentos y aplicaciones**. Cali, Colombia: CIAT, 1991, p. 295-312.
- MACIEL, A.L R.; SILVA, A. B.; PASQUAL, M. Aclimação de plantas de violeta (*Saintpaulia ionantha* Wendl) obtidas *in vitro*: efeitos do substrato. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.24, n.1, p.9-12, janeiro-março, 2000.
- MACIEL, S. C.; VOLTOLINI, J. A.; PEDROTTI, E. L. Enraizamento *ex vitro* e aclimatização do porta-enxerto de macieira marubakaido micropropagado. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal - SP, v. 24, n. 2, p. 289-292, agosto, 2002.
- MARINHO, C. S.; MILHEM, M. A.; ALTOÉ, J. A.; BARROSO, D. G.; POMME, C. V. Propagação da goiabeira por miniestaquia. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal - SP, v. 31, n. 2, p. 607-611, junho, 2009.
- MENEGUCE, B.; OLIVEIRA, R. B. D; FARIA, R. T. Propagação vegetativa de *Epidendrum ibaguense* Lindl. (Orchidaceae) em substratos alternativos ao xaxim. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 25, n. 2, p. 101-106, junho, 2004.
- PEDROTTI, E. L.; VOLTOLINI, J. A. Enraizamento *ex vitro* e aclimatização do porta-enxerto de macieira M.9. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal-SP, v. 23, n 2, p. 234-239, agosto, 2001.
- POMPELLI, F. M.; GUERRA, M. P. Enraizamento *in vitro* e *ex vitro* de *Dyckia distachya* Hassler, sob diferentes concentrações de AIB. **Floresta e Ambiente**, Rio de Janeiro, v. 12, n. 2, p. 42-49, outubro, 2006.
- SCHUCH, M. W. et al. AIB e substrato na produção de mudas de mirtilo cv. "Climax" através de microestaquia. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 37, n. 5, p. 1446-1449, setembro-outubro, 2007.
- TITON, M.; XAVIER, A.; OTONI, W. C.; REIS, G. G. Efeito do AIB no enraizamento de miniestacas e microestacas de *Eucalyptus grandis* W. Hill ex Maiden. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 27, n. 1, p. 1-7, janeiro-fevereiro, 2003.