

## **INDUÇÃO *IN VITRO* DE RAÍZES ADVENTÍCIAS EM EXPLANTES DE SALIX (*Salix humboldtiana* Willdenow)**

### ***IN VITRO* INDUCTION OF ADVENTICIOUS ROOTS IN SALIX (*Salix humboldtiana* Willdenow) EXPLANTS**

Vespasiano Borges de Paiva Neto; Renato Paiva\*; Deborah E. Furtado

Universidade Federal de Lavras, Dept<sup>o</sup> de Biologia, CP 37, CEP 37200-000, Lavras-MG, Brasil.

#### **ABSTRACT**

With the objective to investigate the *in vitro* behavior of salix (*Salix humboldtiana* Willdenow), leaf and nodal segments were inoculated in WPM medium supplemented with NAA and IBA. In leaf explants, the presence of these growth regulators, isolated or in combination, induced the formation of adventitious roots. Root hairs were only observed when NAA was present. In nodal explants, while the combination of 2,68  $\mu\text{M}$  ANA + 2,46  $\mu\text{M}$  IBA induced bud growth, the other treatments (4,92  $\mu\text{M}$  IBA; 2,68  $\mu\text{M}$  ANA + 4,92  $\mu\text{M}$  IBA; 5,37  $\mu\text{M}$  ANA + 4,92  $\mu\text{M}$  IBA; 5,37  $\mu\text{M}$  ANA) induced the formation of adventitious roots.

Key Words: tissue culture, salix, adventitious roots, root hairs.

#### **INTRODUÇÃO**

Por tratar-se de uma espécie adaptada à áreas sujeitas a inundações periódicas, o salix (*Salix humboldtiana* Willdenow) tem sido considerada uma planta promissora para utilização em programas de revegetação de matas ciliares e áreas de depleção (área situada entre as cotas máxima e mínima de água dos reservatórios). No entanto, alguns fatores importantes refletem as dificuldades encontradas na propagação desta espécie, como a reduzida viabilidade e baixo índice de germinação de suas sementes, e o fato de sua propagação por estaquia requerer estacas de até 30 cm de comprimento (CARVALHO, 1994).

O uso da cultura de tecidos tem possibilitado a propagação total ou parcial de várias espécies lenhosas (ABOUSALIM, 1991; KACKAR et al, 1991; BARBOSA et al, 1992; LINDGREN & McCOWN, 1992; AMIN & RAZZAQUE, 1993; MARIN, JONES & HADLOW, 1993). No entanto, o sucesso do uso desta técnica na propagação de plantas está relacionado principalmente com o uso de reguladores de crescimento, cultivo em condições assépticas e utilização de menor quantidade de material vegetal (PIERIK, 1989). Dentre os reguladores de crescimento, as auxinas sintéticas ácido naftaleno acético (ANA), ácido indol butírico (AIB) e ácido 2,4-

---

\* Correspondência

diclorofenoxiacético (2,4-D) são geralmente utilizadas em baixas concentrações para indução de raízes adventícias (PIERIK, 1989), e em altas concentrações para indução de calos (PIERIK, 1989; PAIVA NETO, PAIVA & GOMES, 1997). A indução de raízes adventícias pode ser considerada como um exemplo de totipotência parcial, enquanto que a indução de calogênese um exemplo de totipotência total (SALISBURY & ROSS, 1992).

O presente trabalho, visou observar o comportamento “in vitro” de explantes de *Salix humboldtiana*, com o objetivo de possibilitar o desenvolvimento de metodologia alternativa para obtenção de mudas desta espécie, via cultura de tecidos.

### MATERIAL E MÉTODOS

Os explantes foram obtidos a partir de folhas e segmentos nodais jovens, de plantas de *Salix humboldtiana* coletadas no município de Ijaci (MG), e mantidas em casa de vegetação com 30% de sombreamento. A inoculação dos explantes foi precedida pelo processo de desinfestação em soluções de álcool etílico (70% v/v) e água sanitária comercial com 2% de cloro ativo (50% v/v), por períodos de 30 segundos e 15 minutos, respectivamente. O excesso das soluções desinfestantes foi retirado lavando os explantes com água destilada e autoclavada. A inoculação dos explantes foliares (0,5 cm<sup>2</sup>) e segmentos nodais (2,5 cm de comprimento) foi realizada em tubos de ensaio (250 x 20 mm) contendo 10 ml de meio WPM (Wood Plant Medium) (LLOYD & McCOWN, 1980), 20 g/l de sacarose, 6,5 g/l de ágar e pH ajustado para 5,8 antes da autoclavagem (121 °C, 15 minutos). O meio foi acrescido, ou não, de diferentes combinações de reguladores de crescimento, resultando nos seguintes tratamentos: T0 = controle; T1 = 2,68 µM ANA + 2,46 µM AIB; T2 = 4,92 µM AIB; T3 = 2,68 µM ANA + 4,92 µM AIB; T4 = 5,37 µM ANA + 4,92 µM AIB; T5 = 5,37 µM ANA. Cada tratamento constou de 4 repetições, sendo cada repetição composta por 5 tubos. Após inoculados, os tubos foram mantidos em sala de crescimento, na ausência de luz, a uma temperatura de 26 ± 2 °C por um período de 30 dias, quando foram analisados percentagem de explantes com raízes adventícias e aspectos relacionados à presença de pêlos ou tricomas radiculares. As médias foram comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 1% de significância.

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos para explantes foliares de *Salix humboldtiana*, indicam a necessidade do uso de reguladores de crescimento para indução da formação de raízes adventícias em explantes foliares, sendo que os tratamentos T<sub>1</sub> e T<sub>2</sub> apresentaram maior porcentagem de explantes enraizados (Figura 1). Estes resultados concordam com NEUNER & BEIDERBECK (1993), os quais afirmam que a formação de raízes adventícias é estimulada por baixas concentrações de auxinas. SALISBURY & ROSS (1992), citam que a propagação a partir de explantes foliares também pode ser promovida pelas auxinas.

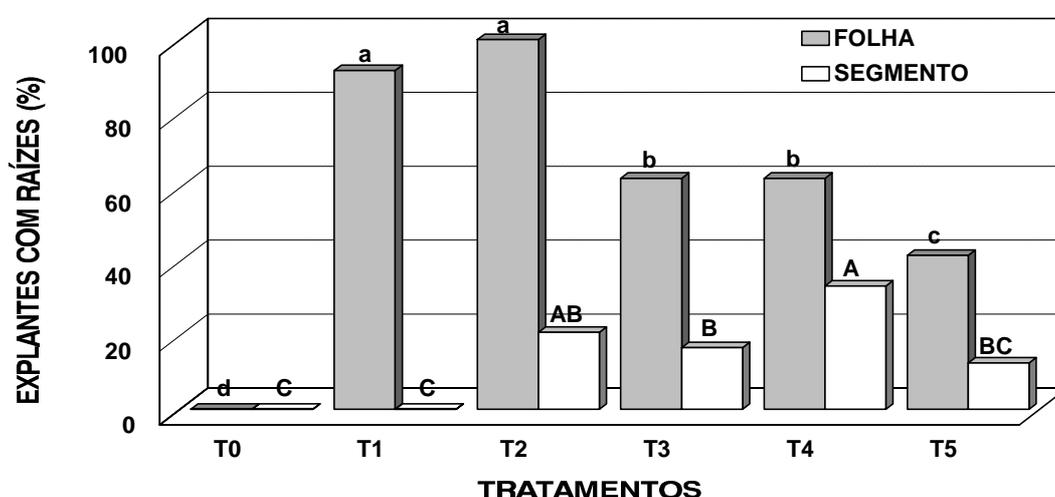


Figura 1 - Percentagem de explantes de *Salix humboldtiana* Willdenow com raízes adventícias, 30 dias após inoculação em meio WPM na ausência (T<sub>0</sub> = controle), ou presença de reguladores de crescimento (T<sub>1</sub> = 2,68 μM ANA + 2,46 μM AIB; T<sub>2</sub> = 4,92 μM AIB; T<sub>3</sub> = 2,68 μM ANA + 4,92 μM AIB; T<sub>4</sub> = 5,37 μM ANA + 4,92 μM AIB; T<sub>5</sub> = 5,37 μM ANA). As letras minúsculas e maiúsculas referem-se às análises estatísticas para explantes foliares e segmentos nodais, respectivamente. (UFLA, Lavras-MG, 1996)

A adição de ANA isolado ou combinado com AIB no meio de cultivo (Tratamentos T<sub>1</sub>, T<sub>3</sub>, T<sub>4</sub> e T<sub>5</sub>) induziu a formação de raízes adventícias e tricomas radiculares (Figura 2). Este efeito não foi observado no tratamento T<sub>2</sub> (isento de ANA), onde foi detectado a presença de raízes desprovidas de tricomas (Figura 2). A presença de tricomas radiculares pode representar um fator extremamente desejável no processo de adaptação / sobrevivência de mudas provenientes de cultura de tecidos, devido sua reconhecida importância nos processos de absorção de água e sais minerais.

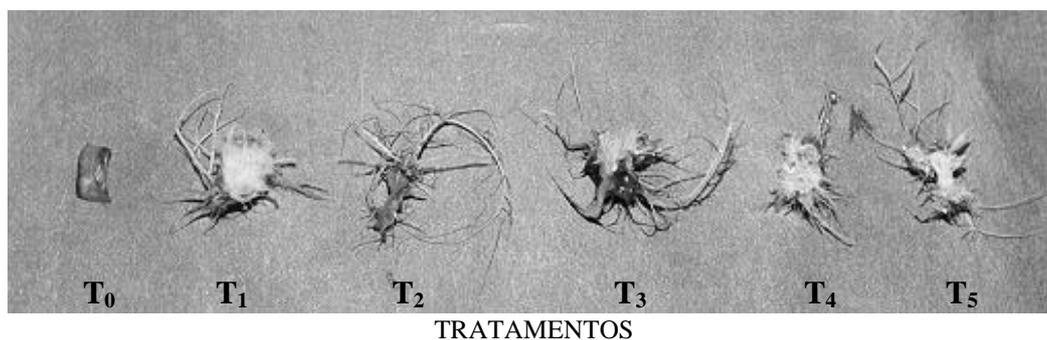


Figura 2 - Aspectos gerais de explantes foliares de *Salix humboldtiana* Willdenow, 30 dias após inoculação em meio WPM na ausência ( $T_0$  = controle), ou presença de reguladores de crescimento ( $T_1$  = 2,68  $\mu$ M ANA + 2,46  $\mu$ M AIB;  $T_2$  = 4,92  $\mu$ M AIB;  $T_3$  = 2,68  $\mu$ M ANA + 4,92  $\mu$ M AIB;  $T_4$  = 5,37  $\mu$ M ANA + 4,92  $\mu$ M AIB;  $T_5$  = 5,37  $\mu$ M ANA). (UFLA, Lavras-MG, 1996)

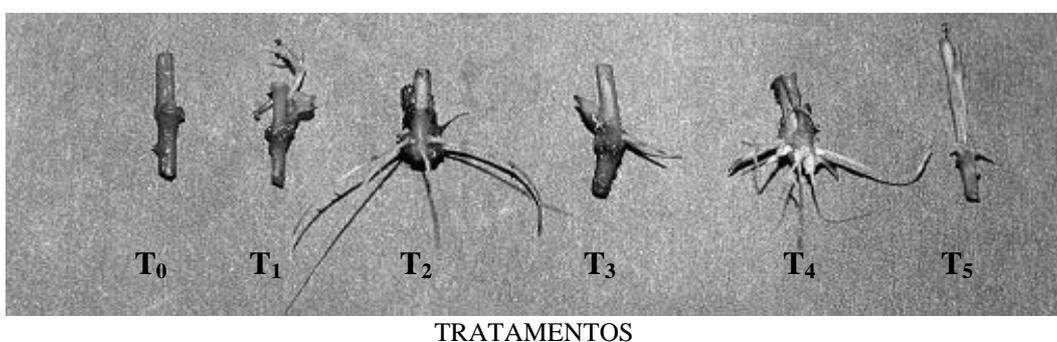


Figura 3 - Aspectos gerais de explantes de segmentos nodais de *Salix humboldtiana* Willdenow, 30 dias após inoculação em meio WPM na ausência ( $T_0$  = controle) ou presença de reguladores de crescimento ( $T_1$  = 2,68  $\mu$ M ANA + 2,46  $\mu$ M AIB;  $T_2$  = 4,92  $\mu$ M AIB;  $T_3$  = 2,68  $\mu$ M ANA + 4,92  $\mu$ M AIB;  $T_4$  = 5,37  $\mu$ M ANA + 4,92  $\mu$ M AIB;  $T_5$  = 5,37  $\mu$ M ANA). (UFLA, Lavras-MG, 1996)

Para explantes oriundos de segmentos nodais jovens, os tratamentos  $T_2$ ,  $T_3$  e  $T_4$  diferiram significativamente do tratamento controle quanto à presença de raízes, sendo que, o tratamento  $T_4$  apresentou 28% dos explantes enraizados (Figura 3), representando a maior percentagem dentre os tratamentos utilizados para segmentos nodais. Foram detectadas indução do crescimento de gemas e inibição de rizogênese nos explantes de segmento nodal mantidos na presença da combinação de 2,68  $\mu$ M de ANA com 2,46  $\mu$ M AIB (Tratamento  $T_1$ ) (Figura 3). No entanto, a adição desses dois reguladores em maiores concentrações (Tratamentos  $T_2$ ,  $T_3$  e  $T_4$ ), proporcionou os melhores tratamentos para indução de raízes em explantes de segmentos nodais. Não foi detectada presença de tricomas em raízes adventícias formadas a partir de segmento nodal de *Salix humboldtiana*.

Os resultados obtidos para *Salix humboldtiana* Willdenow diferem daqueles obtidos para *Salix caprea* (L.), quando o uso de ANA inibiu a formação de raízes adventícias em segmentos nodais (NEUNER & BEIDERBECK, 1993).

Com relação ao aspecto fitossanitário do material inoculado, nenhuma contaminação foi detectada nos explantes foliares, o que implica na eficiência do processo de desinfestação desses tecidos. No entanto, a contaminação dos explantes de segmentos nodais alcançou índices de até 60%. Possivelmente, esse elevado índice de contaminação dos explantes de segmentos nodais pode estar relacionado com a presença de contaminantes internos. O passo mais crítico para propagação de *Salix caprea* (L.) é a desinfestação superficial dos explantes, uma vez que, após rigorosos tratamentos desinfestantes, bactérias e mais frequentemente fungos, são capazes de sobreviver nos espaços existentes entre o ramo caulinar e a gema (NEUNER & BEIDERBECK, 1993).

A propagação “in vitro” de espécies vegetais envolve a indução da formação de raízes e da parte aérea. Os resultados obtidos com explantes foliares de *Salix humboldtiana*, tais como o sucesso no processo de desinfestação e indução de rizogênese, indicam a possibilidade de propagação “in vitro” desta espécie.

## CONCLUSÕES

O uso da auxina ácido naftaleno acético (ANA) induziu a formação de raízes adventícias com tricomas em explantes foliares.

A adição de 2,68  $\mu\text{M}$  ANA e 2,46  $\mu\text{M}$  AIB no meio de cultivo, induziu o crescimento de gemas em explantes de segmentos nodais, e inibiu o crescimento de raízes adventícias. O aumento na concentração desses dois reguladores, induziu rizogênese e inibiu o crescimento de gemas.

O elevado índice de contaminação presente nos explantes caulinares, limita sua utilização na propagação “in vitro” desta espécie.

O uso de explantes foliares elimina o problema de contaminação na propagação de *Salix humboldtiana*.

O cultivo “in vitro” de explantes foliares de *Salix humboldtiana* mostrou-se uma alternativa potencial para propagação desta espécie.

**REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

- ABOUSALIM, A. "In vitro" micropropagation of pistachio (*Pistachio vera* L. cv. Mateur). Effects of culture medium. **Actes de 1<sup>o</sup> Institute Agronomique et Veterinaire Hassan II**. v. 11, n.3, p.23-26, 1991. **(Resumo)**
- AMIN, M.N.; RAZZAQUE, M.A. Regeneration of *Averroa carambola* plants "in vitro" from callus cultures of seedlings plants. **Journal of Horticultural Science**. v.68, n.4, p.551-556, 1993.
- BARBOSA, W.; DALL'ORTO, F.A.C.; OJIMA, M.; MARTINS, F.P.; BOVI, V.; CASTRO, J.L. Produção de mudas de figueira 'Roxo de Valinhos' através da cultura "in vitro". **Agronomico**. v.4, n.1, p.6-10, 1992.
- CARVALHO, P.E.R. **Espécies Florestais Brasileiras: recomendações silviculturais, potencialidades e uso da madeira**. Curitiba: EMBRAPA/CNPQ/SPI, 1994, 639p.
- KACKAR, N.L.; SOLANKI, K.R.; MANJIT SINGH; VYAS, S.C.; SINGH, C. Micropropagation of *Prosopis cineraria*. **Indian Journal of Experimental Biology**. v.29, n.1, p.65-67, 1991.
- LINDGREN, D.T.; McCOWN, B. Multiplication of four Penstemon species "in vitro". **HortScience**. v.27, n.2, p.182, 1992.
- LLOYD, G.; McCOWN, B. Commercially-feasible micropropagation of mountain laure, *Kalmia latifolia*, by use of shoot-tip culture. **International Plant Propagators Society Proceedings**. v.30, p.421-427, 1980.
- MARIN, J.A.; JONES, O.P.; HADLOW, W.C.C. Micropropagation of columnar apple trees. **Journal of Horticultural Science**. v.68, n.2, p.289-297, 1993.
- NEUNER, H.; BEIDERBECK, R. *In vitro* propagation of *Salix caprea* L. by single node explants. **Silvae Genetica**, v.42, n.6, 1993.
- PAIVA NETO, V.B. de; PAIVA, R.; GOMES, G.A.C.; PÓVOA, J.S.R. Comportamento "in vitro" de segmento nodal de moreira (*Chlorophora tinctoria* (L.) Gaudichaud). **Arquivos de Biologia e Tecnologia**. v.40, n.1, p.135-141, mar., 1997.
- PIERIK, R.L.M. **In vitro Culture of Higher Plants**. Dordrecht: Martins Nijhoff Publishers. 1989, 344p.
- SALISBURY, F.B.; ROSS, C.W. **Plant Physiology**. Belmont, California: Wadsworth Publishing Company, 1992. 682p.

Received: 11 July 1997;  
Revised: 30 October 1997;  
Accepted: 08 May 1998.