

## COMUNICAÇÃO CIENTÍFICA

## ENRAIZAMENTO *ex vitro* E ACLIMATIZAÇÃO DE PLÂNTULAS MICROPROPAGADAS DE AMOREIRA-PRETA ‘XAVANTE’<sup>1</sup>

TÂNIA REGINA PELIZZA<sup>2</sup>, JANAÍNA MUNIZ<sup>3</sup>, PAOLA CAMARGO<sup>4</sup>,  
AIKE ANNELIESE KRETZSCHMAR<sup>5</sup>, LEO RUFATO<sup>5</sup>

**RESUMO** - O objetivo deste trabalho foi avaliar o enraizamento *ex vitro* e a aclimatização de plântulas de amoreira-preta ‘Xavante’. Este trabalho foi conduzido no Centro de Ciências Agroveterinárias (CAV/UEDESC), em Lages (SC). Na etapa de enraizamento *ex vitro*, maior número de raízes foi obtido com 320 mg.L<sup>-1</sup> de AIB. Observou-se resposta linear crescente em função das doses de AIB para comprimento médio de raízes e massa fresca total das plântulas. Na fase de aclimatização, as plântulas, após seis meses, apresentaram maior massa fresca total com a composição de substrato orgânico Tecnomax® + vermiculita de granulometria média e substrato orgânico Tecnomax®. Assim, para o enraizamento *ex vitro* de amoreira-preta ‘Xavante’, recomenda-se a imersão das plântulas em AIB com concentração de 320 mg.L<sup>-1</sup> por 5 minutos e indica-se o uso do substrato orgânico Tecnomax® para a etapa de aclimatização.

**Termos para indexação:** *Rubus* sp., ácido indolbutírico (AIB), micropropagação, pequenas frutas, substrato.

### *Ex vitro* ROOTING AND ACCLIMATIZATION MICROPROPAGATED SEEDLINGS OF BLACKBERRY ‘XAVANTE’

**ABSTRACT** - The objective of this study was to evaluate the *ex vitro* rooting and acclimatization of blackberry ‘Xavante’. This study was conducted at the Agro Veterinary Science Center (CAV / UEDESC), in Lages (SC). In the stage of *ex vitro* rooting, higher number of roots was obtained with 320 mg.L<sup>-1</sup> of IBA. There was positive linear correlation according to the IBA for average length of roots and total fresh weight of seedlings. In the acclimatization stage the seedlings after six months, had a higher total fresh weight with the composition of the organic substrate Tecnomax ®) + vermiculite and organic substrate Tecnomax ®. Thus, for *ex vitro* rooting of blackberry ‘Xavante’ it is recommended immersion of seedlings with IBA concentration of 320 mg L<sup>-1</sup> for 5 minutes and indicates the use of the organic substrate Tecnomax ® to step acclimatization.

**Index terms:** *Rubus* sp., indole butyric acid (IBA), micropropagation, small fruits, substrate.

Dentre as diversas etapas realizadas no processo de micropropagação de plantas, uma delas é o enraizamento. O uso do enraizamento *ex vitro* de plântulas apresenta-se como alternativa, possibilitando uma redução nos custos de obtenção de uma muda micropropagada, pois de acordo com Pedrotti e Voltolini (2001) esta técnica possibilita a redução em 50% nos custos finais de produção de uma nova planta, comparativamente ao uso do enraizamento *in vitro*.

Dentre os fitorreguladores possíveis de serem utilizados no cultivo *in vitro* ou *ex vitro* de plântulas, estão as auxinas, responsáveis pela formação de

raízes. Sua ação sobre o sistema radicular dá-se em função de que estas estimulam a síntese de etileno, o que, por sua vez, favorece a emissão de raízes (NORBERTO et al., 2001).

Condições como baixa luminosidade e alta umidade relativa nos frascos de cultura *in vitro* dificultam o estabelecimento de condições autotróficas normais para algumas espécies, quando transferidas para as condições *ex vitro*. Assim, para haver maior sobrevivência das plântulas no estágio de aclimatização esta etapa deve ser conduzida de forma gradativa, sendo ainda necessário que, para a emissão de novas raízes, utilize-se de substratos porosos, com condi-

<sup>1</sup>(Trabalho 181-12). Recebido em: 06-06-2012. Aceito para publicação em: 18-10-2012.

<sup>2</sup>Eng. Agr., Pós-doutoranda, Bolsista PRODOC/CAPES, Centro de Ciências Agroveterinárias (CAV/UEDESC), Avenida Luiz de Camões 2090, Bairro Conta Dinheiro, 88520.000 – Lages (SC). E-mail: trp\_mestagro@hotmail.com

<sup>3</sup>Economista, Doutoranda em Produção Vegetal, Centro de Ciências Agroveterinárias (CAV/UEDESC). E-mail: janainamuniz@gmail.com

<sup>4</sup>Estudante de graduação em Agronomia, Bolsista de Trabalho, Centro de Ciências Agroveterinárias (CAV/UEDESC). E-mail: E-mail: paolascmrg@gmail.com

<sup>5</sup>Prof. Adjunto de Fruticultura, Departamento de Agronomia, Centro de Ciências Agroveterinárias (CAV/UEDESC). E-mail: leoruffato@yahoo.com.br; a2aak@cav.udesc.br

ções físicas e nutricionais adequadas (PEDROTTI; VOLTOLINI, 2001).

Diante do exposto, objetivou-se com este trabalho promover o enraizamento *ex vitro* e a aclimatização de plântulas micropropagadas de amoreira-preta (*Rubus* sp.) 'Xavante' com o uso de diferentes concentrações de ácido indolbutírico (AIB).

O experimento foi conduzido no Laboratório de Micropropagação de Plantas, estufa plástica e casa de vegetação no Centro de Ciências Agroveterinárias, em Lages (SC), no período de fevereiro a setembro de 2011.

Em laboratório, explantes de amoreira-preta 'Xavante', oriundos do quinto subcultivo, multiplicados em meio nutritivo MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962), suplementado com 0,8 mg.L<sup>-1</sup> de Benzilaminopurina (BAP), foram excisados em câmara de fluxo laminar, a fim de originar plântulas com quatro gemas e quatro folhas, sem raízes e com 4 cm de comprimento.

As plântulas tiveram suas bases imersas em diferentes concentrações de ácido indolbutírico (AIB), acondicionado em placas de petri, constituindo quatro tratamentos, sendo: T1: 0 mg.L<sup>-1</sup> (água destilada); T2: 100 mg.L<sup>-1</sup>; T3: 300 mg.L<sup>-1</sup>; T4: 600 mg.L<sup>-1</sup> de AIB, por 5 minutos. Em seguida, as plântulas foram acondicionadas em bandejas de tereftalato de polietileno (PET) com substrato comercial orgânico Tecnomax® e transferidas para sala de crescimento, com temperatura de 25°C, fotoperíodo de 16 horas de luz e incidência luminosa de 30 µmol.m<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup> O substrato utilizado foi esterilizado em autoclave a 120°C e 1,5 atm de pressão por 30 minutos.

Utilizou-se delineamento experimental inteiramente casualizado, com 4 repetições de 8 plântulas por repetição. Aos 75 dias, avaliaram-se: a média das brotações sobreviventes (%), formação de calo (%), comprimento e número de raízes (cm), comprimento das brotações (cm) e massa fresca total das brotações (g).

Para a condução da fase de aclimatização, as plântulas enraizadas foram transferidas para bandejas de polipropileno, cobertas individualmente com um estufim em polietileno de baixa densidade (PEBD) e sobre ele cobertura com sombrite de 30% de sombreamento, sendo, posteriormente, acondicionadas em estufa plástica, modelo túnel alto. Após 75 dias, as plântulas foram transferidas para casa de vegetação de vidro. As plântulas foram irrigadas de acordo com a necessidade e, quinzenalmente, receberam como fonte de nutrição o meio ½ MS líquido.

Testaram-se, na etapa de aclimatização, três substratos, sendo: T1: substrato orgânico Tecnomax® + vermiculita de granulometria média (1:1 – v/v);

T2: substrato orgânico Tecnomax®, e T3: areia fina + substrato orgânico Tecnomax® (1:1 – v/v). Após 75 dias, avaliaram-se: altura das plântulas, número de folhas, número de brotações, comprimento das brotações, percentagem de plântulas sobreviventes e biomassa fresca das plântulas. Utilizou-se delineamento experimental inteiramente casualizado, contendo quatro repetições de cinco plântulas por repetição.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância, e as médias, quando significativas, comparadas entre si pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ) através do programa Winstat. Para o fator quantitativo, quando significativo, efetuou-se regressão polinomial.

Para as variáveis altura média das brotações e percentagem de plântulas sobreviventes, não houve efeito significativo. Todas as plântulas sobreviventes emitiram raízes, e foi nula a formação de calo na base das plântulas.

Houve uma resposta quadrática para a média do número de raízes onde o ponto de máxima eficiência foi obtido com o uso de 320 mg.L<sup>-1</sup> de AIB e obtiveram-se 6,1 raízes por plântula (Figura 1A). Monette (1986) observou menor número de raízes por plântula quando não foi utilizado AIB para o enraizamento de brotações de kiwi (*Actinidia chinensis*). O substrato utilizado para o estaqueamento das plântulas e o genótipo são fatores relevantes para definir o número de raízes, conforme verificaram Pelizza et al. (2012) no enraizamento de mirtilheiro. Maciel et al. (2002) também verificaram a influência do substrato e as condições ambientais na resposta ao número de raízes formadas no enraizamento de porta-enxerto de macieira *Marubakaido*.

Para o comprimento médio de raízes (Figura 1B), observa-se uma resposta linear crescente em função do aumento das doses de AIB utilizadas. De acordo com Pelizza et al. (2012), o comprimento médio de raízes de plântulas de mirtilheiro 'Woodard' e 'Georgiagem' é maior quando se utiliza vermiculita expandida de granulometria média como substrato, com a imersão das brotações por 10 minutos em 250 mg.L<sup>-1</sup> de AIB. Já, para Monette (1986), a ausência de AIB permite obter maior comprimento médio de raízes de *Actinidia chinensis*.

Para massa fresca total (Figura 1C), observa-se uma resposta linear crescente em função das doses de AIB utilizadas. Assim, com o aumento das doses até 600 mg.L<sup>-1</sup> de AIB, há um aumento na massa fresca total das plântulas. Damiani e Schuch (2009b) observaram maior matéria fresca de mirtilheiro por explante quando enraizados *in vitro*, em sala de crescimento, se comparado aos enraizados em casa de vegetação. No entanto, atribuem também haver

influência da massa de calos formada no peso final dos explantes.

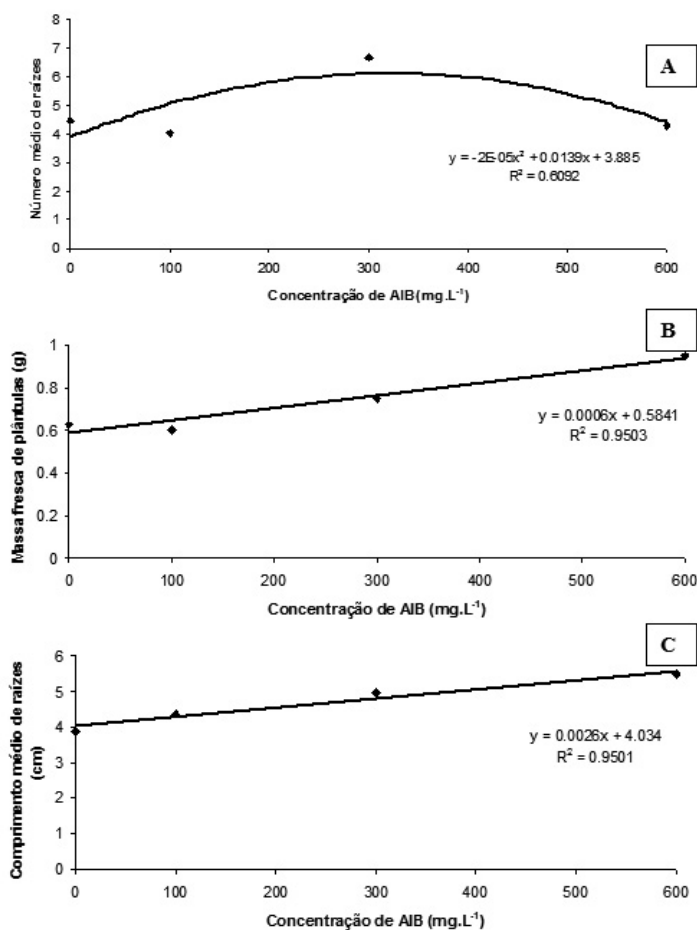
Não houve diferenças significativas quanto ao uso dos diferentes substratos utilizados para as variáveis: altura de plântulas, número de folhas, percentagem de sobrevivência, número de brotações e comprimento das brotações. Houve efeito apenas para a massa fresca das plântulas (Tabela 1).

A massa fresca total das plântulas de amoreira-preta 'Xavante' micropropagada foi maior quando utilizado o substrato orgânico Tecnomax® + vermiculita de granulometria média, comparativamente ao uso da areia fina + substrato orgânico Tecnomax®. O substrato comercial Plantmax® foi largamente utilizado para a propagação de espécies frutíferas e olerícolas, no entanto sua comercialização foi descontinuada. Outros substratos têm ocupado espaço no mercado, e o utilizado neste trabalho (Tecnomax®) mostrou-se adequado. Segundo o fabricante, este substrato é constituído por casca de pínus, vermiculita, turfa e carvão vegetal.

Villa et al. (2006), em experimento onde testaram diferentes substratos durante a aclimatização de amoreira-preta 'Ebano', verificaram que a massa fresca da parte aérea e do sistema radicular das mesmas foi maior quando utilizaram Plantmax® seguido pela mistura de compostos Plantmax® + vermiculita + casca de arroz carbonizada.

Assim, é importante ater-se quanto à escolha do substrato, ou mesmo, da mistura de materiais que irão compor o substrato, pois sua seleção é de fundamental importância no crescimento e desenvolvimento das plantas micropropagadas, podendo influenciar diretamente no sucesso da aclimatização (COUTO et al., 2003).

Assim, recomenda-se, para o enraizamento *ex vitro* de amoreira-preta (*Rubus* spp.) 'Xavante', a imersão dos explantes em AIB com concentração de 320 mg.L<sup>-1</sup> por 5 minutos, e para a aclimatização de amoreira-preta (*Rubus* sp.) 'Xavante' indica-se o uso do substrato orgânico (Tecnomax®).



**FIGURA 1** - Número (A) e comprimento médio de raízes (gráfico B) e massa fresca total (gráfico C) de plântulas de amoreira-preta 'Xavante' micropropagadas com o uso de diferentes concentrações de AIB. CAV/UEDESC, Lages-SC, 2011.

**TABELA 1** - Altura de plântulas, número de folhas, percentagem de sobrevivência, número de brotações, comprimento das brotações e massa fresca de plântulas de amoreira-preta 'Xavante' micropropagadas e cultivadas em diferentes substratos. CAV/UEDESC, Lages-SC, 2011.

Substratos	Altura de plântulas (cm)	Número de folhas	Sobrevivência (%)	Número de brotações	Comprimento brotações (cm)	Massa fresca (g)
Substrato orgânico + vermiculita	2,55 <sup>ns</sup>	6,88 <sup>ns</sup>	100 <sup>ns</sup>	2,15 <sup>ns</sup>	1,50 <sup>ns</sup>	5,09 a
Substrato orgânico	2,64	6,54	100	2,00	1,57	4,05 ab
Areia fina + substrato orgânico	2,76	6,67	95	2,00	1,63	3,49 b
CV (%)	17	6	6	2	13	15

\*Médias seguidas pela mesma letra, na vertical, não apresentam diferenças estatísticas significativas, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade de erro.

ns=não significativo

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à CAPES, ao CNPq e à FAPESC, pelo aporte de recursos financeiros ao projeto.

## REFERÊNCIAS

COUTO, M.; WAGNER JÚNIOR, A.; QUEZADA, A. C. Efeito de diferentes substratos durante a aclimatização de plantas micropropagadas do porta-enxerto mirabolano 29C (*Prunus cerasifera* EHRH.) em casa de vegetação. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 9, n. 2, p. 125-128, 2003.

DAMIANI, C. R.; SCHUCH, M. W. Diferentes substratos e ambientes no enraizamento *in vitro* de mirtilo. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.39, n.2, p. 563-566, 2009.

MACIEL, S. da C.; VOLTOLINI, J. A.; PEDROTTI, E. L. Enraizamento *ex vitro* e aclimação do porta-enxerto de macieira Marubakaido micropropagado. **Revista Brasileira Fruticultura**, Jaboticabal, v. 24, n. 2, p. 289-292, 2002.

MONETTE, P.L. Micropropagation of Kiwifruit using non axenic shoot tips. **Plant Cell Tissue and Organ Culture**, Dordrecht, v. 6, p. 73-82, 1986.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. Revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 15, p. 473-497, 1962.

NORBERTO, P. M.; CHALFUN, N. N. J.; PASQUAL, M.; VEIGA, R. D.; PEREIRA, G. E.; MOTA, J. H. Efeito da época de estaquia e do AIB no enraizamento de estacas de figueira (*Ficus carica* L.). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 25, n. 3, p.533-541, 2001.

PEDROTTI, E. L.; VOLTOLINI, J. A. Enraizamento *ex vitro* e aclimatização do porta-enxerto de macieira M.9. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 23, n. 2, p. 234-239, 2001.

PELIZZA, T. R., NASCIMENTO, D. C., AFFONSO, L. B., CAMARGO, S. S., CARRA, B., SCHUCH, M. W. Enraizamento de plântulas de mirtilo em condição *ex vitro* em diferentes substratos. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 34, n. 1, p. 255-261, 2012.

VILLA, F.; PASQUAL, M.; ARAÚJO, A. G. de; PIO, L. A. S. Micropropagação da amoreira-preta (*Rubus* spp.) e efeito de substratos na aclimatização de plântulas. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 28, n. 1, p. 47-53, 2006.