

EFEITOS DA CONCENTRAÇÃO E TEMPO DE INCUBAÇÃO EM ÁCIDO INDOLBUTÍRICO SOBRE O ENRAIZAMENTO E POSTERIOR DESENVOLVIMENTO DE BROTOS DE *PYRUS CALLERYANA* L. OBTIDOS *IN VITRO*¹

MOACIR PASQUAL² e PATRÍCIA ANDRADE LOPES³

RESUMO - Objetivou-se, com o presente trabalho, determinar um período de incubação em determinada concentração de ácido indolbutírico que possibilitasse um satisfatório enraizamento e posterior desenvolvimento de brotos de *Pyrus calleryana* L. obtidos *in vitro*. Utilizou-se ácido indolbutírico (AIB) nas concentrações de 10, 30 e 50 mg/litro combinadas com 6, 12 e 48 horas de incubação. Após o período estabelecido de incubação, 50% dos explantes foram transferidos para meio "MS" (1/2 da concentração), mantidos em condições normais *in vitro* e avaliados aos 15 dias de incubação através da percentagem de enraizamento e desenvolvimento das plantas. O restante foi transferido para substrato (terra e vermiculita) e mantido em casa de vegetação (condições de aclimação), e avaliado aos 15 e 45 dias, pelo desenvolvimento da planta e número de folhas. Os explantes enraizados *in vitro* alcançaram menor desenvolvimento que os enraizados em substrato. Maior número de folhas foi obtido com 30 mg/litro de AIB durante 25,3 horas. Aos 45 dias, plantas vigorosas são obtidas nas concentrações de 30 e 50 mg/litro associadas aos tempos de 25 e 20 horas, respectivamente.

Termos para indexação: cultura de tecidos, enraizamento, explantes.

EFFECTS OF INDOLEBUTYRIC ACID CONCENTRATION AND TIME OF INCUBATION ON ROOTING AND GROWTH OF *PYRUS CALLERYANA* L. SHOOTS OBTAINED *IN VITRO*

ABSTRACT - The purpose of the present work was to determine a incubation time in a concentration of indolebutyric acid to make possible good rooting and growth of *Pyrus calleryana* shoots obtained *in vitro*. Indolebutyric acid was used at 10, 20 and 30 mg/l in incubation by 6, 12, 24 and 48 hours. After incubation, 50% of explants were transferred to "MS" medium (1/2 strength) under *in vitro* conditions and evaluated at 15 days of incubation by means of rooting percentage and plant growth; the other half was removed to substract (soil and vermiculit) and kept in green house (acclimation conditions). The evaluation was made at 15 and 45 days by the plant development and number of leaves. The explants rooted *in vitro* showed smaller growth. Higher number of leaves was obtained with IBA 30 mg/liter by 24 and 36 hours, and higher strength of root with IBA 30 mg/liter by 25,3 hours. After 45 days, vigorous plants were obtained in 30 and 50 mg/liter of IBA by 25 and 20 hours, respectively.

Index terms: tissues culture, explants, rooting.

INTRODUÇÃO

Um dos principais entraves à expansão da cultura da pereira no Brasil é a obtenção de porta-enxertos. A espécie *Pyrus calleryana* L., além de mostrar bom comportamento nas condições brasileiras de clima, tem mostrado afi-

nidade com as principais cultivares produtoras de pereira, constituindo importante porta-enxerto. Sua multiplicação é feita pela técnica da amontoa-de-cepa, mostrando um rendimento baixo.

A técnica de micropropagação *in vitro* tem sido utilizada com sucesso em várias espécies economicamente importantes.

Os reguladores de crescimento desencadeiam o processo de enraizamento, não sendo necessários durante o desenvolvimento do sistema radicular. Desta forma, pode-se substituir a fase de enraizamento *in vitro* por uma

¹ Aceito para publicação em 2 de janeiro de 1991

² Eng.-Agr., Dr., Prof.-Adj., Esc. Sup. de Agric. de Lavras, Caixa Postal 37, CEP 37200 Lavras, MG. Bolsista do CNPq.

³ Em curso de Agron., ESAL. Bolsista do CNPq.

simples incubação dos brotos por determinado tempo, em solução com reguladores, e, imediatamente, transferi-los para a fase de aclimação.

Uma técnica alternativa é citada por Hussey (1980): consiste na embebição de gemas em meio enraizante; quando aparecem as raízes, a planta é transferida para outro composto. De acordo com Cailloux (1984), a tendência é enraizar as plantas diretamente no substrato esterilizado sob nebulização. Alguns autores, a exemplo de James & Thurbon (1979), Snir & Erez (1980) e Zimmerman & Fordhan (1985), recomendam a transferência de estacas de um meio com auxina para um meio sem reguladores de crescimento, após intervalo de quatro dias a quatro semanas, para melhorar o alongamento das raízes após a iniciação radicular.

A substância mais empregada no grupo das auxinas para induzir o enraizamento é o AIB, em concentrações variando entre 1,0 e 3,0 mg/litro (Walkey 1972, Snir & Erez 1980 e Sriskandarajah & Mullins 1981).

A percentagem de enraizamento da videira cultivar Trebbiano Toscano foi aumentada de 88% para 95% quando estacas foram imersas em solução de IBA-5.000 a 10.000 ppm por 24 horas (Magherini & Sani 1985).

Efeitos positivos sobre o enraizamento dos porta-enxertos de videira Kobber 5-BB e 1103 foram registrados por Moretti & Borgo (1985) com adição de AIB-120 x 10⁻⁶M.

As melhores taxas de enraizamento (83 a 94%) em experimentos de Tewari (1986), e os maiores números e comprimento de raízes para as cultivares de videira Grosscolman e Gulabi foram obtidas com AIB 50 mg/litro.

Utilizando o porta-enxerto M-7, Werner & Boe (1980) verificaram que a melhor concentração de AIB foi a de 2,0 mg/litro, sendo que aos 18 dias após a aplicação do AIB, 88% das brotações enraizaram, e aos 28 dias o enraizamento foi total.

Snir & Erez (1980) obtiveram altas taxas de enraizamento (100%) para os porta-enxertos MM 104, MM 106 e MM 109 utilizando 1,0 mg/litro de AIB no meio de cultivo. Também James & Thurbon (1979) empregando

AIB - 1,0 mg/litro, obtiveram 69 a 80% de enraizamento para as cvs. de macieira Redspur e Goldspur. Sriskandarajah & Mullins (1981) induziram a formação de raízes na cv. Granny Smith em meio contendo 10 µM de AIB, e obteve 78-82% de enraizamento.

Objetivou-se, com o presente trabalho, determinar um período de incubação, em uma concentração de AIB, que possibilitasse um enraizamento satisfatório e posterior desenvolvimento dos brotos enraizados do porta-enxerto de pereira *Pyrus calleryana* L.

MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi desenvolvido no laboratório de cultura de tecidos da Escola Superior de Agricultura de Lavras, em Lavras, MG.

Segmentos de brotos do porta-enxerto de pereira *Pyrus calleryana* L., apresentando um a dois pares de folhas, mantidos *in vitro*, foram excisados em condições assépticas de câmara de fluxo laminar e incubados em meio MS (Murashige & Skoog 1962). Os tratamentos consistiram de AIB nas concentrações de 10, 20 e 50 mg/litro combinadas com vários tempos de incubação: 6, 12, 24 e 48 horas, totalizando doze tratamentos. O AIB foi solubilizado com algumas gotas de NaOH. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com três repetições e cinco plantas por parcela.

Após o período de incubação, 50% dos explantes receberam inoculação em tubos de ensaio com 15 ml de meio MS (1/2 da concentração). As culturas foram mantidas em condições controladas de 16 horas diárias de luz, intensidade luminosa 3.000 lux e temperatura de 27±1°C. As avaliações foram efetuadas 15 dias após a inoculação, considerando-se a percentagem de enraizamento e o desenvolvimento das plantas. Após a avaliação, as plantas enraizadas foram removidas para a fase de aclimação em casa de vegetação.

Os outros 50% de explantes foram transferidos para substrato esterilizado, constituído de terra e vermiculita, na proporção de 1:1, em bandejas de isopor, e mantidos em casa de vegetação, foram submetidos a nebulização intermitente, com umidade relativa em torno de 70% e temperatura ambiente constante de 17 a 18°C. As avaliações foram realizadas aos 15 dias após a inoculação, registrando-se a percentagem de enraizamento e o desenvolvimento

da planta, e aos 45 dias, registrando-se o número de folhas e o desenvolvimento das plantas.

O desenvolvimento das plantas foi avaliado pelas notas:

0 = plantas secas;

5 = planta com mais de 50% de arroxamento nas folhas, mas com caule verde;

10 = plantas com menos de 50% de arroxamento nas folhas.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A percentagem de enraizamento foi máxima para todas as concentrações de IBA e em todos os tempos de incubação, razão pela qual não são apresentados dados sobre este parâmetro.

Estes resultados corroboram afirmação de diversos autores (Walkey 1972, Snir & Erez 1980 e Sriskandarajah & Mullins 1981) de que o AIB é a substância mais empregada para induzir o enraizamento. Estão de acordo também com a observação de Werner & Boe (1980), de que após 28 dias de cultivo em meio acrescido de AIB 2,0 mg/litro, o porta-enxerto de macieira M-7 registrou enraizamento total. Os resultados são similares aos obtidos por Snir & Erez (1980) para os porta-enxertos de macieira MM-104, MM-106 e MM-109 em presença de AIB 1,0 mg/litro.

Observe-se, na Fig. 1, que no menor tempo de incubação (seis horas), o desenvolvimento apresentado pelas plantas enraizadas *in vitro* foi diretamente proporcional à concentração utilizada. Houve significância estatística para a interação "concentração de AIB x tempo de incubação", sendo que a análise de regressão de tempo dentro de AIB 10 mg/litro mostrou di-

ferenças altamente significativas, e significativas para tempo dentro de AIB 30 mg/litro, cujas equações de efeito quadrático são mostradas na Fig. 1. Com doze horas houve um comportamento similar ao de seis horas, porém a partir de 24 horas os dados foram muito próximos, para todas as concentrações de AIB.

Estes resultados demonstram que o processo de enraizamento é induzido pelo AIB e se completa em poucas horas de incubação em meio contendo este regulador de crescimento. Para a concentração de 10 mg/litro, o maior desenvolvimento das plantas foi registrado com incubação por aproximadamente 24 horas, e para 30 mg/litro, com 31 horas. O AIB a 50 mg/litro promove uma redução no desenvolvimento das plantas, com o aumento do tempo de incubação, apesar de a análise estatística não ter registrado diferenças significativas.

Diferenças significativas entre as diversas concentrações foram observadas apenas para o tempo de doze horas de incubação, e o melhor desenvolvimento das plantas foi registrado com 38,5 mg/litro de AIB, cuja equação quadrática pode ser vista na Fig. 2.

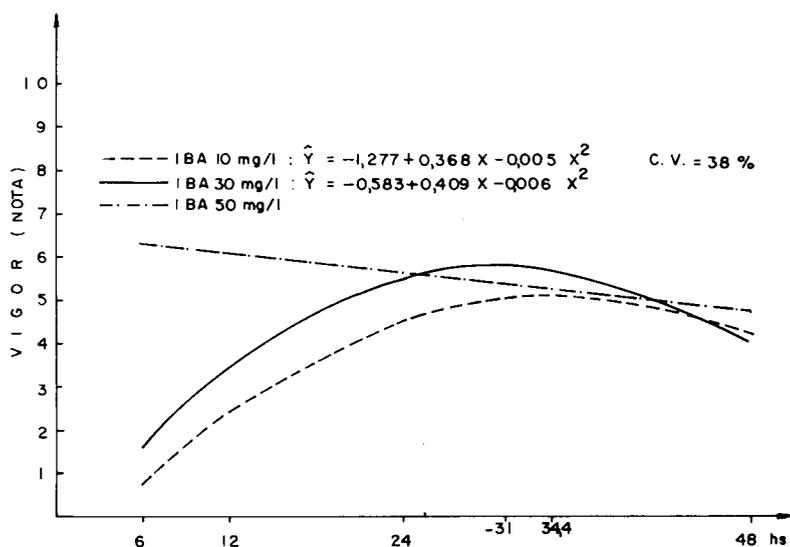


FIG. 1. Desenvolvimento de plantas enraizadas *in vitro* em função do tempo de incubação nas diferentes concentrações de AIB.

O vigor das plantas enraizadas em substrato, fora dos tubos de ensaio, 15 dias após o período de incubação, mostrou diferenças significativas para a interação "concentração de AIB x tempo de incubação". A análise de regressão mostrou diferenças significativas para tempo de incubação dentro de cada uma das concentrações de AIB, cujas equações estão representadas na Fig. 3. Melhor desenvolvimento das plantas foi observado na concentração de 30 mg/litro com 31,5 horas e 50 mg/litro com 27,2 horas de incubação.

A explicação dos melhores resultados registrados em concentrações mais elevadas se devem ao fato de que, embora a necessidade para o enraizamento seja de altas concentrações de AIB, seus efeitos prejudiciais não se fazem sentir após induzido o processo de enraizamento, uma vez que as plantas são transferidas para substrato sem a presença de AIB.

Estas observações concordam com Hussey (1980), que sugere uma técnica alternativa para o enraizamento de brotos, que consiste em transferir a planta para outro composto logo após o surgimento das raízes. Cailloux (1984) também cita a tendência de se enraizarem as plantas diretamente no substrato sob nebulização. Os resultados obti-

dos confirmam a recomendação de vários autores (James & Thurbon 1979, Snir & Erez 1980 e Zimmerman & Fordhan 1985) de que se deve transferir as estacas de um meio com auxina para um meio sem reguladores de crescimento, após um intervalo de quatro dias a quatro semanas.

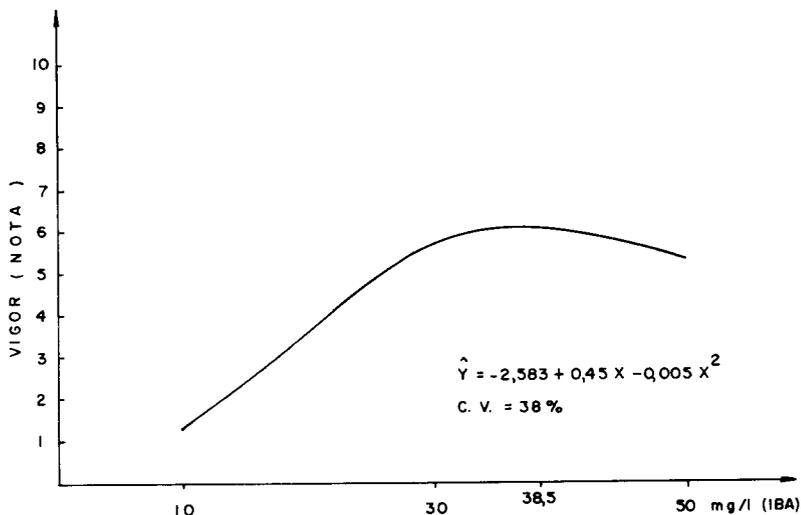


FIG. 2. Desenvolvimento de plantas enraizadas *in vitro* em função da concentração de AIB, incubado por doze horas.

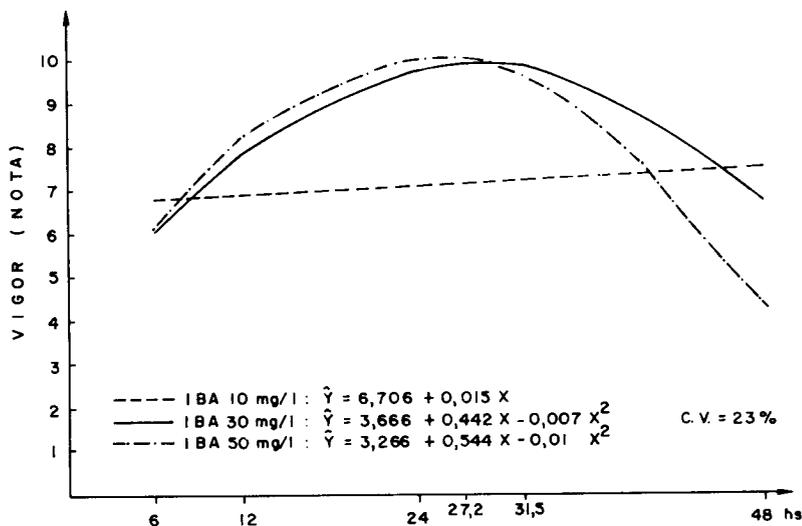


FIG. 3. Desenvolvimento de plantas enraizadas em substrato, aos 15 dias em função do tempo de incubação.

Decorridos 45 dias do período de incubação, as plantas transferidas para substrato foram novamente avaliadas quanto ao número de folhas e respectivo desenvolvimento. A Fig. 4 evidencia que para a concentração mais

baixa (10 mg/litro) o número de folhas aumentou à medida que houve incubação por mais tempo. Por outro lado, para as concentrações mais elevadas, houve um acréscimo no número de folhas até o tempo de 24 horas, aproximadamente, e a partir daí, uma redução. O desenvolvimento das plantas em função das concentrações de AIB e tempos de incubação é mostrado na Fig. 5. Observa-se um aumento progressivo com o aumento do tempo de incubação em 10 mg/litro de AIB, enquanto que para 30 e 50 mg/litro de AIB houve um aumento no desenvolvimento da planta até o tempo de 24 horas, aproximadamente, decaindo a partir deste limite.

O enraizamento e posterior desenvolvimento das plantas obtidos com incubação de brotos por períodos curtos, com posterior transferência diretamente para o substrato, vem atender à expectativa de se eliminar a fase de enraizamento *in vitro*.

CONCLUSÕES

1. As concentrações de AIB utilizadas (10, 30 ou 50 mg/litro) em qualquer um dos tempos de incubação (6, 12, 24 e 48 horas) promoveram enraizamento de todos os explantes.

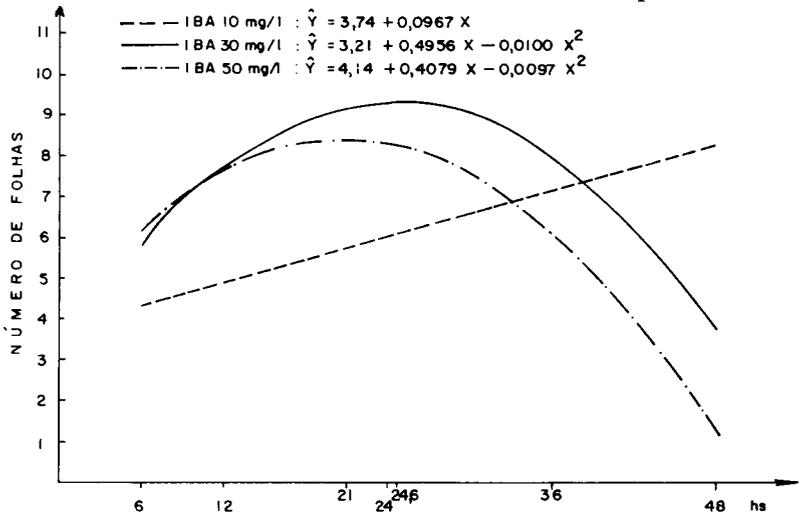


FIG. 4. Número de folhas de plantas enraizadas em substrato, aos 45 dias, em função do tempo de incubação em determinada concentração de AIB.

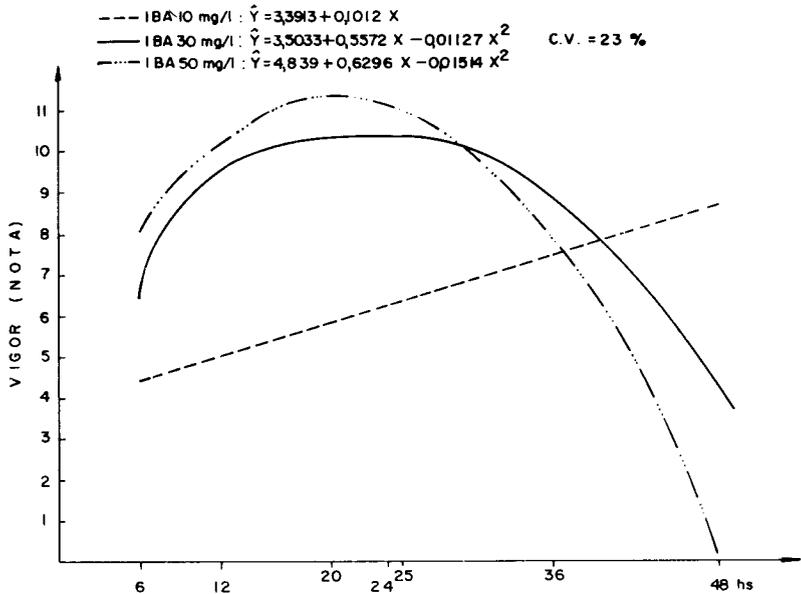


FIG. 5. Desenvolvimento de plantas enraizadas em substrato aos 45 dias, em função do tempo de incubação em determinadas concentrações de AIB.

2. Explantes enraizados *in vitro* alcançaram menor desenvolvimento do que os enraizados em substrato.

3. A concentração de 30 mg/litro de AIB associada ao tempo de incubação de 24 horas e 36 min forneceu maior número de folhas.

4. Aos 45 dias, plantas vigorosas foram obtidas nas concentrações de 30 e 50 mg/litro associadas aos tempos de 25 e 20 horas, respectivamente.

REFERÊNCIAS

- CAILLOUX, M. Plant Tissue Culture: rapid propagation, induced mutation and the potential role of protoplast techniques. In: VOSE, P.B.; BLIXT, S.G. **Crop breeding** a contemporary basis, New York [s.n.], 1984. p.311-346.
- HUSSEY, G. *In vitro* propagation. In: INGRAM, D.S. **Tissue culture methods for plant pathologists**. Oxford: [s.n.], 1980. p.53-60.
- JAMES, D.J.; THURBON, I.J. Rapid *in vitro* rooting of the apple rootstock M-9. **Journal of Horticultural Science**, v.54, n.4, p.309-311, 1979.
- MAGHERINI, R.; SANI, P. Influenza dell'epoca di prelievo delle talee legnose e dei fitoregolatori sulla radicazione de *Vitis vinifera* L. **Informatore Agrario**, v.41, n.12, p.83-86, 1985.
- MORETTI, G.; BORGIO, M. Stimolazioni ed antagonismi nel campo dei fitoregolatori rizogeni in vitigni portinnesti. **Vignevisi**, v.12, n.11, p.31-38, 1985.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, v.15, p.473-497, 1962.
- SNIR, I.; EREZ, A. *In vitro* propagation of malling merton apple rootstocks. **HortScience**, v.15, n.5, p.597-598, 1980.
- SRISKANDARAJAH, S.; MULLINS, M.G. Micropropagation of Granny Smith apple: factors affecting root formation *in vitro*. **Journal of Horticultural Science**, v.56, n.1, p.71-76. 1981.
- TEWARI, J.P. Effect of some growth regulators on the rooting and survival of grape (*Vitis vinifera* L.) air layers. **Progressive Horticulture**, v.18, n.1/2, p.48-50, 1986.
- WALKEY, D.G. Production of apple plantlets from axillary bud meristems. **Canadian Journal of Plant Science**, v.52, p.1085-1087, 1972.
- WERNER, E.M.; BOE, A.A. *In vitro* propagation of malling - 7 apple rootstock. **HortScience**, v.15, n.4, p.509-510, 1980.
- ZIMMERMAN, R.H.; FORDHAN, I. Simplified method for rooting apple cultivar *in vitro*. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v.110, n.1, p.34-38, 1985.