

ENRAIZAMENTO *IN VITRO* DE BROTAÇÕES DO PORTA-ENXERTO DE CITROS *Tangerina sunki* x *Trifoliata english* 63-256 COM O USO DE SACAROSE E ÁCIDO INDOLBUTÍRICO

RAFAEL PIO¹
JOSÉ DARLAN RAMOS²
LEILA APARECIDA SALLES PIO¹
VANDER MENDONÇA¹
ADRIANO BORTOLOTTI DA SILVA¹
MOACIR PASQUAL²

RESUMO – O presente trabalho foi realizado no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais do Departamento de Agricultura da UFLA, objetivando-se determinar a melhor interação entre dosagens de sacarose e do regulador de crescimento AIB (ácido indolbutírico), visando ao melhor enraizamento *in vitro* do porta-enxerto *Tangerina sunki* x *Trifoliata english* 63-256. Utilizaram-se explantes micropropagados *in vitro* do devido porta-enxerto, apresentando em média 1 cm de comprimento, sendo inoculados em tubos de ensaio contendo 15 ml de meio de cultura ‘MS’, acrescido das diferentes dosagens

de AIB (0; 2; 4 e 6 mg.L⁻¹) em combinação com diferentes concentrações de sacarose (0; 30 e 60 g.L⁻¹). Posteriormente, os tubos foram transferidos para sala de crescimento com temperatura de 27±1°C, fotoperíodo de 16/8 h (luz/escuro) e irradiância de 28 μmoles.m⁻².s⁻¹. Após 30 dias da inoculação, foram avaliadas as características referentes ao número e comprimento médio das raízes. Os melhores resultados foram obtidos com a combinação de 6 mg.L⁻¹ de AIB e 30 g.L⁻¹ de sacarose para número de raízes, e 6 mg.L⁻¹ de AIB em combinação com 60 g.L⁻¹ de sacarose para comprimento médio das raízes.

TERMOS PARA INDEXAÇÃO: Propagação, cultura de tecidos vegetais, AIB e citros.

IN VITRO ROOTING OF SPROUTS OF *Tangerina sunki* x *Trifoliata english* 63-256 CITRUS ROOTSTOCKS THROUGH THE USE OF SUCROSE AND INDOLBUTYRIC ACID

ABSTRACT – The present work was performed in the Plant Tissue Culture Laboratory of the Department of Agriculture at the UFLA, aiming the determination of the best interaction among dosages of sucrose and of the growth regulator IBA (Indolbutyric acid) for the *in vitro* development of sprouts of *Tangerina sunki* x *Trifoliata english* 63-256 citrus rootstocks. *In vitro* micropropagated explants of the due rootstock, presenting 1 cm of length on the average, were transferred to tubes containing 15 mL of ‘MS’ culture

medium, added of different dosages of IBA (0; 2; 4 and 6 mg.L⁻¹) in combination with dosages of sucrose (0; 30 and 60 g.L⁻¹). Afterwards, the tubes were transferred to a growth room at 27±1°C and 16/8 hours lighting (light/dark) at 28 μmoles.m⁻².s⁻¹. After 30 days since the inoculation, the average number and length of roots were evaluated. The best results were obtained with the combination of 6 mg.L⁻¹ of IBA and 30 g.L⁻¹ of sucrose for root number and 6 mg.L⁻¹ of IBA in combination with 60 g.L⁻¹ of sucrose for root length.

INDEX TERMS: Propagation, plant tissue culture, IBA and citrus.

2. Professor do Departamento de Agricultura/UFLA.

INTRODUÇÃO

O porta-enxerto *Tangerina sunki x Trifoliata english* 63-256 é promissor por um de seus progenitores ter característica de resistência ao frio. Na hipótese de ser recomendado para plantio, necessitará de metodologia para que seja multiplicado rapidamente em grande quantidade e mantendo a sua uniformidade. Essa uniformidade não é possível de ser mantida se o mesmo for multiplicado por sementes, uma vez que há um alto índice de polinização cruzada nas espécies de citros.

A obtenção de uma plântula com um sistema radicular bem desenvolvido é de grande importância para a sua sobrevivência e crescimento nas novas condições ambientais. Sommer & Caldas (1991), entretanto, observaram em espécies florestais que a sobrevivência das plântulas não depende apenas da formação de um sistema radicular bem definido, mas também do desenvolvimento de um bom sistema vascular entre o broto e as raízes, ou seja, de uma boa relação raiz/broto. A capacidade dos tecidos para formação de raízes depende de vários fatores endógenos e/ou exógenos e suas interações (Haissig, 1982; Nemeth, 1986). O papel das auxinas na indução e no desenvolvimento de raízes tem sido bastante estudado, sendo as principais auxinas utilizadas: o ácido indolbutírico (AIB), o ácido naftaleno acético (ANA) e o ácido indolacético (AIA) (Mohammed & Vivalder, 1988; Grattapaglia & Machado, 1990). Sriskandarajah & Mullins (1981) verificaram que a aplicação exógena de auxinas induzia a formação de raízes em brotações de macieira 'Granny Smith' e que diversas auxinas, isoladas ou em combinação com outras, podem ser utilizadas no processo de rizogênese, cujas concentrações, entretanto, variam conforme a espécie. Kitto & Young (1981) contataram que o ANA é a melhor auxina para o enraizamento de brotações de 'Citrange Carrizo', ao passo que Pasqual (1985) obteve melhor enraizamento de brotações axilares de 'Trifoliata' com o uso de AIB 1 a 2 mg.L⁻¹ e também com ANA 5 mg.L⁻¹ mais BAP 0,1 mg.L⁻¹, em meio 'MT'. Segundo Nagao (1993), melhores resultados de número médio de raízes de brotações axilares de 'Trifoliata' foram obtidos com o uso de 60 g.L⁻¹ de sacarose em combinação com 5 mg.L⁻¹ de AIB.

Na iniciação das raízes, pelo fato de ser um processo que demanda energia, torna-se necessária a adição de carboidratos no meio (Mohammed & Vivalder, 1988). De acordo com George & Sherington (1984), a presença de carboidratos tem-se mostrado essencial para o enraizamento *in vitro* de muitas espécies. Lane (1978) observou, em plântulas de maçã, que a indução de

raízes diminui proporcionalmente com o decréscimo de sacarose no meio, e que os brotos enraizados na ausência de sacarose mostraram-se com menor sobrevivência quando transferidos para casa-de-vegetação. O mesmo autor mostrou ainda que concentrações inferiores a 2% e superiores à 5% p/v no meio de cultura prejudicam o enraizamento.

Nanda & Jain (1972) relataram que o enraizamento é dependente de um nível adequado de carboidratos, e que alguns desses compostos são mais eficientes que outros. Segundo Nemeth (1986), ocorre uma interação do nível de carboidratos com o nível hormonal endógeno.

Para Bhojwani & Razdan (1983), a diferenciação em tecidos vasculares é afetada pela presença de auxinas e sacarose, e o efeito da auxina na diferenciação de tecidos vasculares está relacionado com a presença de sacarose.

Assim, com o presente trabalho objetivou-se estudar os efeitos do ácido indolbutírico (AIB) e de sacarose no enraizamento *in vitro* do porta-enxerto *Tangerina sunki x Trifoliata english* 63-256.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi conduzido no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais da Universidade Federal de Lavras - UFLA.

Utilizaram-se para a execução do experimento explantes preestabelecido *in vitro* do porta-enxerto *Tangerina sunki x Trifoliata english* 63-256.

As operações de inoculação foram efetuadas assepticamente em câmara de fluxo laminar do tipo horizontal. O meio de cultura básico foi o 'MS' - Murashige & Skoog (1962), com pH ajustado para 5,7±0,2 e solidificado com 0,7% p/v de ágar, distribuindo-se 15 ml por tubo de ensaio, os quais foram vedados com tampas de polietileno. A esterilização do meio de cultura foi realizada por autoclavagem à temperatura de 121°C e à pressão de 1,05 kg.cm⁻² durante 15 minutos.

Os explantes apresentando em média 1 cm de comprimento foram inoculados em tubo de ensaio contendo meio de cultura 'MS' com todas as combinações possíveis de 3 níveis de sacarose (0; 30 e 60 g.L⁻¹) e 4 níveis de AIB (0; 2; 4 e 6 mg.L⁻¹), num fatorial de 3 x 4 com 4 repetições, sendo as 4 repetições constituídas por 3 tubos de ensaio.

Os explantes incubaram-se durante 30 dias a uma temperatura de 27±1°C, a uma irradiância de 28 μmoles.m⁻².s⁻¹, proporcionada por tubos fluorescentes

Philips® TLT 20w/75RS branca, fria, intercalada com tubos Growlux Philips® TLT 20w/75RS, com um fotoperíodo de 16/8 horas (luz/escuro).

As avaliações foram efetuadas após o período de incubação. Os resultados foram avaliados estatisticamente por meio de análise de variância, teste de média (Duncan) e regressão polinomial. As características avaliadas foram número e comprimento médio de raízes por explantes.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise de variância para comprimento médio das raízes demonstrou que houve diferença significativa para os diferentes níveis de AIB e sacarose, porém não houve interação entre esses dois fatores.

Na Figura 1 pode-se notar que para comprimento médio das raízes houve tendência de crescimento linear à

medida que a concentração de sacarose aumentou até 60 g.L⁻¹. Pela Figura 2, observa-se que com o aumento das doses de AIB, registrou-se tendência de aumento no comprimento médio de raízes até a dosagem de 6 mg.L⁻¹, com um comprimento médio de raízes de 2,14 e 2 cm por explante, respectivamente. Na mesma forma que as concentrações de sacarose, o AIB em concentrações superiores a 6 mg.L⁻¹ deveria ser testado para verificar se a tendência de aumento se mantém.

Com base nos resultados obtidos, verifica-se que a presença do AIB estimulou marcadamente o processo de enraizamento, concordando com observações de Sriskandarajah & Mullins (1981) e Grattapaglia & Machado (1990), o quais mostraram que a adição de uma auxina no meio beneficia o processo de indução de raízes.

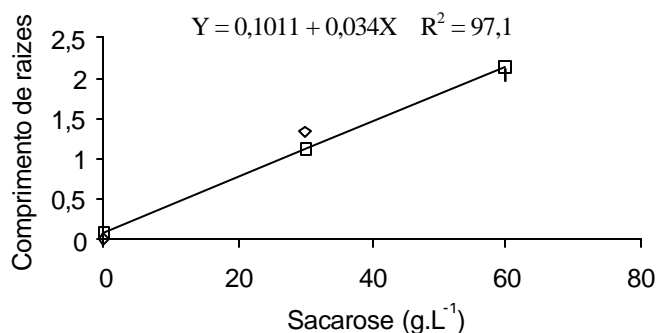


FIGURA 1 – Efeito das concentrações de sacarose sobre o comprimento médio (cm) de raízes do porta-enxerto *Tangerina sunki* x *Trifoliata english* 63-256 obtidas *in vitro*. Lavras- MG, 2000.

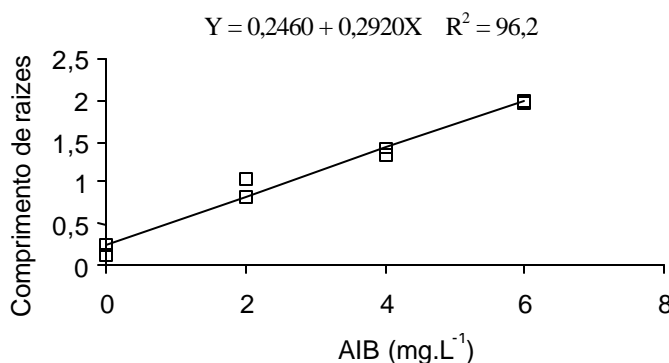


FIGURA 2 – Efeito das concentrações de AIB sobre o comprimento médio (cm) de raízes do porta-enxerto *Tangerina sunki* x *Trifoliata english* 63-256 obtidas *in vitro*. Lavras- MG, 2000.

Para o número médio de raízes, houve diferença significativa pelo teste de Duncan a 1% de probabilidade entre os diferentes níveis de AIB e sacarose, ocorrendo também a interação entre esses dois fatores. Observa-se pela Figura 3 que, para número médio de raízes, houve

tendência de aumento até a dosagem de 30 g.L⁻¹ de sacarose e depois decréscimo em dosagens superiores, em combinação com 6 mg.L⁻¹ de AIB, proporcionando um número médio de raízes de 1,63 por explante.

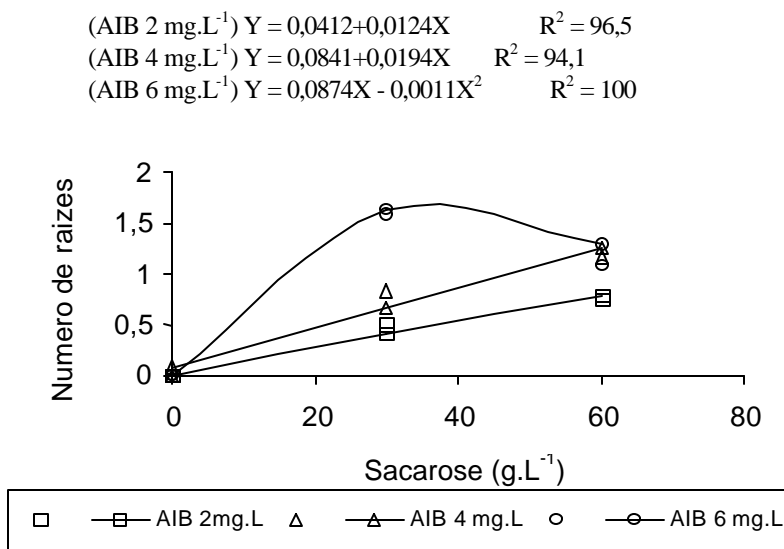


FIGURA 3 – Efeito das combinações de sacarose e AIB sobre o número médio de raízes do porta-enxerto *Tangerina sunki* x *Trifoliata english* 63-256 obtidas *in vitro*. Lavras- MG, 2000.

Esses resultados discordam em parte daqueles obtidos por Pasqual (1985), que obteve melhores resultados com AIB 1 a 2 mg.L⁻¹ no enraizamento de 'Trifoliata'. Os resultados também discordam em parte pelos obtidos por Nagao (1993), que obteve melhores resultados utilizando as concentrações de 60 g.L⁻¹ de sacarose em combinação com 6 mg.L⁻¹ de AIB.

A adição de sacarose ao meio de cultura pode atuar como substrato para o processo de respiração celular, fornecendo energia para o processo de rizogênese, condição essa de vital importância. Segundo George & Sherington (1984), a presença de carboidratos no meio tem demonstrado ser essencial para a indução e desenvolvimento de raízes *in vitro*. Por outro lado, Nemeth (1986) cita que as concentrações de sacarose parecem ser responsáveis pela manutenção dos níveis endógenos de hormônios.

Outro aspecto a ser considerado é que a sacarose também contribui na diferenciação dos tecidos vasculares (Sriskandarajah & Mullins, 1981).

CONCLUSÃO

Nas condições em que o trabalho foi realizado, conclui-se:

- A utilização de sacarose e ácido indolbutírico tem marcada importância no processo de formação de raízes *in vitro* do porta-enxerto *Tangerina sunki* x *Trifoliata english* 63-256.
- O número e o comprimento médio de raízes foram influenciados pelos níveis de sacarose e AIB.
- O comprimento médio de raízes foi influenciado pelas concentrações de sacarose e AIB, sendo, respectivamente, 60 g.L⁻¹ e 6 mg.L⁻¹ as melhores concentrações para os citados reguladores do crescimento.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BHOJWANI, S.S.; RAZDAN, M.K. **Plant tissue culture: theory and practice**. New York: Elsevier, 1983. 501 p.

- GEORGE, E.F.; SHERINGTON, P.D. Factors affecting growth and morphogenesis. In: _____. **Plant propagation by tissue culture**. England: Exegeics, 1984. p.125-171.
- GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M.A. Micropropagação. In: TORRES, A.L.; CALDAS, L.S. (Ed.) **Técnicas de aplicações da cultura de tecidos de plantas**. Brasília: ABCTP/EMBRAPA – CNPH, 1990. p.89-164.
- HAISSIG, B.E. Carbohydrate and acid concentrations during adventitious root primordium development in *Pinus banksiana* Lamb. cuttings. **Forestry Science**, Washington, v.28, p.813-821, 1982.
- KITTO, S.L.; YOUNG, M.J. *In vitro* propagation of *Carizo citrange*. **Hort Science**, Alexandria, v.16, n.13, p.305-306, 1981.
- LANE, W.D. Regeneration of wolle plants from shoot meristem tips. **Plant Science Letters**, Amsterdam, v.13, p.281-285, 1978.
- MOHAMMED, D.G.; VIVALDER, W.E. Root production and plantlet development in tissue cultured conifers. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Netherlands. v.14, p.137-160, 1988.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F.A revised medium for rapid growth and biossays whith tabacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.15, p.473-497. 1962.
- NAGAO, E.O. **Efeitos da sacarose, nitrogênio inorgânico e ácido indol butírico na propagação *in vitro* do porta-enxerto *Poncirus trifoliata* L. Raf.** Lavras: UFLA, 1993. 56 p. (Dissertação - Mestrado em Fisiologia Vegetal).
- NANDA, K.K.; JAIN, M.K. Utilization of sugars and starch as carbon sources in the roting of etiolated stem segments of *Populus nigra*. **New Phytologist**, Oxford. v.71, p.825-828, 1972.
- NEMETH, G. Induction of rooting. In: BAJAJ, Y.P.S. (Ed.). **Biotechnology agriculture and forestry I** Berlin: Springer-Verlag, 1986.
- PASQUAL, M. **Regeneração de plantas *in vitro* e radio-sensitividade de tecidos nucleares de citros**. Piracicaba: ESALQ-USP, 1985. 107 p. (Tese - Doutorado em Genética e Melhoramento de Planta).
- SOMMER, H.E.; CALDAS, L.S. *In vitro* methods applied to forest trees. In: THORPE, T. A. (Ed.). **Plant tissue culture: methods and applications in agriculture**. New York: Academic Press, 1991. p.349-358.
- SRISKANDARAJAH, S.; MULLINS, M.G. Micropropagation of Granny Smith apple: factors affecting root formation *in vitro*. **Journal Horticulturae Science**, London, v.56, p.71-76, 1981.