

EFEITOS DE ANA E AIB *IN VITRO* NO ENRAIZAMENTO E CRESCIMENTO DA PARTE AÉREA DA PLÂNTULA DA GUARIROBEIRA [*Syagrus oleracea* (Mart.) Becc.]

*EFFECTS OF NAA AND IBA IN VITRO ON THE LENGTH AND WEIGHTS OF THE DRY MATTERS OF THE ROOTS AND AERIAL PART OF THE GUARIROBEIRA SEEDLING [*Syagrus oleracea* (Mart.) Becc.]*

Berildo de MELO*

José Eduardo Brasil Pereira PINTO**

José Magno Queiroz LUZ***

José Ricardo PEIXOTO****

Fernando César JULIATTI*****

RESUMO: O objetivo do trabalho foi avaliar os efeitos do Ácido naftalenoacético (ANA) e Ácido indolbutírico (AIB), *in vitro*, no comprimento e peso da matéria seca das raízes e parte aérea da plântula da guarirobeira. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, com 2 tratamentos (T1-MS completo + ANA-1mg/L; T2-MS+ AIB-1mg/L), 10 repetições e 2 tubos de ensaio/parcela. Como explante foram utilizadas plântulas uniformizadas, previamente podadas na altura de 2 cm, aos 60 dias de idade. Os tubos foram mantidos em sala de crescimento (fotoperíodo de 16 horas), durante 75 dias. Os resultados mostraram que o ANA foi eficiente na formação de raízes fasciculadas *in vitro* na plântula da guarirobeira, enquanto o AIB foi ineficiente; o ANA promoveu maior produção de matéria seca da parte aérea e da raiz e maior comprimento da raiz fasciculada na plântula do que o AIB; e o meio MS-completo acrescido de ANA proporcionou um enraizamento adequado, *in vitro*, da plântula da guarirobeira em todas as fases da rizogênese.

* Engenheiro Agrônomo, Doutor, Prof. do Curso de Agronomia da UFU, Caixa Postal,593, Uberlândia-MG

** Engenheiro Agrônomo, Prof. Titular, Ph.D., DAG, UFLA-Caixa Postal,37 Lavras-MG

*** Engenheiro Agrônomo, Doutor, Prof. do Curso de Agronomia da UFU, Caixa Postal,593, Uberlândia-MG

**** Engenheiro Agrônomo, Doutor, Prof. do Curso de Agronomia da UnB, Caixa Postal,04508 Brasília-DF.

***** Engenheiro Agrônomo, Doutor, Prof. do Curso de Agronomia da UFU, Caixa Postal,593, Uberlândia-MG

UNITERMOS: *Syagrus*, Guariroba, Guarirobeira, Enraizamento, Micropropagação, ANA, AIB.

INTRODUÇÃO

A habilidade dos tecidos das plantas em produzirem raízes depende de interações entre diferentes fatores endógenos e exógenos (NÉMETH, 1986). Portanto, folhas jovens e gemas ativas são fontes de auxina e intensificam o enraizamento. Para a plântula da guarirobeira, que não consegue um enraizamento de forma natural, caracterizando-se como uma palmeira de difícil enraizamento *in vitro*, o efeito de estimulação pode ser parcial ou integralmente substituído por auxinas exógenas (JARVIS, 1986), como ocorre principalmente em espécies lenhosas de difícil enraizamento (ASSIS & TEIXEIRA, 1998).

As técnicas de cultura de tecidos vegetais envolvem o cultivo asséptico de tecidos e órgãos com a regeneração completa da plântula (MURASHIGE, 1974).

Para THORPE (1980) em algumas espécies de plantas simplesmente a eliminação das citocininas exógenas tem sido suficiente para induzir a formação do sistema radicular. Porém, o tratamento de espécies de difícil enraizamento *in vitro* através da aplicação de auxina apresentam vantagens, tais como: antecipação da indução; maior número, qualidade e

uniformidade da raízes (GASPAR & HOFINGER, 1988).

Quanto ao ambiente para o enraizamento, este pode ser efetuado *in vitro* ou *in vivo*. No entanto, depende da espécie, genótipo e disponibilidade de casa de vegetação com nebulizador automático (GRATTAPAGLIA & MACHADO, 1990).

A rizogênese ocorre em 3 fases: indução, iniciação e alongamento (GRATTAPAGLIA & MACHADO, 1998) ou conforme WENT & THIMANN (1937) e MCGWIRE *et al.* (1969), em 2 fases: indução que requer auxina para ótima formação das raízes e a segunda que compreende a iniciação e alongamento, para essas fases a auxina pode ser considerada inibitória ou quando há necessidade a exigência é em dose elevada.

O ácido indol acético (AIA) é a auxina natural mais encontrada nas plantas, tanto na forma livre como conjugada. A partir de sua descoberta, testes com os análogos, assim como o ácido indolbutírico (AIB) e ácido naftalenoacético (ANA), comprovaram o grande efeito na promoção do enraizamento, sendo caracterizados como auxinas sintéticas (LEOPOLD & KRIEDEMANN, 1975). As bases fisiológicas das diferenças, como no caso da reduzida capacidade de indução de enraizamento

pelo AIA, quando comparado ao ANA e AIB são atribuídas, segundo LEOPOLD & KRIEDERMANN (1975), aos diversos mecanismos metabólicos que a planta possui para reduzir ou anular os efeitos do AIA, através da conjugação e/ou destruição. Além disso, o AIA apresenta problemas na sua estabilidade em função do efeito da luz, que provoca a sua degradação.

Os reguladores de crescimento mais utilizados em diversas espécies de Citros são ANA e IBA, nas seguintes concentrações: *Citrangue carrizo*: 1,0 mg/L de ANA (KITTO & YANG, 1981); *Citrus grandis*: 0,25 mg/L de ANA e 0,25 mg/L de AIB (CHATUVERDI & MITRA, 1974); *Citrus sinensis*, *C. aurantium* e *Citrangue troyer*: 0,5 mg/L de ANA (BOUZID, 1986). Em trabalhos de propagação vegetativa, o AIB é utilizado com frequência, devido notadamente a uma estabilidade maior no espectro de ação em diferentes espécies; e menor fitotoxidez em plantas lenhosas (PROEBSTING, 1984). AIB tem sido o fitorregulador, entre as auxinas, mais utilizado na indução da rizogênese *in vitro*, notadamente em espécies lenhosas. SKISKADARAJAH *et al.* (1982), reportam que conseguiram promover o enraizamento em uma cultivar de macieira de difícil enraizamento, usando 10 mm de AIB.

DREW *et al.* (1991) num experimento com *Carica papaya* L. *in vitro*, usando como reguladores

de crescimento AIB, ANA e PCPA, verificaram que o AIB foi o que permitiu maior percentual de enraizamento e número de raízes por broto do mamoeiro. WINNAAR (1988) observou que ramos de mamoeiro micropropagados através de tecido adulto, quando na presença de AIA, não enraizavam, mas, em presença de ANA, enraizavam, contudo com pequena intensidade; porém, quando se utilizou o AIB, houve um bom enraizamento. Altas concentrações de sais tendem a inibir todas as fases do enraizamento (GRATTAPAGLIA & MACHADO, 1990). Desta forma, para as diferentes espécies uma alternância de meios mais concentrados na fase de indução e mais diluídos para o alongamento das raízes é uma prática comum (GUPTA *et al.*, 1983; Drew, 1988).

Conforme TRAVERS *et al.* (1985) e ZIMMERMAN & BROOME (1981), para que ocorra um bom enraizamento em porta-enxerto de macieira, o meio de cultura deve apresentar a concentração de sais de MS (MURASHIGE & SKOOG, 1962), reduzida pela metade.

Para AL-SALIH *et al.* (1987), as plântulas da palmácea tamareira (*Phoenix dactylifera* L.) regeneradas em cultura *in vitro* são geralmente menores, mais finas e fracas. Por isso, as plântulas morreram quando transplantadas para o solo, provavelmente devido à ausência de diferenciação das células da raiz, ocasionada por deficiência de

reguladores de crescimento. Desta forma, adição de reguladores de crescimento, tipo auxina, tem a finalidade de suprir as prováveis deficiências dos teores endógenos de hormônios dos explantes.

O trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos de ANA e AIB *in vitro* no comprimento médio das raízes e peso da matéria seca da parte aérea e raízes de plântula da guarirobeira [*Syagrus oleracea* (Mart.) Becc.].

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais da Universidade Federal de Lavras-MG (UFLA).

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado com 2 tratamentos, 10 repetições, sendo cada parcela constituída por 2 tubos de ensaio, sendo utilizada uma plântula por tubo. Os tratamentos foram, a saber: T1-MS completo (MURASHIGE & SKOOG, 1962) + ANA-1mg/L; e T2- MS +AIB-1mg/L.

Os meios de cultura, conforme cada tratamento, tiveram o pH ajustado para $5,7 \pm 0,1$; a sacarose foi utilizada na quantidade de 30 g/L, e a solidificação efetuada com ágar a 0,7%. Cada tubo de ensaio (25x250 mm) recebeu a dose de 20 mL do meio e foi fechado com tampa plástica.

Posteriormente, foi submetido à autoclavagem à temperatura de $121 \pm 1^\circ\text{C}$, durante 20 minutos, a uma pressão de 1 atm.

No experimento foi utilizado como explante, plântulas previamente uniformizadas e podadas aos 60 dias de idade, em câmara de fluxo laminar, na altura de 2 cm, usando um bisturi devidamente esterilizado (lavado em água destilada e autoclavada e em seguida flambado). As plântulas podadas foram estabelecidas em tubos de ensaio na câmara de fluxo laminar, após lavagem por 4 vezes em água destilada autoclavada. O tubo foi fechado com tampa plástica e com a borda vedada com filme plástico.

Os tubos foram mantidos em sala de crescimento com fotoperíodo de 16 horas e uma intensidade luminosa de $25 \mu\text{mol s}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$, fornecida por lâmpadas do tipo fluorescente branca fria, e temperatura controlada a $26 \pm 1^\circ\text{C}$.

As características avaliadas foram: comprimento médio da raiz (em cm); e peso médio da matéria seca da parte aérea e raiz (em g). Todas as características foram avaliadas aos 75 dias após o estabelecimento.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O resumo das análises de variância para as variáveis matéria seca da parte aérea, bem como

comprimento médio e matéria seca da raiz, encontra-se na Tabela 1. Verifica-se que houve diferença altamente significativa ao nível de 1% pelo teste F para as características comprimento médio e matéria

seca das raízes da plântula da guarirrobeira, submetida a doses de ANA (1,0 mg/L) e AIB (1,0 mg/L) e para matéria seca da parte aérea houve diferença significativa ao nível de 5% pelo teste F.

TABELA 1

RESUMO DAS ANÁLISES DE VARIÂNCIA PARA COMPRIMENTO MÉDIO DA RAIZ, E PESO MÉDIO DA MATÉRIA SECA DA PARTE AÉREA E RAIZ, OBTIDAS NO EXPERIMENTO SOBRE EFEITOS DE ANA E AIB NO ENRAIZAMENTO *IN VITRO* DA GUARIROBEIRA [*SYAGRUS OLERACEA* (MART.) BECC.].

Causas da variação	G.L	Quadrados médios		
		Comprimento médio da raiz (cm)	Matéria seca da parte aérea (g)	Matéria seca da raiz (g)
Tratamentos	1	8,8973554**	0,0182221*	0,0383150**
Resíduo	18	0,1571	0,0026489	0,0012719
C.V.(%)		21,97	6,10	4,72

** , *-Significativo ao nível de 1% e 5% de probabilidade, respectivamente, pelo teste F.

As médias para o comprimento médio e peso da matéria seca da parte aérea e raiz da plântula, são apresentados na Tabela 2. Os dados obtidos mostram que o ANA (1,0 mg/L) foi um regulador de crescimento mais eficiente do que o AIB (1,0 mg/L), haja vista que proporcionou um comprimento médio

das raízes superior ao AIB (1,0 mg/L) de 4,81 cm; um peso de matéria seca das raízes de 0,13 gramas por plântula da guarirrobeira, tendo também para matéria seca da parte aérea um ganho de 0,10 gramas/plântula (Tabela 2).

TABELA 2

COMPRIMENTO MÉDIO DA RAIZ E PESO MÉDIO DA MATÉRIA SECA DA PARTE AÉREA E RAIZ, OBTIDOS NO EXPERIMENTO SOBRE EFEITOS DE ANA E AIB NO ENRAIZAMENTO *IN VITRO* DA GUARIROBEIRA [*SYAGRUS OLERACEA* (MART.) BECC.].

Tratamentos	Comprimento médio da raiz (cm)	Matéria seca da parte aérea (g)	Matéria seca da raiz (g)
ANA-1mg/L	5,60	0,26	0,1380
IBA-1mg/L	0,79	0,16	0,0058

Pelo experimento efetuado foi possível evidenciar que a plântula da guarirobeira não formou raiz fasciculada *in vitro* naturalmente. Por esta razão, foram avaliados os reguladores de crescimento da classe das auxinas mais recomendados para espécies lenhosas de difícil enraizamento, como o AIB e ANA (LEOLPOLD & KRIEDERMANN, 1975). Os fitorreguladores, tipo auxina, para algumas espécies são exigidos somente na fase de indução e podem ser inibitórios nas fases seguintes (iniciação e alongamento) ou exigidos em doses elevadas, também, nestas fases na rizogênese (WENT & THIMANN, 1937; MCGWIRE *et al.*, 1969; GRATTAPAGLIA & MACHADO, 1998), podendo ocorrer *in vitro* ou *ex vitro* (MURASHIGE & SKOOG, 1974; GRATTAPAGLIA & MACHADO, 1998). As doses mais indicadas para algumas espécies são: *Citrangue carrizo* 1,0 mg/L de ANA (KITTO &

YOUNG, 1981); *Citrus grandis*-0,25 mg/L e 0,25 mg/L de AIB (CHATUVERDI & MITRA, 1974); *Citrus sinensis*-0,5 mg/L de ANA (BOUZID, 1986); macieira-10 mM de AIB (SKISKADARAJAH *et al.*, 1982). O fitorregulador mais utilizado devido a estabilidade, maior espectro de ação e menor fitotoxidez é o AIB (PROEBSTING, 1984; DREW *et al.*, 1991). WINNAAR (1998), verificaram também, em trabalho realizado com ramos de mamoeiro micropropagados, pequeno enraizamento com ANA e bom enraizamento com AIB. Entretanto, com a plântula da guarirobeira observou-se um comportamento exatamente o contrário, pois com a utilização de ANA (1,0 mg/L) no meio de cultura, ocorreu um enraizamento adequado da plântula da guarirobeira, com valores maiores obtidos para comprimento e matéria seca das raízes em relação ao AIB (1,0 mg/L) (Tabela 2). Para a característica

peso da matéria seca da parte aérea, no entanto, o ganho foi de somente 0,10 gramas de matéria seca/plântula da guarirrobeira. Isto mostra que as auxinas (AIB e ANA) não se diferenciam muito quanto ao efeito na parte aérea da plântula da guarirrobeira, mas mesmo assim, o ANA foi superior ao AIB, na concentração de 1 mg/L (Tabela 2). Para o enraizamento *in vitro* da plântula da guarirrobeira, o ANA mostrou-se mais eficiente do que o AIB. Quanto à indução, iniciação e alongamento na rizogênese, o fitorregulador ANA (1,0 mg/L), provavelmente, não afetou, como ocorre em outras espécies lenhosas, as fases de iniciação e alongamento (THORPE, 1980; GASPAR & HOFINGER, 1988) quando presente no meio até a fase final, pois na plântula da guarirrobeira, as raízes desenvolveram adequadamente.

Para GRATTAPAGLIA & MACHADO (1990), altas concentrações de sais inibem as fases do enraizamento, sendo, portanto, recomendado meio concentrado na indução e diluído para alongamento das raízes (GUPTA *et al.*, 1993; DREW, 1988). Desta forma, TRAVERS *et al.*, (1985) e ZIMMERMAN & BROOME (1981) conseguiram um bom enraizamento em porta-enxerto de macieira com o meio MS (50% da concentração).

Os resultados obtidos para o enraizamento da plântula da guarirrobeira foram discordantes dos relatados pelos autores acima citados, pois o meio utilizado no experimento de avaliação de fitorreguladores (ANA e AIB) para o enraizamento da plântula da guarirrobeira foi o MS-completo, presente por um período de 75 dias, ou seja, durante as três fases do processo rizogênico (indução - iniciação - alongamento).

CONCLUSÕES

Na concentração de 1 mg/L pode-se concluir que:

-O ANA foi eficiente na formação de raízes fasciculadas *in vitro* na plântula da guarirrobeira;

-O AIB foi ineficiente na rizogênese da plântula da guarirrobeira;

-O ANA promoveu maior produção de matéria seca da parte aérea e da raiz e maior comprimento de raiz fasciculada na plântula da guarirrobeira do que o AIB; e

-O meio MS-completo, acrescido de ANA, proporcionou um enraizamento adequado, *in vitro*, da plântula da guarirrobeira em todas as fases da rizogênese.

ABSTRACT: The objective of this work was to evaluate the effects of the naphthaleneacetic (NAA) and the indole-butyric acid (IBA), *in vitro*, on the length and dry matter weight of roots and aerial part of the seedling of guarirobeira [*Syagrus oleracea* (Mart.) Becc.]. The experimental design was completely randomized with two treatments (T1: whole MS + NAA–1mg/L; T2: MS + IBA–1mg/L), 10 replications and 2 test tubes/plot. As an explant, uniformed 60 days old seedlings, previously pruned at 2 cm tall, were used. The tubes were kept in the growth room (16 hour photoperiod) for 75 days. The results showed that: NAA (1mg/L) was efficient in the *in vitro* formation of the fasciculate roots on the guarirobeira seedling whereas IBA (1mg/L) was inefficient; NAA promoted a greater dry matter yield of the aerial part and roots, greater average length of the fasciculate roots on the seedling than IBA; and whole MS medium added of NAA (1mg/L) provided an *in vitro* suitable rooting of the guarirobeira seedling in every phase of rhizogenesis.

UNITERMS: Rooting, Guariroba, Guarirobeira, *Syagrus*, NAA, IBA, Micropropagation

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AL-SALIH, A. A.; BADER, S. M.; JARRAH, A. Z.; AL-DADI, M. T. A comparative morphological and anatomical study of seed embryo culture derived seedling of *Phoenix dactylifera* L. **Date Palm Journal**, Baghdad, v. 4, n. 2, p. 137-152, 1987.

ASSIS, T. F.; TEIXEIRA, S. L. Enraizamento de plantas lenhosas. In: TORRES, A.G.; CALDAS L. S.; BUSO, J. S. **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: EMBRAPA-CNPQ, 1998. p. 261-296.

BOUZID, S. “*In vitro*” micropropagation of mature *Citrus*. In: SOMMERS, D. A., GENGENBACH, B. G., BIESBOER, D. D., HACKET, W. P., GREEN, C. E. (Ed.). INTERNATIONAL CONGRESS OF PLANT TISSUE AND CELL CULTURE, 6. 1986. Saint Paul. **Proceedings..** Saint Paul, 1986. p. 35-43.

Efeitos de ANA e AIB *in vitro* no enraizamento e crescimento da parte aérea da plântula da guarirobeira [*Syagrus oleracea* (Mart.) Becc.]. **Biosci J.**, v.17, n. 1, p. 49-59, june. 2001

CHATUVERDI, H. C.; MITRA, G. C. Clonal propagation of *Citrus* from somatic callus cultures. **HortScience**, Virgínia, v. 9, n. 2, p. 118-120, 1974.

DREW, R. A.; McCOMB, J. A.; CONSIDINE, J. A. Rhizogenesis and root growth of *Carica papaya* L. *in vitro* in relation to auxine sensitive phase and use of riboflavin. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Dordrecht, v. 33, n.1, p. 1-7, 1991.

DREW, R. M. Rapid clonal propagation of *papaya in vitro* from mature field-grown Trees. **HortsScience**, Virgínia, v.23, n.3, p. 609-611, 1988.

GASPAR, T.; HOFINGER, M. Auxin metabolism during adventitious rooting. In: DAVIS, T. D. **Advances in Plant Sciences: adventitious root formation in cuttings**. Oregon: Dioscoridies, 1988. v. 2. p. 117-131.

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. (Ed.). **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: EMBRAPA, CNPH, 1998. p. 183-260.

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A. C.; CALDAS L. S. **Técnicas e aplicações da cultura de tecidos de plantas**. Brasília: ABCTP/EMBRAPA, CNPH, 1990. p. 99-169.

GUPTA, P. K.; MEHTA, U. J.; MASCARENHAS, A. F. A tissue culture method for rapid propagation of mature trees of *Eucalyptus torelliana* and *Eucalyptus camaldulensis*. **Plant Cell Reports**, Berlin, v. 2, p. 296-299, 1983.

JARVIS, B. C. Endogenous control of adventitious rooting in non-woody cuttings. In: JACKSON, M. B. **New root formation in plants and cuttings**. Dordrecht: Martinus Nijhoff Publishers, 1986. p. 191-216.

KITTO, S. L.; YOUNG, M. J. “*In vitro*” propagation of “*Carrizo citrange*”. **HortScience**, Virgínia, v.16, n.3, p. 305-306, 1981.

LEOPOLD, A. C.; KRIEDEMANN, P. E. **Plant growth and development**. 2. ed. New York: Mc Graw Hill,. 1975. 446 p.

MCGWIRE, J.; ALBERT, L.; SHUTAK, V. Effect of foliar application of 3 - indole butyric acid on rooting of cuttings of ornamental plants. **American Society Horticultural Science**, Alexandria, v. 93, p. 699-704, 1969.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and biossays with tabacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum, Copenhagen**, v. 15, p. 473-497, 1962.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. Plant propagation through tissue culture. **Annual Review of Plant Physiology**, New York, v. 25, p. 135-166, 1974.

NÉMETH, G. Induction of rooting. In: **Biotechnology in agriculture and forestry**. Berlin: Springer Verlag, 1986. v.1, cap. 4, p. 49-50.

PROEBSTING, W. M. Rooting of douglas-fir stem cuttings: relative activity of IBA and NAA. **HortScience**, Virgínia, v. 19, n. 6, p. 854-856, 1984.

SKISKADARAJAH, S.; MULLINS, M.G.; NAIR, Y. Induction of adventitious rooting “*in vitro*” in difficult-to-propagative cultivars of apple. **Plant Science Letters**, Oxford, v. 24, p. 1-9, Jan. 1982.

THORPE, T. A. Enraizamento de los brotes y preparación para su transplante. **Cultivo de tecidos em la agricultura**. Madrid: Mundi-Prensa, 1980. 130 p.

TRAVERS, T. N.; STARBUCK, C. J.; NATARELLA, N. J. Effects of culture medium on *in vitro* rooting of Antonovka 313 apple. **HortScience**, Virgínia, v. 20, n. 6, p. 1051-1052, 1985.

WENT, F. W., THIMANN, K. V. Root formation. In: **Phytohormones**. New York: Mac Millan, 1937. p. 183-206.

WINNAAR, W. Clonal Propagation of papaya *in vitro*. **Plant Cell Tissue Organ Culture**, Dordrecht, v. 12, n. 3, p. 305-310, 1988.

ZIMMERMAN, R. H.; BROOME, O. C. Phloroglucinol and *in vitro* rooting of apple cultivar cuttings. **Journal of the American Society of Horticultural Science**, Alexandria, v. 106, n. 5, p. 648-652, 1981.

