

## REAPLICAÇÃO DE AIB NA ESTAQUIA E ESTABELECIMENTO *in vitro* DE *Ilex paraguariensis*

Larissa Mignosso Arruda<sup>1</sup>, Marcio Carlos Navroski<sup>2</sup> e Mariane de Oliveira Pereira<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Acadêmica do Curso de Engenharia Florestal – CAV – Bolsista PIBIC/CNPq

<sup>2</sup>Orientador, Departamento de Engenharia Florestal – CAV – marcio.navroski@udesc.br

<sup>3</sup>Pesquisadora FAPESC/UDESC do Departamento de Engenharia Florestal – CAV

O presente estudo teve como objetivo avaliar a reaplicação de ácido indolbutírico (AIB) na estaquia e o estabelecimento *in vitro* de microestacas de *Ilex paraguariensis* cultivadas *in vitro* em diferentes concentrações de meio MS.

Os estudos foram conduzidos no Viveiro Florestal e no Laboratório de Propagação e Melhoramento Florestal, no Centro de Ciências Agroveterinárias (CAV), localizado na cidade de Lages, SC. O experimento de reaplicação de AIB foi instalado a partir de estacas não enraizadas de um experimento que testou a estaquia em duas populações de ervais nativos (Urupema e Três Barras/SC). As estacas foram coletadas em pelo menos 7 indivíduos de cada população, sendo postas para enraizar em ambiente de minitunnel por 4 meses. Após este período, as estacas vivas e não enraizadas foram testadas quanto a reaplicação do regulador de crescimento (AIB). O experimento foi conduzido em experimento inteiramente casualizado (DIC), usando 5 repetições de 5 estacas cada. O experimento foi conduzido em esquema bifatorial 2x4, sendo duas populações (Urupema e Três Barras) e quatro concentrações (0, 2.000, 4.000 e 6.000 mg L<sup>-1</sup> de AIB). As bases das estacas foram mergulhadas na solução hidro alcoólica por 10 segundos, posteriormente estaqueadas, e acondicionadas em tubetes de 180 cm<sup>3</sup> contendo substrato comercial. Foram mantidas em ambiente de enraizamento por 90 dias. Após este período realizou-se a avaliação de sobrevivência (%), enraizamento (%), e número de raízes.

Para o experimento de estabelecimento inicial *in vitro* foi realizada coleta de material (brotações) em 3 árvores matrizes. As brotações foram coletadas, acondicionadas em frascos de vidro contendo água estéril com solução de água destilada, acrescida de 2 g L<sup>-1</sup> de fungicida Cerconil 500 WP® e 800 mg L<sup>-1</sup> de polivinilpirrolidona (PVP), para minimizar o efeito da oxidação fenólica. Os frascos contendo as brotações foram então transportados para o laboratório de melhoramento e biotecnologia. Entre a coleta e o início do processo de desinfestação o tempo não foi superior a 30 minutos.

No Laboratório, as brotações foram transformadas em microestacas de 2,0 a 2,5 cm as quais foram lavadas em água corrente, por 10 minutos, para promover lixiviação de substâncias fenólicas e a redução de contaminantes. Após esta limpeza inicial, as estacas foram submersas em álcool 70% por 30 segundos, a seguir, enxaguadas com água estéril por duas vezes. Na sequência, as microestacas foram imersas em solução de 1,5% de NaOCl por 15 minutos sob agitação constante, e novamente realizada lavagem tripla. As microestacas foram inoculadas em tubos de ensaio contendo 15 ml de diferentes concentrações de macro e micronutrientes do meio de cultura MS (Murashige e Skoog), sendo 100, 75, 50 e 25 %, além de um tratamento usando somente água, ágar e sacarose.

Todos os tratamentos foram preparados adicionando-se 4,5 g L<sup>-1</sup> de ágar e 30 g L<sup>-1</sup> de sacarose e 800 mg L<sup>-1</sup> de PVP. Após os tubos de ensaio foram mantidos em sala de cultivo com

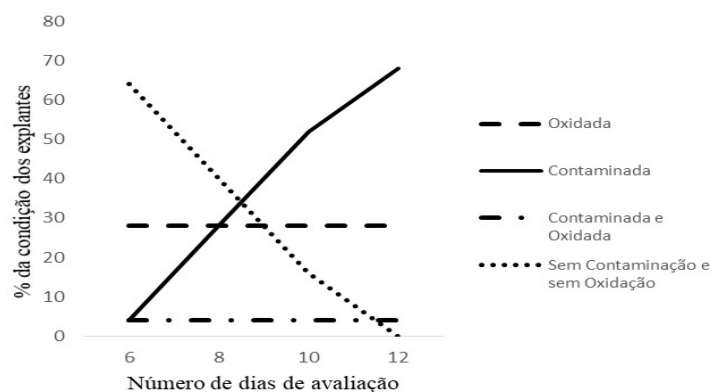
temperatura de  $23^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ , fotoperíodo de 16 horas e intensidade luminosa de  $20 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  fornecida por lâmpadas fluorescentes de cores branca. Aos 6, 8, 10 e 12 dias após inoculação, foi realizada avaliação de porcentagem de oxidação fenólica e contaminação fúngica ou bacteriana. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado (DIC), usando 5 repetições de 5 microestacas cada, sendo avaliada a normalidade de todos os dados, submetidos à ANOVA seguida pelo teste de médias de Tukey ( $P < 0,05$ ), realizada pelo software estatístico SISVAR.

Em relação aos resultados do experimento de reaplicação de AIB em estacas de erva-mate, não houve interação entre os fatores, mas houve diferença entre os tratamentos de AIB. O tratamento sem o regulador de crescimento promoveu a maior sobrevivência e enraizamento (não diferenciou de 2.000 mg de AIB). Apesar de promover maior número de raízes em estaca enraizadas, não é recomendável a reaplicação do AIB na estaquia de erva-mate.

**Tabela 1.** Sobrevivência (%), enraizamento (%) e número de raízes em estacas de erva-mate após reaplicação de ácido indolbutírico (AIB). \* Diferenças pelo teste de Tukey a 5% de erro.

Tratamento	Sobrevivência (%)	Enraizamento (%)	Número de raízes
Controle	22,5 a*	17,5 a	3,4 b
2.000 mg L <sup>-1</sup> AIB	15,0 b	15,0 a	5,5 b
4.000 mg L <sup>-1</sup> AIB	10,0 b	10,0 b	7,5 ab
6.000 mg L <sup>-1</sup> AIB	2,5 c	2,5 c	9,2 a

Para os resultados do experimento que testou o estabelecimento *in vitro*, na avaliação realizada aos 6 dias, somente o tratamento sem sais apresentou microestacas sem contaminação e oxidação (64%) (Figura 1). Os demais tratamentos já apresentaram 100% de contaminação ou oxidação fenólica. Contudo, a quantidade de microestacas sem contaminação e oxidação foi reduzindo com o passar dos dias de cultivo, reduzindo para 40% aos 8 dias, 16% aos 10 dias e na avaliação dos 12 dias não houve mais microestacas sem contaminação. Essa elevada contaminação é comum em espécies arbóreas, reconhecidas pela dificuldade de estabelecimento e cultivo *in vitro*. Contudo, o estabelecimento *in vitro* em meios de cultura menos ricos em nutrientes pode ser uma alternativa, sendo necessários ajustes de protocolos, principalmente de desinfestação prévia, como aplicação de fungicidas.



**Figura 1.** Oxidação e contaminação em microestacas de erva-mate submetidas a diferentes concentrações do meio de cultura MS.\* Figura refere-se somente ao tratamento sem sais (somente água, ágar e sacarose)

**Palavras-chave:** Propagação assexuada. Erva mate. Propagação *in vitro*.