

SUBSTÂNCIAS HÚMICAS E 2-ISOPENTENILADENINA NA MULTIPLICAÇÃO *IN VITRO* DE MIRTILEIRO 'WOODARD'

BRUNA ANDRESSA DOS SANTOS OLIVEIRA¹; PATRÍCIA MACIEJEWSKI²;
ALINE RAMM²; MARILAINÉ GARCIA DE MATTOS²; MÁRCIA WULFF SCHUCH²;
ADRIANE MARINHO DE ASSIS³

¹Universidade Federal de Pelotas – brunah.andressa@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – pmaciejewski0111@gmail.com; alineramm@yahoo.com.br;
marimattos1@outlook.com;

³Universidade Federal de Pelotas – agroadri17@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

O mirtileiro (*Vaccinium* spp.) é uma frutífera originária de algumas regiões da Europa e América do Norte, onde é muito apreciada por seu sabor exótico, pelo valor econômico e por suas propriedades medicinais, sendo considerada como “fonte de longevidade” (RUFATO; ANTUNES, 2016).

No Brasil essa cultura encontra-se em fase de desenvolvimento, ocasião em que se busca um sistema de produção eficiente e competitivo para inserir o país no rol dos grandes produtores mundiais (RUFATO; ANTUNES, 2016). Para tanto, é primordial a utilização de mudas de qualidade nas áreas de cultivo.

Uma alternativa para aumentar a disponibilidade de mudas é o uso da micropropagação (DAMIANI; SCHUCH, 2009), que além de possibilitar a produção de grande quantidade de plantas em curto período de tempo, permite a obtenção de plantas livres de doenças e a propagação de espécies difíceis de serem multiplicadas por outros métodos (GRATTAPAGLIA; MACHADO, 1998).

Para que o processo de multiplicação *in vitro* ocorra de maneira satisfatória é necessário um rigoroso controle de fatores, como o balanço hormonal (PASA et al., 2012). Segundo SCHUCH e ERIG (2005), o uso de reguladores de crescimento, juntamente com as formulações básicas dos meios de cultura é imprescindível para que se obtenha êxito na propagação de algumas culturas *in vitro*. Dentre os reguladores de crescimento, o 2iP (2-isopenteniladenina) é comumente utilizado para espécies de mirtileiro, por promover um desenvolvimento superior em relação a outras citocininas (SCHUCH et al., 2008).

Visando otimizar a micropropagação também é possível utilizar substâncias húmicas, como os ácidos húmicos, fúlvicos e húminas, que são bioestimulantes (TREVISAN et al., 2010), além de serem fontes de nutrientes, disponibilizando carbono, nitrogênio, fósforo e enxofre (SILVA et al., 2015). Assim, estimulam o crescimento de plântulas quando usadas em concentrações relativamente pequenas (AGUIAR et al. 2013).

Como são escassas as informações sobre o uso dessas substâncias na micropropagação de mirtileiro, o objetivo do trabalho foi avaliar o uso de 2iP, bem como concentrações de substâncias húmicas na etapa de multiplicação *in vitro* da cultivar 'Woodard'.

2. METODOLOGIA

O experimento foi realizado no período de outubro a dezembro de 2018, no Laboratório de Propagação de Plantas Frutíferas da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel-UFPEL, localizada no município de Capão do Leão-RS.

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, em esquema bifatorial, sendo os fatores: presença (100 mg L⁻¹) ou ausência (0 mg L⁻¹) de 2-isopenteniladenina (2iP) e concentrações de substâncias húmicas (0; 1; 2; 3 mg L⁻¹).

1), totalizando oito tratamentos com cinco repetições, sendo utilizados cinco explantes por cada repetição.

Em relação às substâncias húmicas, foi usado o produto comercial Solohumics® com a seguinte composição: ácido húmico (25%), ácido fúlvico (5%), matéria orgânica (59%), carbono orgânico total (31%) e potássio (3%).

Para a multiplicação, os explantes de mirtilheiro 'Woodard' previamente estabelecidos in vitro foram cultivados em meio WPM (Wood Plant Media - LOYD; McCOWN, 1980), contendo 0,1 g L⁻¹ de mio-inositol, 30 g L⁻¹ de sacarose, 6g L⁻¹ de ágar; adicionando o 2iP e as concentrações de substâncias húmicas, conforme o tratamento. O pH foi ajustado para 5,0 e, posteriormente, foram distribuídos 30 mL do meio em frascos de vidro de 250 mL. Logo após, realizou-se a autoclavagem a 120°C e 1,5 atm de pressão por 20 minutos.

Em seguida, foi realizada a transferência dos explantes para os frascos em câmara de fluxo laminar, sendo a tampa dos mesmos vedada com papel alumínio e filme plástico transparente. Após, foram mantidos em sala de crescimento com fotoperíodo de 16 horas, temperatura de 25±2°C e intensidade luminosa de 27 µmol m⁻² s⁻¹.

Aos 60 dias, as variáveis avaliadas foram: % de sobrevivência, comprimento da parte aérea (cm) e massa de matéria seca da parte aérea (g). As mensurações de comprimento foram realizadas com o uso de uma régua graduada. Para a obtenção da massa de matéria seca foi feita a secagem em estufa a 50°C até peso constante e após determinada através da utilização de uma balança de precisão.

Os dados foram submetidos à análise de variância através do teste F (p≤0,05). Constatando-se significância estatística, as médias das variáveis para os efeitos da presença ou ausência de 2iP foram comparados pelo teste t (p≤0,05) e para as concentrações de substâncias húmicas pelo teste de Tukey (p≤0,05).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em relação à sobrevivência, foi constatada 100%, ou seja, todos os explantes sobreviveram aos efeitos dos tratamentos. Quanto ao comprimento da parte aérea, também não houve significância estatística entre os tratamentos. Já em relação ao número de folhas houve interação entre os tratamentos testados (Tabela 1).

De acordo com SCHUCH e ERIG (2005), um dos principais aspectos para a viabilização da micropropagação como método de produção de mudas é a alta sobrevivência das plantas. A sobrevivência está relacionada a fatores como o correto balanço hormonal e a adequada assepsia durante o processo de micropropagação.

Quanto ao comprimento da parte aérea, apesar de não haver significância estatística entre os tratamentos, é possível observar que estes resultados reforçam os efeitos das substâncias húmicas nas características da parte aérea, não sendo necessária a aplicação de nenhum tipo de regulador de crescimento (Figura 1). Para REIS et al. (2008), a altura desempenha importante papel na sobrevivência e desenvolvimento da planta, considerando-se a relação altura/diâmetro do colo na ocasião do transplântio das mudas para o campo.

Para a massa de matéria seca, comparando a presença ou ausência de 2iP em relação as concentrações de substâncias húmicas, verifica-se que sem 2iP no meio de cultura registrou-se maior massa em comparação ao cultivo com a presença de 2iP, independente da concentração de substância húmica utilizada;

entretanto, não houve diferença estatística na ausência e na concentração de 1 mg L⁻¹ de substância húmica com o uso de 2iP no meio de cultura (Tabela 1).

Tabela 1 – Comprimento da parte aérea (cm) e massa de matéria seca (g) de mirtilheiro 'Woodard' multiplicado *in vitro*, em função do uso de regulador de crescimento 2iP e das concentrações de substâncias húmicas. UFPEL, Pelotas-RS, 2020.

Regulador de crescimento (2iP)	Concentrações de substâncias húmicas (mg L ⁻¹)			
	0	1	2	3
Comprimento da parte aérea (cm)				
Presença	6,78 ^{NS}	7,05 ^{NS}	6,57 ^{NS}	6,47 ^{NS}
Ausência	6,97	6,58	6,97	7,10
CV(%)	25,87	19,32	15,68	21,51
Massa de matéria seca (g)				
Presença	0,13 aA	0,12 aA	0,08 bB	0,07 bB
Ausência	0,10 bB	0,17 aA	0,15 aA	0,16 aA
CV(%)	33,90	6,33	21,86	13,72

1/ Médias acompanhadas por mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste t (p≤0,05) comparando o uso de 2iP e maiúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey (p≤0,05) comparando as concentrações de SH. ^{NS}: não significativo. CV (%): coeficiente de variação.

Na análise das concentrações de substâncias húmicas em relação a presença ou ausência de 2iP, a maior massa de matéria fresca foi obtida na concentração de 1 mg L⁻¹ de substância húmica, não diferindo estatisticamente das concentrações de 2 e 3 mg L⁻¹, na ausência do uso de 2iP e também das concentrações de 0 e 1 mg L⁻¹ de substância húmica no tratamento com a presença de 2iP (Tabela 1).

FERNÁNDEZ et al. (2014), testando ácidos húmicos em substituição do uso de AIB e BAP na multiplicação *in vitro* de bananeira (*Musa* sp.), observaram que a utilização de 10 e 30 mg L⁻¹ permite que as plantas estejam prontas e possam ir direto da fase de multiplicação para a aclimatização, reduzindo assim os custos de produção da micropropagação.

Em síntese, o uso de substâncias húmicas na multiplicação *in vitro* de mirtilheiro 'Woodard' é uma alternativa promissora, pois a utilização destas substâncias proporcionou um incremento no crescimento das plantas, além de não haver a necessidade do uso de reguladores de crescimento e, consequentemente, contribuir com a redução de custos.

4. CONCLUSÃO

A multiplicação *in vitro* de mirtilheiro 'Woodard' pode ser realizada com o uso de 1 mg L⁻¹ de substâncias húmicas, sem 2-isopenteniladenina.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUIAR, N. O.; OLIVARES, F. L.; NOVOTNY, E. H.; DOBBSS, L. B.; BALMORI,

D. M.; SANTOS-JÚNIOR, L. G.; CANELLAS, L. P. Bioactivity of humic acids isolated from vermicomposts at different maturation stages. **Plant and Soil**, Netherlands, 362, n.1-2, p.161-174, 2013.

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.

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M.A. Micropropagação. *In*: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas** (Vol. 1). Embrapa-SPI: Embrapa-CNPq. v.1, p.183-260. 1998.

LLOYD, G.; McCOWN, B. Commercially feasible micropropagation of mountain laurel (*Kalmia latifolia*) by use of shoot-tip culture. **Proceedings of the International Plant Propagation Society**. Seattle, USA, 1980. p. 421-427.

PASA, M. DA S., CARVALHO, G.C., SCHUCH, M.W., SCHMITZ, J.D., TORCHELSEN, M. DE M., NICKEL, G.K., SOMMER, L.S., LIMA, T.S., CAMARGO, S.S. Qualidade de luz e fitorreguladores na multiplicação e enraizamento *in vitro* da amoreira-preta 'Xavante'. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.42, n.8, p.1392-1396, 2012.

REIS, E. R.; LÚCIO, A. D. C.; FORTES, F. O.; LOPES, S. J.; SILVEIRA, B. D. Período de permanência de mudas de *Eucalyptus grandis* em viveiro baseado em parâmetros morfológicos. **Revista Árvore**, Viçosa, v.32, n.5, p. 809-814, 2008.

RUFATO, A. R.; ANTUNES, L. E. C. **Técnicas de produção de framboesa e mirtilo**. Embrapa Clima Temperado, 92 p. 2016.

SCHUCH, M. W.; DAMIANI, C. R.; SILVA, L. C.; ERIG, A. C. Micropropagação como técnica de rejuvenescimento em mirtilo (*Vaccinium ashei* Reade) cultivar climax. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 32, n. 3, p. 814-820, 2008.

SCHUCH, M. W.; ERIG, A. C. Micropropagação de plantas frutíferas. *In*: FACHINELLO, J. C. **Propagação de plantas frutíferas**. Brasília: DF: Embrapa Informação Tecnológica. p.155-173. 2005.

SILVA, M.A.C.; SANTOS, W.O.; SIMOURA, N.T.; TESCH, J.A.; RUAS, K.F.; COLODETE, C.M.; TANNURE, F.P.; BARBIRATO, J.O.; RAMOS, A.C.; DOBBS, L.B. Ácidos húmicos de vermicomposto estimulam o crescimento *in vitro* de plântulas de *Cattleya warnieri* (Orchidaceae). **Rodriguésia**, Rio de Janeiro, v. 66, n. 3, p. 759-768, 2015.

TREVISAN, S.; PIZZEGHELLO, D.; RUPERTI, B.; FRANCIOSO, O.; SASSI, A.; PALME, K.; QUAGGIOTTI, S.; NARDI, S. Humic substances induce lateral root formation and expression of the early auxinresponsive IAA19 gene and DR5 synthetic elemento in *Arabidopsis*. **Plant Biology**, Berlin, v.12, p. 604-614, 2010.

FERNÁNDEZ, M. B. M.; COSIO-VARGAS, L. E.; MONTERO, D. C.; GARCÍA, A. C.; LÓPEZ, D. M. Potentiality of vermicompost humic acids in banana *in vitro* micropropagation clone: Enano Guantanamero. **Journal of Environmental Science and Engineering**, v. 2 n.11A, 2014.