

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**

**MICROPROPAGAÇÃO E MINIESTAQUIA NA
PROPAGAÇÃO DE BATATA**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Maurício Guerra Bandinelli

Santa Maria, RS, Brasil

2009

MICROPROPAGAÇÃO E MINIESTAQUIA NA PROPAGAÇÃO DE BATATA

por

Maurício Guerra Bandinelli

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Área de concentração em Produção Vegetal, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Agronomia.**

Orientador: Prof. Dilson Antônio Bisognin

Santa Maria, RS, Brasil

2009

B214m	<p>Bandinelli, Maurício Guerra, 1984-</p> <p>Micropropagação e miniestaquia na propagação de batata / por Maurício Guerra Bandinelli ; orientador Dilson Antônio Bisognin. - Santa Maria, 2009. 59 f. ; il.</p> <p>Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Santa Maria, Centro de Ciências Rurais, Programa de Pós-Graduação em Agronomia, RS, 2009.</p> <p>1. Agronomia 2. <i>Solanum tuberosum</i> L. 3. Micropropagação 4. Aclimatização 5. Miniestaquia I. Bisognin, Dilson Antônio, orient. II. Título</p> <p>CDU: 635.21/.24</p>
-------	---

Ficha catalográfica elaborada por
Luiz Marchiotti Fernandes – CRB 10/1160
Biblioteca Setorial do Centro de Ciências Rurais/UFSM

© 2009

Todos os direitos autorais reservados a Maurício Guerra Bandinelli. A reprodução de partes ou do todo deste trabalho só poderá ser feita com autorização por escrito do autor.

Endereço: R. Major Duarte, n. 60, apto 101, Bairro Dores, Santa Maria, RS, 97050-460.

End. Eletr: mgband2002@yahoo.com.br

**Universidade Federal de Santa Maria
Centro de Ciências Rurais
Programa de Pós-Graduação em Agronomia**

A Comissão Examinadora, abaixo assinada,
aprova a Dissertação de Mestrado

**MICROPROPAGAÇÃO E MINIESTAQUIA NA PRPAGAÇÃO DE
BATATA**

elaborada por

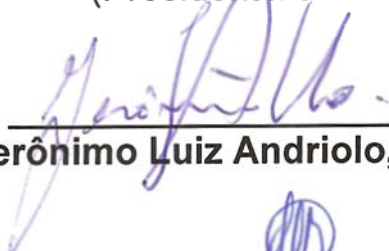
Maurício Guerra Bandinelli

Como requisito parcial para obtenção do grau de
Mestre em Agronomia

COMISSÃO EXAMINADORA:



Dilson Antônio Bisognin, PhD.
(Presidente/Orientador)



Jerônimo Luiz Andriolo, Dr. (UFSM)



Leonardo Ferreira Dutra, Dr. (CPACT - Embrapa)

Santa Maria, 06 de março de 2009.

Aos meus pais Ilio Walter Bandinelli (*in memoriam*) e Zélia Guerra Bandinelli, às minhas irmãs, Liege e Veridiana, aos meus irmãos Duilio e Gustavo, às minhas sobrinhas Nathalie, Mariana e Laura e à minha noiva Michelle Difante Pedrozo, pelos ensinamentos, apoio e confiança,

Dedico...

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela vida.

Aos meus pais Ilio Walter Bandinelli (*in memoriam*) e Zélia Guerra Bandinelli, por todo amor, carinho e ensinamentos.

A minha noiva Michelle Difante Pedrozo, pelo amor, carinho, apoio e sua inesgotável disposição para me ajudar.

Ao professor Dilson Antônio Bisognin, pela orientação, amizade e credibilidade em mim depositada, além da essencial contribuição para minha formação intelectual e científica.

Aos professores Jerônimo Luiz Andriolo e Nereu Augusto Streck, pela co-orientação, amizade e aprendizado.

Aos demais professores do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, pelo conhecimento a mim transferido.

A Universidade Federal de Santa Maria e ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia, pela oportunidade da realização do curso de mestrado.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos.

Ao CNPq pelo apoio financeiro ao Programa de Genética e Melhoramento de Batata da UFSM.

A todas as pessoas que de uma forma ou de outra contribuíram para o meu crescimento, seja ele acadêmico ou pessoal.

Aos funcionários do Departamento de Fitotecnia.

Aos amigos do Departamento de Fitotecnia, em especial a “galera da batata” e da “erva-mate” e também ex-bolsistas do setor de Genética e Melhoramento de Batata, pelo apoio, convívio, amizade e momentos de descontração.

Obrigado !

RESUMO

Dissertação de Mestrado
Programa de Pós-Graduação em Agronomia
Universidade Federal de Santa Maria, RS, Brasil

MICROPROPAGAÇÃO E MINIESTAQUIA NA PROPAGAÇÃO DE BATATA

AUTOR: MAURÍCIO GUERRA BANDINELLI

ORIENTADOR: DILSON ANTÔNIO BISOGNIN

Local e data da Defesa: Santa Maria, 06 de março de 2009

A micropropagação é uma técnica comumente utilizada para a produção de material propagativo de batata livre de doenças. Associada a essa técnica, a miniestaquia de plântulas recém aclimatizadas ou em produção pode ser uma forma de reduzir os custos de produção de minitubérculos de batata. Este trabalho foi conduzido com o objetivo de estudar a micropropagação e a miniestaquia, para maximizar a produção de mudas e minimizar os custos da batata-semente. Dois experimentos foram conduzidos, sendo no primeiro avaliado a micropropagação e aclimatização de plântulas e, no segundo, avaliado a miniestaquia de plantas batata. O primeiro experimento foi conduzido em duas etapas. Em laboratório foi avaliado o crescimento dos explantes em função da combinação de concentrações do meio MS ($\frac{1}{2}$ MS e MS completo), com doses de sacarose (30, 45 e 60 g L⁻¹) em três clones (Asterix, Macaca e SMINIA793101-3). Em telado foi avaliado o efeito dos tratamentos aplicados na micropropagação sobre a aclimatização de plântulas em dois sistemas (flutuação e areia). A miniestaquia foi estudada em três experimentos. Um experimento foi conduzido para avaliar o efeito da solução de irrigação (água, solução nutritiva e a combinação de ambas) e outro a idade da planta matriz (recém aclimatizada e em produção) sobre o enraizamento de miniestacas dos clones Asterix, Macaca e SMINIA793101-3. Um terceiro experimento foi conduzido para avaliar o efeito do ácido indol-butírico (AIB) (0, 300, 600 e 900 mg L⁻¹) no enraizamento das miniestacas do clone Asterix. O meio $\frac{1}{2}$ MS, independente da dose de sacarose, aumenta a sobrevivência das plântulas de batata durante a aclimatização. Tanto o sistema com flutuação, quanto com substrato (areia) podem ser utilizados para a aclimatização de plântulas de batata. Miniestacas apicais podem ser utilizadas para a produção de mudas de batata, no sistema de enraizamento com substrato (areia), irrigadas com água de torneira ou solução nutritiva. O potencial de enraizamento das miniestacas é negativamente afetado pelo avanço da idade fisiológica da planta matriz.

Palavras-chave: *Solanum tuberosum* L., micropropagação, aclimatização, miniestaquia.

ABSTRACT

Master's Thesis
Programa de Pós-Graduação em Agronomia
Universidade Federal de Santa Maria, RS, Brasil

MICRO-PROPAGATION AND MINI-CUTTING IN THE POTATO PROPAGATION

AUTHOR: MAURÍCIO GUERRA BANDINELLI

ADVISOR: DILSON ANTÔNIO BISOGNIN

Place and Date of Defense: Santa Maria, March 6th, 2009

Micro-propagation is a common technique to produce disease free potato materials. Mini-cuttings of just acclimatized plantlets or older plants associated with micro-propagation may reduce production costs of potato mini-tubers. This work was carried out to study the micro-propagation and mini-cutting techniques to maximize the production of mini-tubers and to minimize the costs of potato seeds. Two experiments were conducted, being in the first evaluated the micro-propagation and acclimatization of plantlets and in the second evaluated the mini-cutting of potato plants. The first experiment was conducted in two steps. *In vitro* growth of potato explants were evaluated in two concentrations of MS medium ($\frac{1}{2}$ MS and MS), three sucrose doses (30, 45 and 60 g L⁻¹), and three clones (Asterix, Macaca e SMINIA793101-3). The same treatment combinations were evaluated during plantlet acclimatization in two systems (floating and sand). The mini-cutting was evaluated in three experiments. The effect of irrigation solution (tap water, nutrient solution and the combination) and the physiological age of stock plant (just acclimatized and in mini-tuber production) were evaluated in the mini-cutting rooting of Asterix, Macaca and SMINIA793101-3 clones. A third experiment was carried out to evaluate the effect of indol butyric acid (IBA) (0; 300; 600; 900 ppm) in mini-cutting rooting of Asterix clone. The MS medium with 50% of the salt concentration increases the plantlet survival during acclimatization. The sucrose has no effect on plantlet acclimatization. Both floating and substrate (sand) are suitable systems for acclimatization of potato plantlets. Mini-cuttings root in sand as substrate irrigated with tap water or nutrient solution. Apical mini-cuttings are suitable for the production of potato plantlets. Rooting potential of mini-cuttings is affected by the advance of the physiological age of the stock plant.

Key words: *Solanum tuberosum* L., micro-propagation, acclimatization, mini-cuttings.

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO I

FIGURA 1 – Sistema para aclimatização de plântulas de batata com flutuação (A). Vista superior do sistema (B). Plantas após 15 dias de aclimatização no sistema com flutuação (C). Sistema de aclimatização com uso de substrato (areia) (D). Vista superior do sistema (E). Plântulas após 15 dias de aclimatização em areia (F). Santa Maria, RS, 2007 28

CAPÍTULO II

FIGURA 1 – Miniestacas apicais obtidas de plantas adultas (A). Sistema com substrato (areia) utilizado para o enraizamento das miniestacas de batata (B). Vista geral do sistema de enraizamento (C). Detalhe das miniestacas sendo enraizadas em areia (D). Santa Maria, RS, 2007 39

FIGURA 2 – Número de raízes por miniestacas de batata do clone Asterix em função da aplicação de diferentes concentrações de AIB. Santa Maria, RS, 2008 47

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I

TABELA 1 – Número de raízes e de folhas por plântula de batata após 15 dias de cultivo <i>in vitro</i> . Santa Maria, RS, 2007	30
TABELA 2 – Comprimento da maior raiz de plântulas de batata após 15 dias de cultivo <i>in vitro</i> . Santa Maria, RS, 2007.....	31
TABELA 3 – Comprimento de brotação de plântulas de batata após 15 dias de cultivo <i>in vitro</i> em função da interação clones x MS. Santa Maria, RS, 2007	33
TABELA 4 – Comprimento de brotação de plântulas de batata após 15 dias de cultivo <i>in vitro</i> em função da dose de sacarose. Santa Maria, RS, 2007.....	33
TABELA 5 – Porcentagem de sobrevivência de plântulas de três clones de batata oriundos da micropropagação após 15 dias de aclimatização nos sistemas com flutuação e com substrato. Santa Maria, RS, 2007	34
TABELA 6 – Porcentagem de sobrevivência de plântulas de batata após 15 dias de aclimatização em função da dose de sacarose e da variação nos sais do meio MS. Santa Maria, RS, 2007.....	35

CAPÍTULO II

TABELA 1 – Porcentagem de sobrevivência, porcentagem de enraizamento, número médio de raízes e comprimento médio da maior raiz de miniestacas apicais de três clones de batata, enraizadas durante 15 dias em areia, sendo irrigadas com água (AG) e solução nutritiva (SN). Santa Maria, RS, 2007.....	42
---	----

TABELA 2 – Porcentagem de sobrevivência, porcentagem de enraizamento, número médio de raízes e comprimento médio da maior raiz de miniestacas apicais de três clones de batata, enraizadas durante 21 dias em areia, com um dos tratamentos sendo irrigação com água somente 10 dias, passando após para solução nutritiva e o outro somente irrigação com solução nutritiva durante 21 dias. Santa Maria, RS, 2007.....	43
TABELA 3 – Porcentagem de sobrevivência de miniestacas apicais de três clones de batata em função da idade das plantas matrizes (jovens = 15 dias de aclimatização; adultas = em produção), após 21 dias de enraizamento. Santa Maria, RS, 2008	45
TABELA 4 – Porcentagem de enraizamento, número médio de raízes e comprimento médio da maior raiz, para miniestacas apicais de três clones de batata em função da idade das plantas matrizes (jovens = 15 dias de aclimatização; adultas = em produção), após 21 dias de enraizamento. Santa Maria, RS, 2008	46

LISTA DE APÊNDICES

APÊNDICE A – Plântulas de batata aclimatizadas em sistema com flutuação (A) e em sistema com substrato (areia) (B). Sistema para enraizamento de miniestacas de plantas de batata (C). Detalhe das miniestacas sendo enraizadas (D). Miniestacas após 21 dias de enraizamento em areia, prontas para o plantio (E1 e E2)	59
--	----

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL	13
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	15
2.1 Origem e importância da cultura da batata	15
2.2 Situação da produção de batata no Brasil	15
2.3 Uso da cultura de tecidos em batata	16
2.3.1 Cultura de ápice caulinar	17
2.3.2 Micropropagação de plantas	17
2.3.3 Sacarose como fonte de energia	18
2.3.4 Aclimatização das plântulas	19
2.4 Produção de mudas de batata por miniestaquia	21
2.5 Produção de minitubérculos de batata	22
3 CAPÍTULO I – Meio de cultura e aclimatização de plântulas na micropropagação de batata	24
3.1 Introdução	24
3.2 Material e Métodos	26
3.3 Resultados e Discussão	29
3.4 Conclusões	35
4 CAPÍTULO II – Miniestaquia na propagação da batata	36
4.1 Introdução	36
4.2 Material e Métodos	38
4.2.1 Solução de irrigação	39
4.2.2 Idade da planta matriz	40
4.2.3 Aplicação do ácido indol-butírico	41
4.3 Resultados e Discussão	41
4.3.1 Solução de irrigação	42
4.3.2 Idade da planta matriz	44
4.3.3 Aplicação do ácido indol-butírico	46
4.4 Conclusões	48
5 DISCUSSÃO GERAL	49
6 CONCLUSÕES GERAIS	51
7 REFERÊNCIAS	52

1 INTRODUÇÃO GERAL

A batata é uma das culturas alimentícias mais importantes no mundo (FAO, 2008), sendo no Brasil a hortaliça mais cultivada (IBGE, 2008). Essa cultura é caracterizada pela propagação vegetativa através dos tubérculos. Em consequência, exige a renovação periódica do material propagativo, pois a batata-semente sofre degenerescência em função da contaminação cumulativa por fungos, bactérias e vírus, que a cada cultivo são transmitidos para a geração futura e contribuem para a redução do potencial produtivo da lavoura (FORTES; PEREIRA, 2003).

No entanto, para que materiais propagativos livres de patógenos possam ser produzidos, existe a possibilidade de utilização da semente verdadeira (botânica) ou a cultura de tecidos, obtendo-se assim plantas saudáveis. O uso de sementes verdadeiras para multiplicação da batata normalmente é empregado em trabalhos de melhoramento da espécie, pois este tipo de material implica em uma alta variabilidade genética das plantas produzidas, impossibilitando o uso em lavouras comerciais (PEREIRA; FORTES, 2004). Assim, a cultura de tecidos, por meio do cultivo de ápices caulinares e da micropropagação, tem sido bastante empregada na batata (ASSIS, 1999), pois ao obter-se uma planta livre de patógenos, principalmente vírus, essa pode ser micropropagada em grande escala.

A micropropagação, apesar de ser muito utilizada na cultura da batata, ainda é uma tecnologia com custos elevados, que se reflete em um alto preço pago pelos produtores no momento da aquisição da batata-semente. Uma das fases críticas e que colabora para o aumento dos custos é o momento em que as plântulas passam da condição *in vitro* para a *ex vitro*, etapa denominada de aclimatização. Isso se deve ao fato das plântulas cultivadas *in vitro* apresentarem um comportamento heterotrófico, por estarem em um ambiente livre de qualquer tipo de estresse e com elevada disponibilidade de água e nutrientes, fazendo com que as plântulas apresentem anatomia, morfologia e fisiologia anormais.

Portanto, é de extrema importância a busca de novas alternativas que venham contribuir para o aumento da produtividade da batata-semente com elevada qualidade sanitária e de reduzido custo de produção, a fim de aumentar a taxa de utilização desse tipo de material pelos produtores. Um dos aspectos relevantes é a

necessidade de desenvolver protocolos mais eficientes de micropropagação e aclimatização de plântulas, que permitam diminuir custos e a mortalidade das mudas durante a passagem do ambiente *in vitro* para o *ex vitro*, reduzindo o desperdício de material propagativo de alta qualidade fitossanitária e genética.

Outra técnica que vem sendo estudada para aumentar a disponibilidade de batata-semente é o enraizamento de miniestacas. Para isso, plantas em produção de batata-semente (SILVA, 1987), plantas recém aclimatizadas (PEREIRA; FORTES, 2004), e até brotos destacados de tubérculos-semente (GIUSTO, 2006) podem ser utilizados como propágulos. A produção de mudas a partir da estaquia já é uma técnica comum para muitas espécies cultivadas, sendo considerado o procedimento mais econômico para a produção de mudas em grande escala.

Este trabalho foi conduzido com o objetivo de estudar a micropropagação e a miniestaquia, para maximizar a produção de mudas e minimizar os custos da batata-semente. Especificamente foram avaliados, em três clones de batata, o efeito de variações no meio MS e da sacarose na aclimatização de plântulas; a eficiência de dois sistemas de aclimatização; a melhor solução para irrigação no enraizamento de miniestacas; e a influência da idade fisiológica da planta matriz sobre o enraizamento das miniestacas; e, para o clone Asterix, o uso do ácido indol-butírico no enraizamento de miniestacas.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Origem e importância da cultura da batata

A batata é nativa da América do Sul, mais precisamente da Cordilheira dos Andes, onde é cultivada há mais de 7000 anos. Pertencente à família Solanácea, gênero *Solanum*, o qual contém mais de 2000 espécies, das quais mais de 150 produtoras de tubérculos. Cerca de 200 espécies silvestres de batata e 20 cultivadas são conhecidas. Dentre as cultivadas, a mais importante economicamente produzida no mundo é a espécie *Solanum tuberosum* L. (HAWKES, 1994). Sua difusão para o mundo começou a partir do ano de 1570 quando a batata foi levada da América para a Europa por meio dos colonizadores espanhóis, sendo que por volta de 1620 foi levada da Europa para a América do Norte onde se tornou alimento popular (LOPES; BUSO, 1997).

Atualmente a batata é considerada uma das culturas alimentícias mais importantes para a humanidade, ocupando o quarto lugar em produção, sendo superada apenas pelo milho, trigo e arroz (FAO, 2008). No ano de 2007 no mundo foram cultivados mais de 19,3 milhões de hectares de batata, com uma produção ao redor de 321,7 milhões de toneladas e uma produtividade média de 16,64 t ha⁻¹ (FAO, 2008). Por ser uma cultura promissora no combate a fome no mundo, em virtude de seus inúmeros aspectos positivos, tanto produtivos quanto nutricionais, o ano de 2008 foi eleito pela FAO (Food and Agriculture Organization) como o Ano Internacional da Batata.

2.2 Situação da produção de batata no Brasil

No Brasil, a intensificação do cultivo da batata, assim como de outras hortaliças, ocorreu na década 20, no cinturão verde de São Paulo (LOPES; BUSO, 1997). Atualmente é a hortaliça mais cultivada, principalmente nas regiões sul e

sudeste. Em 2007 a área plantada com batata no Brasil foi de 147.800 ha, com uma produtividade média de 24,03 t ha⁻¹ (IBGE, 2008), sendo que os estados de Minas Gerais, São Paulo, Paraná, Rio Grande do Sul, Bahia e Santa Catarina foram responsáveis por 95,8% da produção nacional de batata. No entanto, a produtividade média das lavouras brasileiras está bem abaixo da produtividade das lavouras da Europa, as quais produzem acima de 40 t ha⁻¹. A implantação das lavouras com tubérculos-semente de baixa qualidade fitossanitária, pela escassez de material certificado, é um dos principais fatores que tem afetado negativamente a produtividade (KIM et al., 2000; MEDEIROS et al., 2002). Estima-se que no Brasil 13% da produção de batata é utilizada como batata-semente. Deste montante, apenas 20% a 30% é batata-semente certificada (FORTES; PEREIRA, 2003).

A multiplicação da batata é vegetativa, por meio de caules modificados chamados de tubérculos. Um dos grandes problemas deste método de reprodução assexuada é a vulnerabilidade a infecções por patógenos como fungos, bactérias e principalmente vírus, que a cada ciclo vegetativo são transmitidos para a próxima geração, contribuindo para a degeneração da cultura (FORTES; PEREIRA, 2003). Acredita-se que somente o uso de material propagativo livre de doenças poderia elevar em até 50% a produtividade de uma lavoura de batata (ASSIS, 1999). Portanto, a utilização de material propagativo de alta qualidade fitossanitária para instalação das lavouras é um requisito indispensável para a cadeia produtiva da batata (PEREIRA et al., 2005).

2.3 Uso da cultura de tecidos em batata

A cultura de tecidos compreende basicamente três etapas. A etapa I refere-se à seleção dos explantes, desinfestação e cultura em meio nutritivo sob condições assépticas; a etapa II compreende a multiplicação dos propágulos por sucessivos subcultivos em meio apropriado para a multiplicação; a etapa III engloba a transferência dos brotos produzidos para um meio de enraizamento e subsequente transplântio das plântulas obtidas para um substrato adequado (MURASHIGE, 1974). Nessa etapa, a planta passa de uma situação de reduzido fluxo transpiratório, devido à baixa irradiância e à elevada umidade relativa, para um ambiente que

demanda um incremento na taxa de transpiração, ficando muito suscetível ao estresse hídrico. Por este motivo, existe a necessidade de que a planta passe por um processo de aclimatização, para que os mecanismos de regulação estomática e fotossintética sejam reestruturados e a planta tenha condições de sobreviver por conta própria.

A cultura de tecidos, pela técnica da cultura de ápices caulinares, tem sido bastante empregada na obtenção de plantas livres de patógenos, como fungos, bactérias e vírus, pois a partir do momento em que uma planta sadia é obtida, essa pode ser micropropagada em grande escala.

2.3.1 Cultura de ápice caulinar

Na falta de um produto químico capaz de erradicar vírus de plantas infectadas, o cultivo de ápices caulinares vem sendo utilizado há vários anos para eliminação desses patógenos a fim de obter material de multiplicação com alta qualidade fitossanitária (TORRES et al., 1998a). Essa técnica consiste na excisão da cúpula meristemática apical com um ou dois primórdios foliares, onde possivelmente ainda não haja conexão vascular com os tecidos da planta, podendo ser cultivado em meio de cultura adequado para a diferenciação dos tecidos caulinar e radicular (TORRES et al., 1998b). Essa ferramenta da cultura de tecidos pode ser utilizada para propagação de plantas *in vitro*, recuperação de plantas livres de vírus, conservação e intercâmbio de germoplasma, com a vantagem da manutenção das características genéticas da planta matriz (FERREIRA et al., 1998).

2.3.2 Micropropagação de plantas

A micropropagação, assim denominada pelo tamanho dos propágulos utilizados, é uma das mais importantes aplicações da cultura de tecidos e tem grande impacto comercial. A micropropagação permite a multiplicação massal de um genótipo selecionado e a obtenção de um grande número de plantas sadias e de

alta qualidade em pequeno espaço físico, curto período de tempo e ao longo de todo o ano (GRATTAPAGLIA; MACHADO, 1998; GUERRA et al., 1999). Essa técnica vem sendo amplamente utilizada na cultura da batata, especialmente na produção de material propagativo com elevada qualidade sanitária, proporcionando benefícios diretos aos produtores pelo conseqüente aumento da produtividade das lavouras (ASSIS, 1999).

A micropropagação é uma ferramenta bastante útil, mas seu uso ainda é limitado em função dos custos elevados de equipamentos e reagentes laboratoriais e pela baixa taxa de crescimento *in vitro* e problemas de sobrevivência durante o período de aclimatização que algumas espécies apresentam (KOZAI et al., 1997; GUERRA et al., 1999). Grande parte das pesquisas tem direcionado esforços para otimizar os estágios de desenvolvimento *in vitro*, sendo que o processo de aclimatização em condições *ex vitro* continua pouco estudado (HAZARIKA, 2003).

2.3.3 Sacarose como fonte de energia

Para muitas espécies, a sacarose é adicionada ao meio de cultura para atuar como fonte exógena de energia, uma vez que células, tecidos e plantas cultivadas *in vitro* não encontram condições adequadas de iluminação e concentração de CO₂ e, às vezes, não apresentam teores de clorofila suficientes para realizarem a fotossíntese que sustenta o crescimento (DALTON; STREET, 1977). Essa fonte de energia pode se tornar importante durante o período de aclimatização *ex vitro*, pois as plantas podem metabolizar os assimilados estocados (amido), enquanto o aparato fotossintético é reestruturado (CAPELLADES et al., 1991).

A dose ideal de sacarose a ser adicionada ao meio de cultura com a finalidade de promover o aumento da sobrevivência das plantas durante a fase de aclimatização pode variar em função da espécie estudada e até mesmo dentro da mesma espécie devido a fatores genéticos (HAZARIKA, 2003). Plantas de amendoim (*Arachis retusa* Krapov., W.C. Greg. & Valls) apresentaram uma diminuição na sobrevivência durante a aclimatização *ex vitro*, quando o meio de cultivo foi suplementado com 60 g L⁻¹ de sacarose. No entanto, altos índices de sobrevivência foram obtidos quando o meio de cultura foi suplementado com 15 e 30

g L⁻¹ de sacarose (PACHECO et al., 2006). Já para as culturas de trigo e nabo, 50 e 90 g L⁻¹ de sacarose adicionada ao meio de cultura, respectivamente, foram as concentrações que promoveram o maior crescimento *in vitro* e também a maior eficiência na transferência das plantas para a condição *ex vitro* (VORÁČKOVÁ et al., 1998). Para a espécie *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen cultivada *in vitro*, as concentrações de sacarose variando de 45 a 60 g L⁻¹ promoveram os maiores índices de aclimatização (SKREBSKY et al., 2006).

Plântulas de coco (*Cocos nucifera* L.) crescendo em meio de cultura suplementado com 90 g L⁻¹ de sacarose tiveram a atividade fotossintética reduzida, porém apresentando alta sobrevivência quando transferidas para a condição *ex vitro*. Quando a sacarose foi suprimida do meio de cultura, as plântulas apresentaram aumento da atividade fotossintética, mas não sobreviveram por muito tempo na condição *ex vitro*. As concentrações moderadas de sacarose decresceram a fotossíntese, mas promoveram um aumento na sobrevivência de plântulas, sugerindo que as reservas acumuladas, tanto pela fotossíntese realizada *in vitro* quanto as advindas da sacarose exógena, contribuíram para a sobrevivência *ex vitro* das plântulas de coco (FUENTES et al., 2005).

Para plântulas de morangueiro, batata, videira e menta o aumento da dose da sacarose de 0 a 60 g L⁻¹ afetou a sobrevivência durante a aclimatização, sendo que os melhores resultados foram obtidos com 30 e 45 g L⁻¹ (RIQUELME et al., 1991).

2.3.4 Aclimatização das plântulas

A aclimatização pode ser definida como a transferência da plântula da condição *in vitro* para o ambiente natural ou intermediário, como casa de vegetação (DEBERGH; MAENE, 1981). Neste processo, é imprescindível a manutenção de elevada umidade e temperaturas amenas para que as plantas sobrevivam (MACIEL et al., 2000). Em artigos científicos são encontrados os termos aclimatação e aclimatização sendo utilizados como sinônimos. A aclimatação refere-se ao processo em que as plantas ou outros organismos vivos se ajustam ou se adaptam a uma nova condição de clima ou situação, como resultado de um processo de seleção (PREECE; SUTTER, 1991), ou seja, a aclimatação é um processo regulado

pela natureza, enquanto que aclimatização seria aquele controlado pelo homem (GEORGE, 1993).

A aclimatização é considerada uma etapa crítica da micropropagação e se apresenta, em alguns casos, como limitante ao uso desta técnica. Isso se deve basicamente ao fato de que as plantas passam da condição *in vitro*, onde apresentam um comportamento heterotrófico, para uma condição *ex vitro*, onde necessitam apresentar um comportamento autotrófico. A heterotrofia deve-se basicamente ao fornecimento externo de energia pela sacarose adicionada ao meio de cultura, a alta disponibilidade de nutrientes, ao ambiente livre de patógenos e ao reduzido fluxo transpiratório em função da baixa intensidade luminosa e elevada umidade relativa que as plantas estão expostas (GRATTAPAGLIA; MACHADO, 1998). No ambiente *ex vitro*, a planta é submetida a uma condição de alta demanda transpiratória e necessita realizar fotossíntese e absorver água e nutrientes para sobreviver. Essas condições especiais durante o processo de micropropagação produzem plantas com morfologia, anatomia e fisiologia anormais (POSPÍŠILOVÁ et al., 1999), que se tornam importantes quando as plantas são transferidas para condição *ex vitro*, sendo necessário, então, o período de aclimatização até que estas anormalidades sejam corrigidas. As dificuldades encontradas durante a aclimatização são causadas, particularmente, pelo retardamento do desenvolvimento da cutícula, ceras epicuticulares e aparato estomatal, levando a uma alta condutância estomática e alta transpiração cuticular e estomatal das plantas (POSPÍŠILOVÁ et al., 1992, 1998, 1999).

Como forma de reduzir a mortalidade de plantas durante a aclimatização, modificações nas últimas etapas da micropropagação e as conseqüências na sobrevivência *ex vitro* tem sido investigados por diversos autores. Essas modificações incluem o cultivo em meio de cultura com diferentes concentrações de sacarose, variações na intensidade luminosa, redução na umidade, trocas gasosas e aumento na concentração de CO₂ nos recipientes de cultivo (SHIM et al., 2003).

Além dessas modificações, outro fator que pode influenciar a aclimatização das plantas é o substrato a ser utilizado, pois dependendo das propriedades físico-químicas este pode facilitar ou impedir o crescimento (SKREBSKY et al., 2006). O substrato deve ter boa capacidade de retenção de umidade e não compactar excessivamente, pois isso comprometeria a drenagem e aeração do sistema radicular. A preferência é que o substrato seja quimicamente inerte, para que os

nutrientes sejam oferecidos de acordo com as necessidades da espécie (GRATTAPAGLIA; MACHADO, 1998). Em um trabalho de aclimatização de plantas de amendoim foi observada maior sobrevivência de plantas quando areia foi utilizada como substrato, em comparação ao substrato comercial, não havendo, inclusive, a necessidade de utilização de solução nutritiva (PACHECO et al., 2006).

2.4 Produção de mudas de batata por miniestaquia

Mudas micropropagadas e aclimatizadas e até plantas em produção de batata-semente podem ser utilizadas como fonte de miniestacas apicais e de segmentos nodais para posterior propagação. Esse tipo de produção de mudas já é comumente utilizado no cultivo comercial de espécies ornamentais folhosas (BLYTHE et al., 2004) e tem se mostrado promissora para outras culturas, pois permite o aumento do número de plantas produzidas a partir de um genótipo de interesse (WASSNER; RAVETTA, 2000). A grande vantagem dessa técnica é a manutenção da constituição genética durante as sucessivas gerações (FERNANDES et al., 2004).

Quanto à capacidade de enraizamento, tem sido observado que estacas de algumas espécies enraízam prontamente sem a necessidade de tratamento com auxinas, enquanto estacas de outras espécies são beneficiadas com esse tratamento, devido o aumento da percentagem de enraizamento. Os benefícios obtidos pelo uso de promotores de enraizamento irão depender da espécie e até mesmo da cultivar, da condição da miniestaca, da época do ano, entre outros fatores (HARTMANN et al., 2002).

Na cultura da batata, a miniestaquia pode constituir-se em uma técnica eficiente para aumentar a taxa de multiplicação de plantas livres de patógenos, principalmente viroses, reduzindo os custos de produção de batata-semente (PEREIRA; FORTES, 2004). É importante ressaltar que, além de aumentar a taxa de multiplicação, essa propagação rápida pode ser eficiente para a produção de mudas para programas de produção de material pré-básico para o cultivo sem solo (PEREIRA et al., 2001). Outra técnica que tem sido utilizada com sucesso, é a de aproveitamento dos brotos de tubérculos como propágulos para a produção de

minitubérculos. Estes brotos são destacados de batata-semente de alta sanidade (classe básica importada ou nacional) e tem se mostrado uma alternativa eficiente em relação à importação de batata-semente, pela diminuição de custos e volume de material transportado (GIUSTO, 2006).

No cultivo sem solo de batata, um dos problemas apresentados é o excessivo crescimento da parte aérea das plantas, o que pode afetar a eficiência do processo de multiplicação de tubérculos. Isso se deve ao fato de que o crescimento exagerado da parte aérea consome grandes quantidades de assimilados e nutrientes, os quais poderiam ser destinados para aumentar a produtividade de tubérculos. Desse modo, torna-se necessário a realização de poda na parte aérea das plantas de batata, para que haja um aumento na eficiência de produção de batata-semente (DELLAI, 2007). Este procedimento é freqüentemente empregado em plantas hortícolas para manejar o compartimento vegetativo e aumentar a fração da massa seca alocada para os órgãos de acúmulo e reserva, especialmente em cultivos com excessivo crescimento vegetativo (SANDRI et al., 2002), como é o caso da batata (DELLAI, 2007).

Cabe ressaltar também que a poda de ramos vegetativos, bem como de folhas jovens, pode modificar substancialmente os níveis de fitohormônios nas plantas de batata, já que estes são importantes locais de síntese de giberelinas e auxinas (MENZEL, 1981). A poda quebra a dominância apical e favorece o surgimento de ramos laterais, devido principalmente à remoção da fonte de suprimento de auxinas (GALSTON et al., 1980). Na planta da batata esse fato pode ser de grande interesse, uma vez que essas novas brotações poderão ser fontes de miniestacas.

2.5 Produção de minitubérculos de batata

Até pouco tempo a produção de minitubérculos de batata era realizada diretamente em solo dentro telados. Esse tipo de produção requeria o uso de agentes químicos para a esterilização do solo, que devido ao alto potencial toxicológico foram recentemente proibidos. Em conseqüência, a produção de minitubérculos de batata vem sendo progressivamente mais dependente de

sistemas de cultivo sem solo. Esses sistemas vêm se destacando pela superação dos problemas de produtividade e sanidade dos tubérculos-semente. Em comparação ao cultivo tradicional realizado em solo, a maior produtividade obtida é atribuída, em grande parte, à ausência de enfermidades radiculares e pelo controle adequado da nutrição das plantas, pelo uso de solução nutritiva adequada à espécie (CALDEVILLA; LOZANO, 1993).

Dentre os sistemas que podem ser empregados para essa finalidade destaca-se o cultivo em substratos em circuito fechado. Esse sistema é caracterizado por operações simples, baixos custos, menores riscos de perda da cultura por deficiências de fertirrigação e maior inércia térmica. Outra vantagem é que o volume de solução nutritiva armazenada junto às raízes no interior do substrato diminui as variações de concentração da solução nutritiva, que são elevadas em sistemas de pequena inércia do tipo NFT (FAVORETTO, 2005). Quanto ao substrato, a utilização de areia mostra-se como uma boa alternativa devido a grande estabilidade física, baixo custo, maior disponibilidade nas distintas regiões do País e a maior facilidade de limpeza e desinfestação, quando necessárias (ANDRIOLO, 2006).

A maior taxa de multiplicação de tubérculos em sistemas de cultivo sem solo contribui para a superação do principal problema apresentado pelos métodos tradicionais de produção de tubérculo-semente. Além do mais, os sistemas sem solo eliminam a possibilidade de contaminação das plantas por patógenos associados ao solo, desde que utilizado material propagativo não infectado, contribuindo para a obtenção de tubérculos-semente de boa qualidade fisiológica e fitossanitária (MEDEIROS et al., 2002).

3 CAPÍTULO I

MEIO DE CULTURA E ACLIMATIZAÇÃO DE PLÂNTULAS NA MICROPROPAGAÇÃO DE BATATA

3.1 Introdução

A cultura da batata (*Solanum tuberosum* L.) caracteriza-se pela necessidade periódica de renovação da batata-semente em função da degeneração que esta sofre, devido à contaminação cumulativa por fungos, bactérias e vírus que acarretam perdas na produtividade das lavouras (FORTES; PEREIRA, 2003). Estima-se que a produção de batata de uma lavoura poderia ser aumentada em até 50% pelo uso de batata-semente livre de doenças (ASSIS, 1999). Uma forma de se obter materiais livres de patógenos é o emprego de técnicas de cultura de tecidos, como a de cultivo de ápices caulinares (TORRES et al., 1998a). Aliada a essa técnica, a de maior impacto comercial é, sem dúvida, a micropropagação, pois permite a produção em grande escala de um genótipo de interesse, utilizando pequeno espaço físico, curto período de tempo e mantendo as características genéticas (GRATTAPAGLIA; MACHADO, 1998; GUERRA et al., 1999).

A micropropagação, mesmo sendo uma técnica bastante utilizada na cultura da batata para a multiplicação de materiais livres de vírus (ASSIS, 1999), apresenta custos elevados em função dos reagentes e equipamentos laboratoriais utilizados (GUERRA et al., 1999). A aclimatização é outra etapa que colabora para a elevação desses custos, pois muitas plântulas são perdidas em função destas apresentarem anatomia, morfologia e fisiologia anormais (POSPÍŠILOVÁ et al., 1999). Essas anomalias ocorrem devido às condições especiais de cultivo, com elevada disponibilidade de água e nutrientes, conduzindo, entre outros fatores, a uma elevada transpiração e reduzida taxa fotossintética das plântulas (GRATTAPAGLIA; MACHADO, 1998). Esses fatores fazem com que plântulas cultivadas *in vitro* tenham dificuldades em resistir a mudança brusca do ambiente de cultivo, necessitando

assim, um período de aclimatização sob condições favoráveis até que ocorra uma adaptação ao crescimento autotrófico.

Como forma de reduzir a mortalidade das plântulas durante a aclimatização, diversos estudos têm sido conduzidos com a finalidade de otimizar o ambiente *in vitro*. Dentre os aspectos estudados destacam-se, entre outros, alterações na intensidade luminosa do ambiente de cultivo (KADLECEK et al., 2001; RADMANN et al., 2001; PANDEY et al., 2006), redução da umidade e aumento da concentração de CO₂ nos frascos de cultivo (KOZAI; KUBOTA, 2001; KANECHI et al., 1998; POSPÍŠILOVÁ et al., 1999; SEON et al., 2000; SHIM et al., 2003). Variações na quantidade de sacarose adicionada ao meio de cultura e os efeitos na sobrevivência das plantas durante a aclimatização também tem sido alvo de estudos (KADLECEK et al., 2001; SKREBSKY et al., 2004).

Quanto ao uso de sacarose no meio de cultura existem algumas divergências. Alguns autores afirmam que a sacarose pode ser prejudicial, uma vez que faz com que as plantas cultivadas *in vitro* manifestem o caráter heterotrófico, sendo mais difícil a sobrevivência durante a aclimatização (KOZAI, 1991; KOZAI et al., 1997; SEON et al., 2000). Em contrapartida, outros autores (GROUT; MILLAN, 1985; DESJARDINS et al., 1987; CAPELLADES et al., 1991; PREMKUMAR et al., 2001) apontam para os benefícios do uso de sacarose, pois os assimilados estocados durante o período de cultivo *in vitro* podem ser utilizados durante a aclimatização até que todas as anomalias morfológicas e fisiológicas sejam corrigidas ou novas folhas fotossinteticamente ativas surjam. No entanto, não existe um padrão a ser seguido, uma vez que a dose ideal de sacarose a ser adicionada ao meio de cultura com a finalidade de promover o aumento da sobrevivência das plantas durante a aclimatização pode variar entre e dentro da mesma espécie, neste último caso, devido a fatores genéticos (HAZARICA, 2003).

Outro fator que deve ser levado em consideração durante a aclimatização é o substrato a ser utilizado, pois dependendo das características físicas e químicas pode facilitar ou impedir o crescimento das plantas (SKREBSKY et al., 2006). A preferência é que o substrato seja quimicamente inerte para que os nutrientes possam ser fornecidos de acordo com as exigências da espécie (GRATTAPAGLIA; MACHADO, 1998).

Este trabalho foi conduzido com o objetivo de avaliar o efeito de concentrações do meio MS e doses de sacarose na aclimatização de plântulas de

três clones de batata, tanto em substrato quanto no sistema de flutuação em solução nutritiva.

3.2 Material e Métodos

O experimento foi conduzido em duas etapas, uma em laboratório e a outra em telado, durante o segundo semestre de 2007. A primeira etapa foi realizada no Laboratório de Melhoramento e Propagação Vegetativa de Plantas do Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Santa Maria, RS. Os tratamentos consistiram de três clones de batata (Asterix, Macaca e SMINIA793101-3), duas concentrações dos sais do meio MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962) ($\frac{1}{2}$ MS e MS completo) e três doses de sacarose (30, 45 e 60 g L⁻¹). Os tratamentos foram distribuídos em um fatorial (3x2x3) no delineamento experimental inteiramente casualizado, com quatro repetições. A unidade experimental foi um frasco de vidro de 150 mL, contendo 20 mL de meio de cultura e 20 segmentos nodais de uma gema e folha, obtidos de plântulas de batata previamente estabelecidas *in vitro*.

Ao meio de cultura, com as variações de sais do MS e da sacarose, foi adicionado ágar na proporção de 6,75 g L⁻¹ e o pH corrigido para 5,75 ± 0,02. A seguir, os frascos contendo o meio de cultura foram autoclavados durante 15 min a 121 °C e pressão de 1 atm. Após três dias, foram inoculados os explantes, sendo estes mantidos em sala de crescimento com temperatura controlada (25 ± 2°C) e fotoperíodo de 16 horas, com iluminação fornecida por lâmpadas fluorescentes brancas frias.

Após 15 dias de cultivo, as plântulas foram retiradas do meio de cultura e as raízes lavadas com água corrente para retirar o excesso de meio. Foi então realizada a contagem do número de raízes por plântula, comprimento da maior raiz (cm), comprimento da brotação (cm) desde o ponto de crescimento até o ápice e o número de folhas em cada plântula.

A segunda etapa do experimento foi conduzida em telado do Programa de Genética e Melhoramento de Batata do Departamento de Fitotecnia da UFSM. O telado é coberto com um filme de polietileno de 150 micras e as laterais protegidas com tela anti-afídeos de 50 mech. Nesse ambiente foi avaliada a influência dos

tratamentos aplicados *in vitro* (clones, concentrações do MS e doses de sacarose) na sobrevivência das plântulas durante o período de aclimatização, incluindo-se dois sistemas de aclimatização. Os tratamentos foram distribuídos segundo um fatorial (3x2x3x2) no delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições de 20 plântulas cada uma.

Os sistemas de aclimatização utilizados foram: de flutuação em solução nutritiva e com substrato (areia grossa). Estes sistemas haviam sido previamente empregados para aclimatização de plântulas de morango (*Fragaria X ananassa* Duch.) (BISOGNIN, 2007). O sistema com flutuação (Figura 1A) foi composto de uma bandeja de polietileno com uma lâmina de 5 a 7 cm de solução nutritiva completa de condutividade elétrica (CE) de 1 dS m⁻¹, descrita em Andriolo (2006). Sobre essa lâmina de solução colocou-se uma placa de poliestireno expandido de 1,5 cm de espessura com orifícios circulares de 3,0 cm de diâmetro. Em cada orifício foram colocadas as 20 plântulas de cada repetição, as quais foram fixadas em rolos de espuma de poliuretano, confeccionados em de tiras de 3 cm de largura e 20 cm de comprimento. O sistema com substrato (Figura 1D), foi composto de uma bandeja preta de polietileno, na qual se colocou uma camada de 7 cm de brita média para drenagem da solução. Essa camada de brita foi coberta por uma tela fina de polietileno para separar o substrato, constituído de uma camada de 5 cm de areia grossa (partículas entre 1 e 3 mm de diâmetro). As plântulas foram distribuídas em orifícios espaçados em 2 x 2 cm. Essa bandeja recebeu irrigações periódicas (de duas em duas horas durante o dia), com o auxílio de um programador digital e uma bomba de baixa vazão, até o completo encharcamento do substrato e formação de uma lâmina superficial de solução, a qual era drenada por dois orifícios, um situado na base e outro na parte superior da bandeja. Em ambos os sistemas, as plântulas de batata permaneceram sob sombrite 60% por 15 dias, para aclimatização, quando foi avaliada a porcentagem de sobrevivência.

Os dados de ambas as etapas do experimento foram submetidos à análise de variância pelo teste F e as médias comparadas pelo teste de Duncan ($\alpha=0,05$) com o auxílio do programa estatístico SOC-NTIA/EMBRAPA, (EMBRAPA, 1997). Dados de contagem foram transformados segundo a equação $(X+0,5)^{1/2}$ enquanto dados de porcentagem foram transformados pela equação $\arccos(X/100)^{1/2}$.

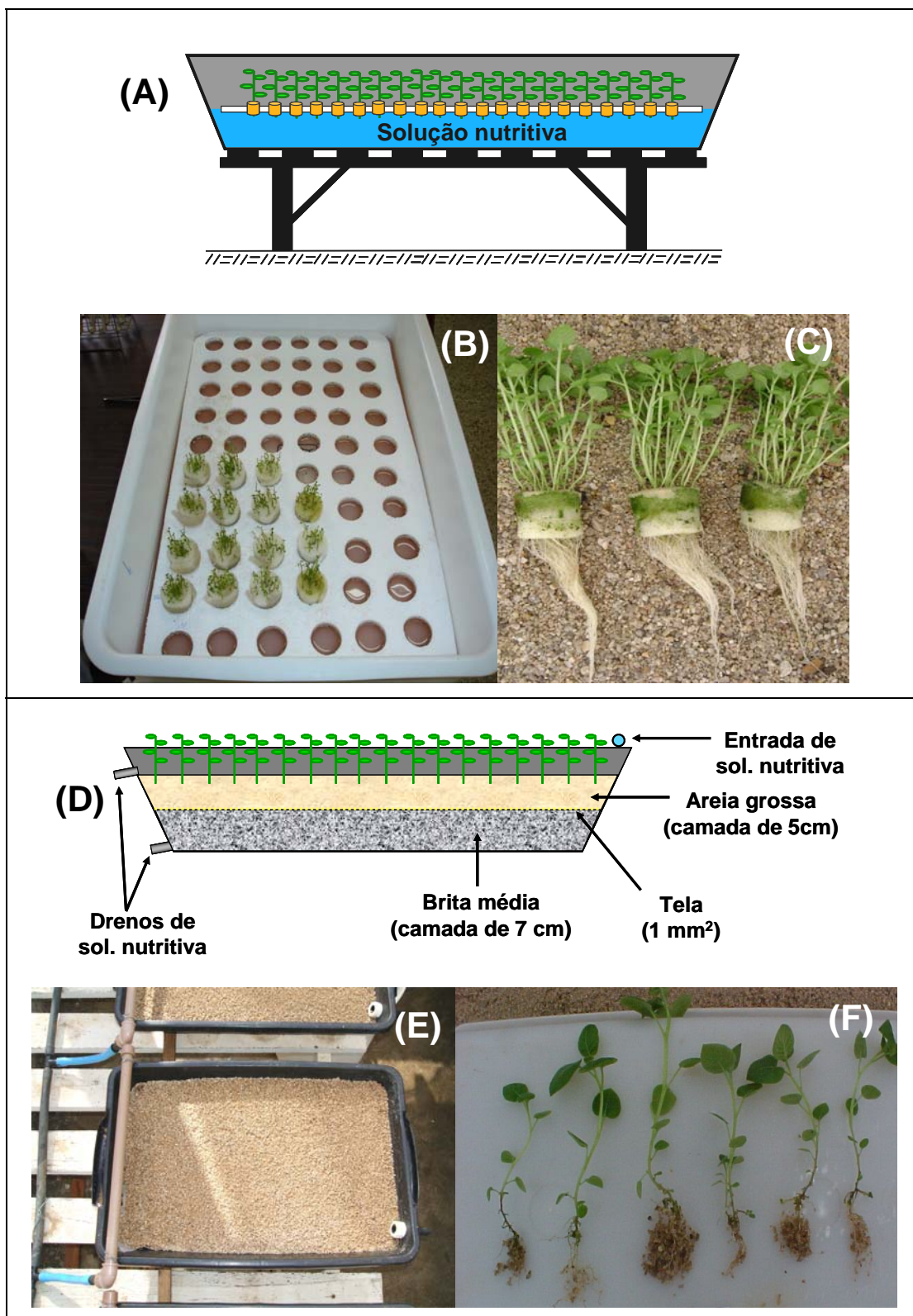


Figura 1 – Sistema para aclimatização de plântulas de batata com flutuação (A). Vista superior do sistema (B). Plantas após 15 dias de aclimatização no sistema com flutuação (C). Sistema de aclimatização com uso de substrato (areia) (D). Vista superior do sistema (E). Plântulas após 15 dias de aclimatização em areia (F). Santa Maria. RS, 2007.

3.3 Resultados e Discussão

Durante a etapa de laboratório, o número de raízes por planta não foi influenciado pela combinação dos três fatores (clones x MS x sacarose). Houve diferença significativa ($p < 0,05$) apenas para os níveis do meio de cultura MS, sendo que a utilização da metade da concentração de sais ($\frac{1}{2}$ MS) proporcionou um maior número de raízes por planta em relação ao uso do MS completo (Tabela 1). Essa diferença no número de raízes pode ter sido causada pela alta concentração de sais no MS completo, em especial o nitrogênio (HUIMEI et al., 2007) que favorece o crescimento da parte aérea em detrimento das raízes. Ao testar o efeito da variação das concentrações de N e P do meio MS para o crescimento de *P. glomerata*, foi verificado que o número de raízes por planta e o percentual de plantas enraizadas foram maiores na concentração de N equivalente a 50% daquela do meio de cultura MS (RUSSOWSKI; NICOLOSO, 2003). Para as cultivares MC e Adams de marmeleiro (*Cydonia oblonga* Mill.), a redução para 75% da concentração original dos sais do MS aumentou a porcentagem de enraizamento, o número e o comprimento médio das raízes (ERIG et al., 2004). Em videira (*Vitis vinifera* L.) também foi verificado que o uso de 50% da concentração dos sais do MS aumentou o número de raízes por explante (BIASI et al. 1998). A vantagem de um maior número de raízes formadas durante o cultivo *in vitro* está no favorecimento da aclimatização, uma vez que criam um balanço favorável de água na planta pela maior capacidade de absorção (DIAZ-PEREZ et al., 1995). Portanto, o uso de $\frac{1}{2}$ MS seria mais indicado, pois favorece o aumento do número de raízes para diversas espécies, inclusive batata, além de contribuir para a redução de custos.

Não houve interações entre clones, meio de cultura e sacarose para o número de folhas por plântula (Tabela 1), porém todos os fatores apresentaram diferença significativa entre médias. O clone Macaca foi o que apresentou o maior número de folhas, seguido pelos clones SMINIA793101-3 e Asterix. Portanto, esse trabalho mostra que a resposta *in vitro* para o número de folhas depende de cada clone, podendo estar condicionado a fatores genéticos. Quanto aos níveis do MS foi observado que a utilização do MS completo favoreceu a formação de um maior número de folhas em relação à metade da concentração dos sais, o que pode ser explicado pela maior concentração de nitrogênio no meio, nutriente que influi

diretamente no crescimento vegetativo das plantas (THOMPSON-JOHNS et al., 1998). Esse resultado está de acordo com o obtido com manjeriço (*Ocimum basilicum* L.) por Ribeiro et al. (2007).

Houve um decréscimo no número de folhas com o aumento da dose de sacarose utilizada, ou seja, a sacarose afetou negativamente o número de folhas das plântulas de batata durante o cultivo *in vitro*. Porém este decréscimo pelo uso de concentrações mais elevadas de sacarose no meio de cultura (acima de 30 g L⁻¹) pode não surtir efeito sobre a aclimatização das plantas de batata, mas deve ser levado em consideração no momento da micropropagação, pois pode afetar a taxa de multiplicação, pela redução no número de folhas e comprimento das brotações, o que resulta em um menor número de entrenós por planta.

Tabela 1 - Número de raízes e de folhas por plântula de batata após 15 dias de cultivo *in vitro*. Santa Maria, RS, 2007.

Clones	N° de raízes	N° de folhas
Asterix	3,7 a*	3,4 c
SMINIA793101-3	3,5 a	3,8 b
Macaca	3,5 a	6,2 a
Variações no MS		
½ MS	3,7 a	4,4 b
MS completo	3,4 b	4,7 a
Sacarose (g L⁻¹)		
30	3,5 a	5,0 a
45	3,6 a	4,4 b
60	3,6 a	4,1 c
CV(%)	6,2	5,3

* Médias seguidas pela mesma letra na vertical não diferem entre si pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade de erro.

Para comprimento da maior raiz houve interação significativa entre clones, concentrações do MS e doses de sacarose (Tabela 2). Para a combinação do clone Macaca com as concentrações de sais do MS não houve diferença entre os níveis de sacarose e de meio. Entretanto, para o clone SMINIA793101-3, houve diferença significativa entre os níveis de sacarose nas duas combinações com o MS. O maior comprimento de raiz foi observado na dose de 45 g L⁻¹ de sacarose nas duas

concentrações de MS, sendo que em $\frac{1}{2}$ MS diferiu ($p < 0,05$) apenas da dose de 30 g L⁻¹. Para este mesmo clone, o MS completo apresentou valores médios de comprimento de raízes mais elevados diferindo da concentração de $\frac{1}{2}$ MS, exceto na dose de 60 g L⁻¹ de sacarose. Para o clone Asterix, em $\frac{1}{2}$ MS o maior comprimento de raízes se deu na dose de 30 g L⁻¹ de sacarose diferindo apenas de 60 g L⁻¹. No MS completo a dose de 45 g L⁻¹ de sacarose favoreceu o maior comprimento de raízes, diferindo apenas da dose de 30 g L⁻¹. Para este clone o uso da metade da concentração dos sais do MS proporcionou o maior desenvolvimento das raízes em relação ao uso do MS completo. Exceto para Asterix, e mesmo não havendo diferença entre os níveis de MS para Macaca, o maior comprimento de raiz foi favorecido pelo uso do MS completo, em todas as doses de sacarose (Tabela 2).

Tabela 2 - Comprimento da maior raiz de plântulas de batata após 15 dias de cultivo *in vitro*. Santa Maria, RS, 2007.

Sacarose (g L ⁻¹)	Macaca		SMINIA793101-3		Asterix	
	$\frac{1}{2}$ MS	MS	$\frac{1}{2}$ MS	MS	$\frac{1}{2}$ MS	MS
	Comprimento da maior raiz (cm)					
30	3,1 aA*	3,2 aA	3,0 bB	3,7 bA	4,2 aA	2,9 bB
45	3,1 aA	3,3 aA	3,7 aB	4,3 aA	3,8 abA	3,4 aA
60	3,3 aA	3,3 aA	3,4 aA	3,5 bA	3,6 bA	3,2 abA
CV%	4,4					

* Médias seguidas pela mesma letra, minúscula na vertical e maiúscula na horizontal, não diferem entre si pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade de erro.

Interações dessa magnitude são difíceis de serem interpretadas em função das inúmeras variáveis que podem estar influenciando a resposta do caráter em estudo. Porém, a produção *in vitro* de plântulas com raízes curtas pode ser uma vantagem, pois esse tipo de raiz normalmente está em fase de ativo crescimento, sendo mais adequadas ao transplante, por facilitar o manuseio, o pegamento e o posterior crescimento *ex vitro* das plantas (GRATTAPAGLIA; MACHADO, 1998; WOODHEAD; BIRD, 1998). Tendo em vista essa afirmação, o uso da metade da concentração dos sais do MS (exceto para o clone Asterix), juntamente com a dose

de 30 g L⁻¹ de sacarose seriam os tratamentos mais indicados, no caso do comprimento de raiz ser um fator determinante para a adaptação e sobrevivência das plântulas de batata durante a aclimatização.

Para a variável comprimento da brotação houve interação significativa apenas entre clones e concentrações do MS (Tabela 3). O clone Macaca apresentou o maior comprimento de broto em ambas as concentrações de sais do MS. O clone SMINIA793101-3 foi o que apresentou brotações mais curtas, diferindo do clone Asterix apenas no ½ MS. Diferenças entre os níveis de MS foram observadas apenas nos clones SMINIA793101-3 e Asterix, sendo o maior comprimento médio de brotos observado em MS completo e ½ MS, respectivamente para estes clones. O comportamento variável apresentado pelos clones SMINIA793101-3 e Asterix pode ser atribuído a diferenças genéticas, no que tange a adaptação as condições de cultivo. No entanto, tem sido verificado na literatura que o uso de concentrações diluídas do meio MS tem promovido um maior crescimento das brotações em algumas espécies. Em plântulas de gloxínia (*Sinningia speciosa* Lood. Hiern.) cultivada *in vitro*, a redução da concentração do meio MS para 50% foi favorável, tanto para a obtenção de um maior número de brotos quanto para a maior média em altura das brotações (PAIVA et al., 1997). Plântulas de rainha-do-abismo (*Sinningia leucotricha* (Hoehne) Moore) cultivadas *in vitro* sob 50% da concentração dos sais do MS também apresentaram maior comprimento das brotações (UEMOTO et al., 2006).

Houve decréscimo no comprimento das brotações com o aumento da sacarose adicionada ao meio de cultura, sendo que o comprimento foi afetado negativamente com a adição de 60 g L⁻¹ de sacarose (Tabela 4). Já em *P. glomerata*, o aumento da dose de sacarose de 30 a 60 g L⁻¹ promoveu o alongamento proporcional das brotações e um maior número de segmentos nodais (NICOLOSO et al., 2003). Os resultados deste trabalho evidenciam que o aumento da dose de sacarose interferiu no crescimento das plântulas de batata cultivadas *in vitro* reduzindo o comprimento das brotações. Apesar de não ter sido avaliado a produção de biomassa das plântulas, é possível que esta redução no crescimento tenha implicações na menor produção de biomassa pelas plântulas, o que pode ser indesejável, pois reduz a capacidade de armazenamento de assimilados durante o cultivo *in vitro*, que poderiam ser utilizados durante a aclimatização (CAPELLADES et al., 1991).

Tabela 3 – Comprimento de brotação de plântulas de batata após 15 dias de cultivo *in vitro* em função da interação clones x MS. Santa Maria, RS, 2007.

Clones	Meio de cultura	
	½ MS	MS
Macaca	3,4 aA*	3,7 aA
SMINIA793101-3	1,4 cB	1,6 bA
Asterix	2,0 bA	1,7 bB
CV%	7,1	

* Médias seguidas pela mesma letra, minúscula na vertical e maiúscula na horizontal, não diferem entre si pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade de erro.

Tabela 4 – Comprimento de brotação de plântulas de batata após 15 dias de cultivo *in vitro* em função da dose de sacarose. Santa Maria, RS, 2007.

Comprimento de brotação (cm)	Sacarose (g L ⁻¹)		
	30	45	60
Comprimento de brotação (cm)	2,4 a	2,3 a	2,1 b
CV%	7,1		

* Médias seguidas pela mesma letra minúscula na horizontal, não diferem entre si pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade de erro.

Durante a etapa de aclimatização onde foi avaliado a sobrevivência das plântulas de batata, houve interação significativa apenas entre clones e sistemas de aclimatização (Tabela 5). Para o clone Macaca a maior taxa de sobrevivência foi observada com plântulas aclimatizadas no sistema com substrato. Entretanto, para o clone SMINIA793101-3 foi observado resultado inverso, com a maior sobrevivência de plântulas no sistema com flutuação. Não foi observada diferença ($p < 0,05$) entre sistemas para o clone Asterix.

Na avaliação entre clones em cada sistema de aclimatização houve diferença significativa somente no sistema com flutuação, onde o clone Macaca apresentou a menor taxa de sobrevivência, diferindo dos demais. Neste tipo de sistema, grande parte das raízes fica imersa na solução nutritiva, estando sujeitas a necrose pela falta de oxigenação, o que pode reduzir ainda mais a eficiência do sistema radicular desenvolvido *in vitro*, sendo necessário o surgimento de novas raízes para a

absorção de água e nutrientes. Esse fato, aliado ao maior número de folhas apresentado pelo clone Macaca durante o cultivo *in vitro*, pode ter contribuído para a menor taxa de sobrevivência de plântulas durante a aclimatização. Esta hipótese é reforçada em função da alta porcentagem de sobrevivência obtida para os demais clones, que apresentavam praticamente a metade do número de folhas em relação a Macaca e não diferiram no número médio de raízes por plântula como observado na Tabela 1. No sistema com substrato não houve diferença entre clones para a sobrevivência, ou seja, o clone Macaca apresentou uma melhor resposta a aclimatização em substrato.

Tabela 5 – Porcentagem de sobrevivência de plântulas de três clones de batata oriundos da micropropagação após 15 dias de aclimatização nos sistemas com flutuação e com substrato. Santa Maria, RS, 2007.

Sistemas de aclimatização	Clones		
	Macaca	SMINIA793101-3	Asterix
Flutuação	91,9 bB*	99,1 aA	98,7 aA
Substrato	95,4 aA	94,6 bA	97,2 aA
CV%	9,7		

* Médias seguidas pela mesma letra, minúscula na vertical e maiúscula na horizontal, não diferem entre si pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade de erro.

A elevada porcentagem de sobrevivência de plântulas observada possibilita a escolha do sistema de aclimatização que melhor se adapta ao sistema cultivo sem solo empregado para a produção de mini-tubérculos (NFT ou em substrato). Dessa forma, para o sistema de cultivo sem solo que usa areia grossa como substrato pode-se realizar a aclimatização das plântulas de batata em areia, em função da semelhança entre os dois sistemas, o que minimiza a necessidade de uma nova adequação do sistema radicular.

As concentrações dos sais do MS influenciaram a sobrevivência de plantas. O maior número de plantas vivas após a aclimatização foi obtido quando utilizado a metade da concentração dos sais (Tabela 6). É importante ressaltar que o uso de ½ MS favoreceu o aumento do número médio de raízes e a diminuição do número médio de folhas por planta, dois fatores que podem ser importantes para a sobrevivência durante a aclimatização. Quanto maior o número de raízes maior é o

suprimento de água para a planta (DIAZ-PEREZ et al., 1995) e quanto menor o número de folhas menor é a transpiração, criando uma condição favorável para a sobrevivência *ex vitro* das plântulas.

Entretanto, a variação da dose de sacarose do meio de cultura não afetou a porcentagem de sobrevivência das plântulas dos três clones estudados, apresentando médias acima de 94% (Tabela 6). Estes resultados estão de acordo com os obtidos em *P. glomerata*, onde plantas cultivadas *in vitro* sob concentrações de sacarose de 30, 45 e 60 g L⁻¹ não apresentaram diferença na sobrevivência durante a aclimatização (SKREBSKY et al., 2004). Porém, o aumento da concentração da sacarose de 0 a 60 g L⁻¹ afetou a sobrevivência de plântulas de morangueiro, batata, videira e menta, cujos melhores resultados foram obtidos com 30 e 45 g L⁻¹ (RIQUELME et al., 1991), o que, na prática, está de acordo com os resultados deste trabalho.

Tabela 6 – Porcentagem de sobrevivência de plântulas de batata após 15 dias de aclimatização em função da dose de sacarose e da variação nos sais do meio MS. Santa Maria, RS, 2007.

Meio de cultura	Sobrevivência (%)
½ MS	97,5 a*
MS	94,8 b
Sacarose (g L⁻¹)	
30	94,8 a
45	97,1 a
60	96,5 a
CV(%)	9,7

*Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade.

3.4 Conclusões

A concentração de 50% dos sais do meio MS pouco afeta o crescimento *in vitro* e favorece a sobrevivência das plântulas de batata durante a aclimatização.

As diferentes doses de sacarose não interferem na aclimatização das plântulas.

Tanto o sistema de flutuação em solução nutritiva quanto o de substrato podem ser utilizados para a aclimatização de plântulas de batata.

4 CAPÍTULO II

MINIESTAQUIA NA PROPAGAÇÃO DA BATATA

4.1 Introdução

Na cultura da batata (*Solanum tuberosum* L.) a micropropagação é uma técnica comumente utilizada para a produção de material propagativo livre de doenças. No entanto, os custos ainda são elevados em função dos reagentes e equipamentos utilizados (GUERRA et al., 1999), contribuindo para o aumento dos custos de produção da batata-semente. Desse modo, é necessário que novas tecnologias sejam desenvolvidas para minimizar a dependência da utilização de plantas oriundas da micropropagação, visando reduzir os custos de produção e aumentar a disponibilidade de batata-semente com elevada sanidade.

Uma dessas tecnologias é a produção de mudas por meio do enraizamento de brotos de tubérculos e miniestacas de plantas de batata. Para essa produção podem ser utilizados como propágulos, brotos destacados de tubérculos (GIUSTO, 2006), miniestacas obtidas de plantas recém aclimatizadas (PEREIRA; FORTES, 2004) e miniestacas obtidas de plantas em produção de batata-semente (SILVA, 1987), desde que tenham elevada sanidade. A utilização de brotos destacados de tubérculos de batata-semente de alta sanidade (classe básica importada ou nacional) tem se mostrado uma alternativa eficiente em relação a importação de tubérculos, pela diminuição de custos e volume de material transportado (GIUSTO, 2006).

Na cultura da batata, a miniestaquia pode constituir-se em técnica eficiente para aumentar a taxa de multiplicação de maneira prática e econômica de plantas livres de patógenos, principalmente viroses, reduzindo os custos de produção de batata-semente (PEREIRA; FORTES, 2004). Além de aumentar a taxa de multiplicação, essa propagação rápida pode tornar-se técnica eficiente na obtenção de mudas para programas de produção de material pré-básico para o cultivo

hidropônico (PEREIRA et al., 2001). Cabe ressaltar que nesse sistema de cultivo as plantas de batata apresentam-se mais vigorosas e a poda verde tem sido recomendada como forma de controlar o crescimento do compartimento vegetativo (DELLAI, 2007). Isso faz com que os ápices oriundos da aplicação da poda possam ser utilizados para a confecção de miniestacas a serem enraizadas, desde que a elevada sanidade das plantas seja mantida.

Como vantagem para a produção de miniestacas, a aplicação de poda quebra a dominância apical e favorece o surgimento de ramos laterais, devido principalmente à remoção da fonte de suprimento de auxinas (GALSTON et al., 1980). Esse fato pode ser de grande interesse, uma vez que essas novas brotações poderão ser fontes de novas miniestacas, o que pode aumentar consideravelmente a taxa de multiplicação de materiais livre de patógenos.

A produção de mudas através de miniestacas enraizadas é comumente utilizada no cultivo comercial de espécies ornamentais folhosas (BLYTHE et al., 2004) e tem se mostrado promissora para culturas agrícolas, pois permite o aumento do número de plantas de um genótipo de interesse (WASSNER; RAVETTA, 2000). A vantagem desse método é a manutenção da constituição genética durante as sucessivas gerações (FERNANDES et al., 2004). Uma das dificuldades na produção de mudas por miniestaquia é o enraizamento, pois algumas espécies enraízam prontamente sem a necessidade de tratamento com auxina, enquanto outras espécies são beneficiadas com o tratamento, devido à promoção do aumento do enraizamento das miniestacas. Os benefícios obtidos pelo uso de auxinas irão depender da espécie e até mesmo da cultivar, da condição da estaca, da época do ano, entre outros fatores (HARTMANN et al., 2002).

Quanto ao substrato de enraizamento, o uso de areia tem sido vantajoso, pelo baixo custo e pela fácil disponibilidade, além de apresentar características positivas quanto à drenagem, sendo adequado para enraizamento de estacas herbáceas e semi-lenhosas (FACHINELLO et al., 1994). O enraizamento de miniestacas de batata em areia seria adequado ao sistema de cultivo sem solo com uso de areia como substrato, que está sendo usado para a produção de minitubérculos (MÜLLER et al., 2007; DELLAI et al., 2008).

Este trabalho teve como objetivo estudar o enraizamento de miniestacas de três clones de batata. Foram avaliadas a solução de irrigação, a idade fisiológica da

planta matriz e a aplicação do ácido indol-butírico visando maximizar a propagação da batata.

4.2 Material e Métodos

Para as avaliações de produção de mudas a partir de miniestacas de batata, três experimentos foram conduzidos em telado do Programa de Genética e Melhoramento de Batata no Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Santa Maria, RS. As plantas utilizadas como fonte de miniestacas eram provenientes de material micropropagado no Laboratório de Melhoramento e Propagação Vegetativa de Plantas e estavam crescendo em sistema de cultivo sem solo por um período de pelo menos 30 dias. Miniestacas apicais foram extraídas com 1,5 a 2,0 cm de comprimento, deixando-se uma folha em início de expansão ($\pm 0,5$ cm de comprimento) e efetuando-se um corte em bisel na base (Figura 1A).

As miniestacas foram enraizadas em areia (Figura 1 B,C,D), em um sistema previamente utilizado para aclimatização de plântulas de batata, composto de uma bandeja preta de polietileno (55 x 34 x 15 cm), na qual foi colocada uma camada de 7 cm de brita média para drenagem da solução de irrigação. Esta camada de brita foi coberta por uma tela fina de polietileno para separar o substrato, o qual foi formado por uma camada de 5 cm de areia grossa (partículas entre 1 e 3 mm de diâmetro). Foram realizadas irrigações periódicas (de duas em duas horas durante o dia) com o auxílio de um programador digital e uma bomba de baixa vazão de modo que todo o substrato fosse encharcado. A solução excedente era drenada através de dois orifícios, um situado na base e outro na parte superior da bandeja.

Para ambos os experimentos os dados de porcentagem de sobrevivência e de enraizamento das miniestacas foram calculados em relação ao número total de miniestacas e o número médio de raízes e comprimento médio da maior raiz (cm) foi calculado apenas para as miniestacas que apresentavam-se enraizadas. Os dados foram submetidos à análise de variância para o teste F e as médias foram comparadas pelo teste de Duncan ou por análise de regressão polinomial, a 5% de probabilidade de erro, com o auxílio do programa estatístico SOC-NTIA/EMBRAPA (EMBRAPA, 1997). Dados de contagem foram transformados segundo a equação

$(X+0,5)^{\frac{1}{2}}$, enquanto dados de porcentagem foram transformados pela equação $\arccos(X/100)^{\frac{1}{2}}$.

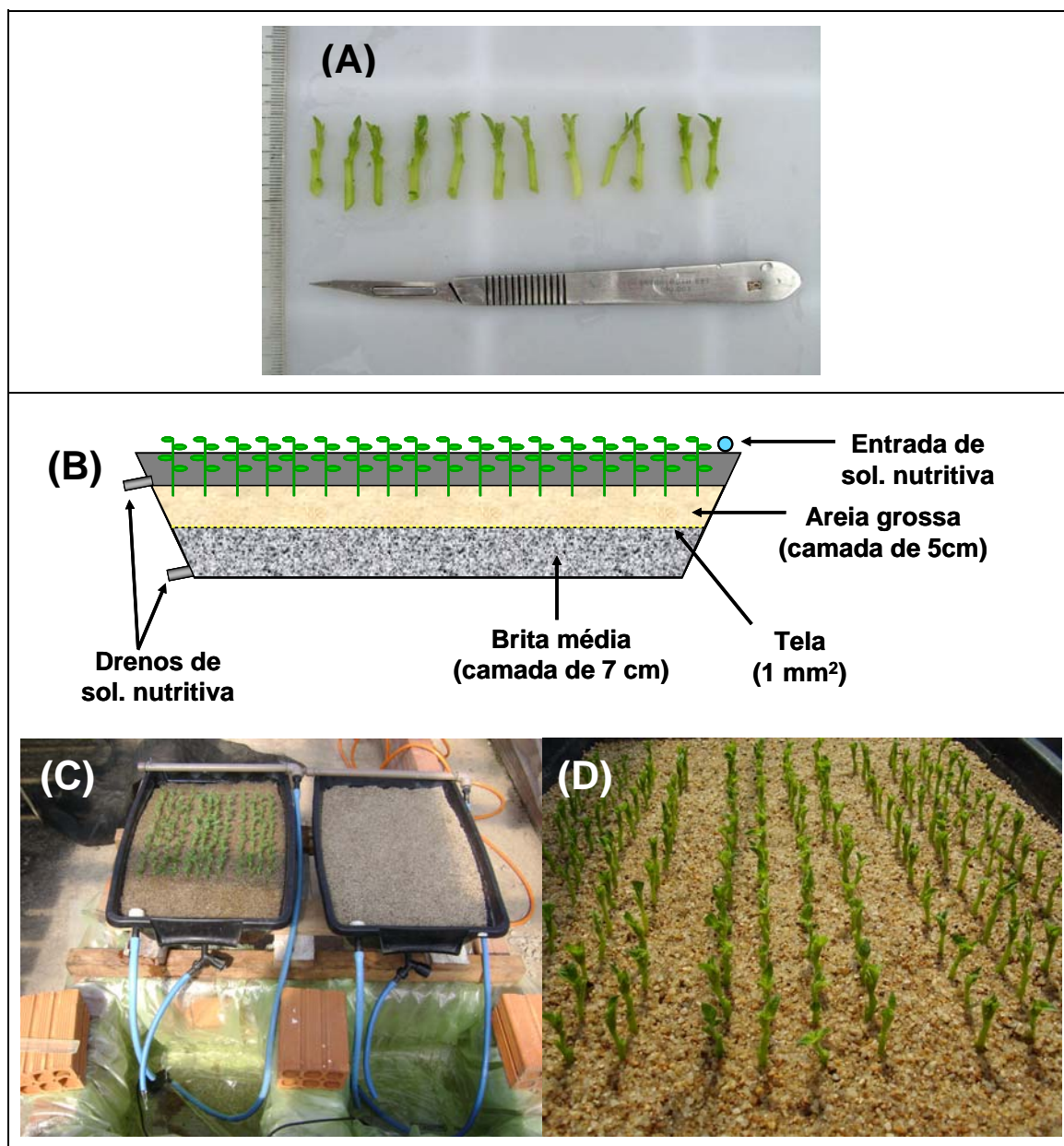


Figura 1 – Miniestacas apicais obtidas de plantas adultas (A). Sistema com substrato (areia) utilizado para o enraizamento das miniestacas de batata (B). Vista geral do sistema de enraizamento (C). Detalhe das miniestacas sendo enraizadas em areia (D). Santa Maria, RS, 2007.

4.2.1 Solução de irrigação

O experimento foi conduzido em duas etapas, durante os meses de novembro e dezembro de 2007 visando determinar o efeito da solução de irrigação no enraizamento de miniestacas apicais de plantas de batata em areia. Na primeira etapa foram utilizados como tratamentos: três clones (Asterix, Macaca e SMINIA793101-3), solução nutritiva desenvolvida para o cultivo sem solo de batata (ANDRIOLO, 2006) com a seguinte composição em mmol L^{-1} : 13,0 de NO_3^- ; 1,5 de H_2PO_4^- ; 1,25 de SO_4^- ; 4,0 de Ca^{++} ; 6,5 de K^+ e 1,25 de Mg^{++} , mais micronutrientes, com condutividade elétrica (CE) de 1 dS m^{-1} e água de torneira ($\text{pH} = 6,4$, $\text{CE} = 0,56 \text{ dS m}^{-1}$ com os seguintes resíduos minerais em mg L^{-1} : 1,0 de K, 2,0 de Ca, 0,4 de Mg, 5,0 de Na, 0,1 de Bo. Demais nutrientes estavam abaixo do limite de detecção). Após 15 dias foi avaliada a porcentagem de sobrevivência e de enraizamento, o número de raízes e o comprimento da maior raiz (cm) das miniestacas.

Na segunda etapa novamente foram utilizados os três clones, sendo que um dos tratamentos de irrigação foi o uso combinado de água (por 10 dias) e o restante do período com solução nutritiva e o outro tratamento somente irrigação com solução nutritiva. Aos 21 dias foram feitas as mesmas avaliações da primeira etapa. O experimento foi um fatorial (3×2) no delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições de 15 miniestacas. Em ambas as etapas as miniestacas foram mantidas sob sombrite 60% durante 15 dias.

4.2.2 Idade da planta matriz

O experimento foi conduzido em maio de 2008 para avaliar o efeito da idade fisiológica da planta matriz sobre o potencial de enraizamento de miniestacas apicais no sistema utilizando areia como substrato.

As miniestacas utilizadas foram extraídas de plantas oriundas da micropropagação, com 15 dias de aclimatização e aproximadamente 10 cm de estatura, denominadas de miniestacas de plantas jovens. As miniestacas extraídas de plantas que estavam em produção no sistema de cultivo sem solo a pelo menos 30 dias e apresentavam aproximadamente 30 cm de estatura foram denominadas de miniestacas de plantas adultas. Os clones utilizados foram Asterix, Macaca e SMINIA793101-3, sendo o experimento conduzido em um fatorial (2×3) no

delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições de 15 miniestacas e a irrigação efetuada com solução nutritiva ($CE = 1 \text{ dS m}^{-1}$).

Durante os primeiros 15 dias as miniestacas foram mantidas sob sombrite 60% e, após, em pleno sol. Aos 21 dias foi avaliada a porcentagem de sobrevivência e de enraizamento, o número de raízes e o comprimento da maior raiz (cm).

4.2.3 Aplicação do ácido indol-butírico

O experimento foi conduzido no mês de novembro de 2008 para avaliar o efeito do ácido indol-butírico (AIB) no enraizamento de miniestacas de batata no sistema utilizando areia como substrato.

Foram utilizadas miniestacas do clone Asterix, obtidas de ápices de brotações laterais de plantas que estavam crescendo em sistema de cultivo sem solo a 50 dias (desde o plantio até a extração das miniestacas) e haviam sido submetidas a poda verde da parte aérea aos 35 dias, quando a estatura das plantas atingiu 30 cm.

Os tratamentos consistiram de quatro concentrações de AIB (0, 300, 600 e 900 mg L^{-1}), preparadas a partir da diluição em água destilada de uma solução estoque de AIB, previamente diluído em solução alcoólica na proporção de 50%. As miniestacas tiveram a base imersa na solução por 3s, sendo que no tratamento testemunha (0 mg L^{-1} de AIB) as miniestacas foram imersas em água destilada. Para a irrigação das miniestacas foi utilizada solução nutritiva (CE de 1 dS m^{-1}).

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, com quatro repetições de 10 miniestacas apicais. Durante os primeiros 15 dias as miniestacas foram mantidas sob sombrite 60% e após em pleno sol. Aos 21 dias foram avaliadas as porcentagens de sobrevivência e enraizamento das miniestacas, o número de folhas e de raízes, o comprimento da maior raiz (cm), a massa seca de raiz das miniestacas enraizadas, e a produção de massa seca da parte aérea por miniestaca.

4.3 Resultados e discussão

4.3.1 Solução de irrigação

Na primeira etapa houve interação entre clones e soluções de irrigação para todas as variáveis observadas (Tabela 1). O clone Asterix apresentou os menores valores para todas as variáveis avaliadas, tanto em água quanto em solução nutritiva. Em relação à solução de irrigação utilizada, apenas o clone Asterix mostrou comportamento distinto, sendo que nenhuma estaca sobreviveu em solução nutritiva e apenas 16,6% em água. Os clones Macaca e SMINIA793101-3 não diferiram quanto ao tipo de solução usada na irrigação das miniestacas, no entanto, a porcentagem de sobrevivência e de enraizamento foi favorecida pelo uso de solução nutritiva.

Tabela 1 – Porcentagem de sobrevivência, porcentagem de enraizamento, número médio de raízes e comprimento médio da maior raiz de miniestacas apicais de três clones de batata, enraizadas durante 15 dias em areia, sendo irrigadas com água (AG) e solução nutritiva (SN). Santa Maria, RS, 2007.

Clones	AG	SN	AG	SN
	Sobrevivência (%)		Enraizamento (%)	
Macaca	54,9 Aa*	63,3 aA	44,9 aA	61,6 aA
SMINIA793101-3	64,9 aA	81,6 aA	49,9 aA	68,3 aA
Asterix	16,6 bA	0 bB	13,3 bA	0 bB
CV(%)	27,7		30,8	
Clones	AG	SN	AG	SN
	N° de raízes		Comp. da maior raiz (cm)	
Macaca	7,8 aA	5,9 aA	4,1 aA	4,0 aA
SMINIA793101-3	5,8aA	5,5 aA	3,1 aA	3,4 aA
Asterix	3,3 bA	0 bB	1,0 bA	0 bB
CV(%)	23,6		22,31	

*Medias seguidas pela mesma letra, minúscula na vertical e maiúscula na horizontal, não diferem entre si pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade de erro.

Na segunda etapa, não foi verificada interação entre clones e soluções de irrigação (água combinada com solução nutritiva e somente solução nutritiva)

(Tabela 2). Para a porcentagem de sobrevivência e de enraizamento houve diferença entre todos os clones, com destaque para o clone SMINIA793101-3 que se apresentou superior aos demais, e para o clone Asterix que novamente apresentou a porcentagem de sobrevivência e de enraizamento e número de raízes, próximo a zero. Raízes mais curtas também foram observadas neste clone. Para número de raízes e comprimento da maior raiz, os clones Macaca e SMINIA793101-3 não diferiram entre si. Não foram observadas diferenças entre as formas de irrigação.

Nas duas etapas do experimento, a sobrevivência e o enraizamento de miniestacas de batata podem ser considerados baixos. Em estacas de tomateiro (*Lycopersicon esculentum*) obtidas a partir de brotações de gemas axilares, aos 19 dias de enraizamento em solução nutritiva, foi observada uma taxa de 96% de estacas enraizadas (FERNANDES et al., 2004).

Tabela 2 – Porcentagem de sobrevivência, porcentagem de enraizamento, número médio de raízes e comprimento médio da maior raiz de miniestacas apicais de três clones de batata, enraizadas durante 21 dias em areia, com um dos tratamentos sendo irrigação com água somente 10 dias, passando após para solução nutritiva e o outro somente irrigação com solução nutritiva durante 21 dias. Santa Maria, RS, 2007.

Clones	Sobrevivência (%)	Enraizamento (%)	Nº de Raízes	Comp. da maior raiz (cm)
Macaca	14,2 b*	13,3 b	4,1 a	4,7 a
SMINIA793101-3	40,0 a	36,7 a	3,9 a	3,8 a
Asterix	0,8 c	0,8 c	0,1 b	2,5 b
Irrigação				
Água/Sol. nutritiva	14,4 a	13,3 a	2,7 a	2,4 a
Sol. nutritiva	22,2 a	20,5 a	2,7 a	3,4 a
CV(%)	46,1	44	31,1	41

*Medias seguidas pela mesma letra, minúscula na vertical, não diferem entre si pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade de erro.

Foi constatado que o enraizamento de miniestacas apicais de batata pode ser realizado utilizando-se tanto água de torneira quanto solução nutritiva desenvolvida para o cultivo sem solo de batata e que a combinação de ambas não difere em relação ao uso somente de solução nutritiva. Dessa maneira, a escolha da solução a ser utilizada poderá ser feita de acordo com a disponibilidade no local de produção

das miniestacas, ou seja, se empregado o uso do sistema de cultivo sem solo, poderia ser utilizada a solução nutritiva para a irrigação das miniestacas.

Sob as condições de produção empregada neste trabalho (sistema de enraizamento com areia e coberto com sombrite), a baixa taxa de sobrevivência verificada pode estar relacionada com a desidratação das miniestacas, uma vez que a batata é uma planta herbácea e perde com facilidade a água dos tecidos e o experimento foi conduzido no final da primavera onde as temperaturas são mais elevadas. Isso sugere que um ambiente controlado, com a manutenção da umidade relativa do ar elevada, deva ser utilizado para se obter uma maior eficiência. Em trabalho desenvolvido com a espécie ornamental *Ixora coccínea* L. “Compacta” (mini-exora), foi verificado que o uso de areia como substrato combinado ao uso de câmara úmida favoreceu a sobrevivência e o maior número de estacas enraizadas (ALMEIDA et al., 2008). Areia também foi o substrato mais adequado para o enraizamento das estacas de nandina (*Nandina domestica* Thunb.) e produção de massa seca de raízes e brotações, no entanto, as estacas recebiam irrigação periódica por meio de nebulização (CARVALHO; GOSEK, 2008). No entanto, para o clone Asterix, além do efeito das condições ambientais, o potencial de enraizamento pode estar sendo afetado por fatores genéticos e/ou relativos aos níveis de promotores e inibidores do enraizamento das miniestacas.

4.3.2 Idade da planta matriz

Houve interação entre clones e idade da planta matriz apenas para sobrevivência das miniestacas. Para os três clones, miniestacas de plantas jovens não apresentaram diferença quanto a sobrevivência, com um percentual superior a 84%. No entanto, para a sobrevivência das miniestacas de plantas adultas houve diferença entre clones, sendo a menor sobrevivência observada com Asterix (8,3%) e a maior com o clone SMINIA793101-3 (51,7%). Miniestacas de plantas jovens apresentaram maior sobrevivência para todos os clones avaliados. É importante destacar que o clone Asterix apresentou uma superioridade de quase 80 pontos percentuais na sobrevivência das miniestacas de plantas jovens em relação às de plantas adultas (Tabela 3).

Tabela 3 – Porcentagem de sobrevivência de miniestacas apicais de três clones de batata em função da idade das plantas matrizes (jovens = 15 dias de aclimatização; adultas = em produção), após 21 dias de enraizamento. Santa Maria, RS, 2008.

Clones	Planta jovem	Planta adulta
Macaca	85,0 aA*	31,7 abB
SMINIA793101-3	90,0 aA	51,7 aB
Asterix	86,7 aA	8,3 bB
CV(%)	16,5	

*Medias seguidas pela mesma letra, minúscula na vertical e maiúscula na horizontal, não diferem entre si pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade de erro.

Para as variáveis, porcentagem de enraizamento, número médio de raízes por miniestaca e comprimento médio de raízes não foi verificada diferença entre os clones (Tabela 4). No entanto, para a idade da planta matriz, verificou-se a superioridade das miniestacas jovens para todas as variáveis avaliadas, evidenciando que a idade das plantas tem influencia direta no sucesso na produção de miniestacas de batata. A elevada porcentagem de enraizamento de miniestacas apicais obtidas de plantas jovens (15 dias de aclimatização) verificado nesse trabalho está de acordo com o obtido por Pereira; Fortes (2004), com o mesmo tipo de material. Em trabalho com *Backhousia citriodora* F. Muell, planta da família das mirtáceas, onde foi avaliado a influência da maturação da planta matriz e diferentes genótipos, sobre o enraizamento de estacas, foi observado que a juvenilidade e o genótipo são fatores críticos para o enraizamento (KIBBLER et al., 2004).

De acordo com os resultados deste experimento, quando utilizadas miniestacas de plantas jovens o enraizamento no sistema com areia é satisfatório. Porém, foi observado que mesmo durante o outono (época em que foi realizado o trabalho), onde a temperatura média normalmente é mais amena, as miniestacas de plantas adultas apresentaram baixa taxa de sobrevivência e de enraizamento, com destaque para o clone Asterix. Isso indica a possível necessidade do uso de um fitorregulador para promover o enraizamento de miniestacas apicais retiradas de plantas adultas.

Tabela 4 – Porcentagem de enraizamento, número médio de raízes e comprimento médio da maior raiz, para miniestacas apicais de três clones de batata em função da idade das plantas matrizes (jovens = 15 dias de aclimatização; adultas = em produção), após 21 dias de enraizamento. Santa Maria, RS, 2008.

Clone	Enraizamento (%)	N° de raízes	Comp. de raízes (cm)
Macaca	48,3 a*	3,2 a	2,5 a
SMINIA793101-3	50,0 a	2,9 a	2,6 a
Asterix	45,8 a	2,4 a	1,6 a
Idade da planta			
Jovem	87,2 a	4,4 a	3,2 a
Adulta	8,9 b	1,3 b	1,2 b
CV(%)	21,6	20,3	25,1

*Medias seguidas pela mesma letra, minúscula na vertical, não diferem entre si pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade de erro.

4.3.3 Aplicação do ácido indol-butírico

Para comprimento de raízes, massa seca de raízes e número de folhas por miniestaca foi observado comportamento variável em função das diferentes concentrações de AIB utilizadas, não sendo possível obtenção de resultados conclusivos quanto ao efeito do uso de AIB sobre estas variáveis.

Para porcentagem de sobrevivência, de enraizamento e para massa seca de parte aérea não foi observada diferença entre tratamentos. A taxa média de sobrevivência foi de 83,8% e de enraizamento foi de 81,8% e a massa seca média de parte aérea foi de 0,047 g por planta. Exceto para o tratamento testemunha (0 mg L⁻¹ de AIB), nas demais concentrações, todas as miniestacas que sobreviveram também enraizaram.

Neste experimento foi verificado uma elevada taxa de sobrevivência e de enraizamento na concentração de 0 mg L⁻¹ de AIB (acima de 70%), contrariando o esperado para o enraizamento de miniestacas extraídas de plantas adultas do clone Asterix. A possível explicação pode estar associada ao tipo de miniestaca utilizada, pois foram confeccionadas de ápices de brotações emitidas de gemas axilares, uma vez que as plantas haviam sido podadas e, nos experimentos anteriores, os ápices utilizados haviam sido retirados da haste principal.

É possível que miniestacas com tecidos em pleno crescimento tenham o enraizamento favorecido, dando indícios de que o uso de AIB possa ser descartado quando utilizado este tipo de miniestaca. Em tomateiro, estacas apicais extraídas de brotações laterais apresentaram 98,7% de enraizamento aos 19 dias (FERNANDES et al., 2004).

Mesmo não havendo diferença entre a porcentagem de enraizamento das miniestacas, o número de raízes mostrou comportamento quadrático, com ponto de máxima na concentração de 794 mg L⁻¹ de AIB, tendo um leve decréscimo até a concentração de 900 mg L⁻¹ (Figura 2). Portanto, considerando o número de raízes, não há a necessidade do uso de concentrações superiores a 794 mg L⁻¹ de AIB. Resultado semelhante foi observado em estacas de origem apical e mediana, obtidas de plantas de batata com 15 dias de aclimatização, onde o aumento do número de raízes se deu até a concentração de 750 mg L⁻¹ de AIB (PEREIRA; FORTES, 2004).

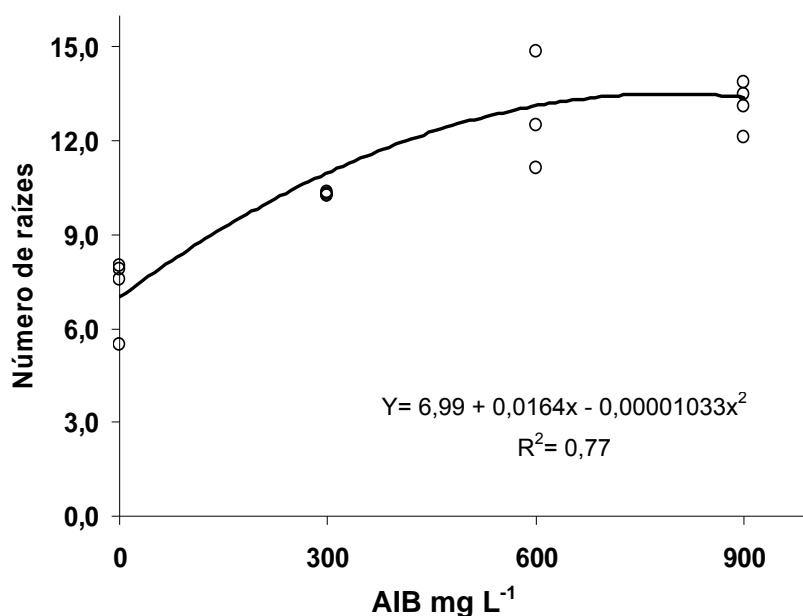


Figura 2 – Número de raízes por miniestacas de batata do clone Asterix em função da aplicação de diferentes concentrações de AIB. Santa Maria, RS, 2008.

4.4 Conclusões

Miniestacas de batata podem ser enraizadas sendo irrigadas tanto com água de torneira quanto com solução nutritiva completa com $CE= 1 \text{ dS m}^{-1}$.

Miniestacas retiradas de planta recém aclimatizadas tem maior potencial de enraizamento do que aquelas de plantas adultas.

A aplicação de ácido indol-butírico não interfere na porcentagem de enraizamento, mas possui influência no número de raízes das miniestacas extraídas de brotações axilares do clone Asterix.

5 DISCUSSÃO GERAL

Em relação a micropropagação e aclimatização de plântulas dos três clones de batata, foi verificado uma elevada sobrevivência de plântulas e, também, a possibilidade de diminuição de custos na produção das plântulas micropropagadas pela redução de 50% dos sais do meio MS na etapa anterior a aclimatização, abrindo precedentes para estudos com relação a micropropagação *in vitro* utilizando menor quantidade de nutrientes. Quanto ao sistema de aclimatização, pelos altos índices de sobrevivência observados, pode-se concluir que os tipos de sistemas empregados forneceram as condições necessárias para a sobrevivência das plântulas de batata durante a aclimatização, não sendo necessários investimentos onerosos para esta fase, como o uso de câmaras de nebulização. Outra constatação foi que as doses de sacarose não tiveram interferência na aclimatização das plântulas de batata, ao contrário do observado em *C. nucifera*. (FUENTES et al., 2005), *A. retusa* (PACHECO et al., 2006) e *P. glomerata* (SKREBSKY et al., 2006). Durante o cultivo *in vitro* o aumento da sacarose adicionada ao meio MS promoveu uma diminuição no comprimento das brotações e também no número de folhas, o que não seria desejável se o objetivo buscado fosse taxa de multiplicação do material.

Em relação a produção de mudas através de miniestacas, apesar de ápices caulinares de plantas adultas de batata terem apresentando baixos índices de enraizamento, existe a possibilidade destes serem utilizados para a produção de mudas. O aumento do número de miniestacas vivas e enraizadas poderia ser conseguido através do fornecimento de condições mais favoráveis ao ambiente de enraizamento, pelo menos no início do processo, visto que a batata é uma planta herbácea e as miniestacas desidratam com facilidade. No entanto, esta modificação no ambiente parece não ser necessária para miniestacas retiradas de plantas jovens, que apresentaram elevada sobrevivência e enraizamento. Em vista disso, essas plantas poderiam ser utilizadas para formação de mini jardins clonais, utilizando-se para isto o sistema de aclimatização em areia que se adapta a produção de mudas, de onde periodicamente poderiam ser extraída miniestacas para serem enraizadas.

O sistema desenvolvido para aclimatização de plântulas batata, que utiliza areia, mostrou-se adequado também para o enraizamento de miniestacas. A principal vantagem está na produção de mudas adaptadas ao sistema de cultivo sem solo utilizando areia grossa como substrato. Isso se deve ao fato do sistema radicular das mudas, tanto aclimatizadas, quanto produzidas por miniestaquia, estarem crescendo em uma condição muito similar a condição definitiva de produção, reduzindo a necessidade de uma nova adaptação do sistema radicular após o transplante das mudas. Além do mais, para este sistema tanto água de torneira quanto solução nutritiva pode ser utilizada na irrigação das miniestacas, podendo a escolha ser efetuada de acordo com a disponibilidade no local de produção das mudas.

Os resultados não significativos quanto ao uso de AIB sobre a taxa de sobrevivência e enraizamento de miniestacas retiradas de ápices de brotações laterais de plantas adultas do clone Asterix, apontam para uma maior eficiência no enraizamento deste tipo de material em relação as miniestacas retiradas de ápices da haste principal, entretanto, há a necessidade de estudos mais detalhados para avaliar este comportamento distinto quanto a origem das miniestacas dentro de um mesmo clone.

6 CONCLUSÕES GERAIS

Plantas de batata podem se micropropagadas em meio MS contendo a metade da concentração de sais, suplementado com 30 g L⁻¹ de sacarose, e aclimatizadas tanto em sistema com flutuação em solução nutritiva quanto no que utiliza areia como substrato.

Miniestacas de ápices caulinares de batata podem ser enraizadas sendo irrigadas tanto com água de torneira quanto com solução nutritiva.

O potencial de enraizamento das miniestacas é negativamente afetado pelo avanço da idade fisiológica da planta matriz, devendo-se dar prioridade ao uso de plantas recém aclimatizadas.

Miniestacas obtidas de brotações axilares de plantas de batata do clone Asterix enraízam sem a necessidade da aplicação de ácido indol-butírico.

7 REFERÊNCIAS

- ASSIS, M. Novas tecnologias na propagação de batata. **Informe Agropecuário**. Belo Horizonte, v. 20, n. 197, p. 30-33, mar./abr. 1999.
- ALMEIDA, E. F. A. et al. Diferentes substratos e ambientes para enraizamento de mini-ixora (*Ixora coccinea* L. "Compacta"). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 32, n. 5, p. 1449-1453, set./out. 2008.
- ANDRIOLO, J. L. Sistema hidropônico fechado com subirrigação para produção de minitubérculos de batata. In: SIMPÓSIO DE MELHORAMENTO GENÉTICO E PREVISÃO DE EPIFITIAS EM BATATA, 2006, Santa Maria, **Anais...** Santa Maria: UFSM, 2006. p. 26-40.
- BIASI, L. A. et al. Micropropagação do porta-enxerto de videira Jales. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 33, n. 10, p. 1587-1594, out. 1998.
- BISOGNIN, D. A. Produção de plantas matrizes de morangueiro. In: SEMINÁRIO SOBRE O CULTIVO HÍDRÔNICO DE MORANGUEIRO, 2007, Santa Maria, **Anais...** Santa Maria: UFSM, CCR, Departamento de Fitotecnia. p. 9-17.
- BLYTHE, E. K. et al. Cutting propagation of foliage crops using a foliar application of auxin. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, n. 103, p. 31-37, 2004.
- CALDEVILLA, E. M.; LOZANO, M. G. **Cultivos sin suelo**: hortalizas en clima mediterraneo. Réus: Ed. de Horticultura, 1993. 123 p.
- CAPELLADES, M.; LEMEUR, R.; DEBERGH, P. Effects of sucrose on starch accumulation and rate of photosynthesis in *Rosa* cultured *in vitro*. 1991. In: VORÁČKOVÁ, Z.; LIPAVSKÁ, H.; KONEČNÝ, P. The efficiency of transfer of plants cultivated *in vitro* to *ex vitro* conditions as affected by sugar supply. **Biologia Plantarum**, Praha, v. 41, n. 4, p. 507-513, Jul./Aug. 1998.
- CARVALHO, R. I. N.; GOSEK, C.F. Enraizamento de estacas de nandina em diferentes substratos. **Scientia Agrária**, Curitiba, v. 9, n. 1, p. 123-127, jan./jun. 2008.
- DALTON, C. C.; STREET, H. E. The influence of applied carbohydrates on the growth and greening of culture spinach (*Spinacea oleracea* L.) cells. 1977. In: SILVA, J.R. dos S. et al. Efeito da sacarose sobre o enraizamento e desenvolvimento "*in vitro*" de *Syngonanthus mucugensis* Giul. **Sitientibus Série Ciências Biológicas**, Feira de Santana, v. 5, n. 2, p. 56-59, jul./dez. 2005.

DELLAI, J. **Densidade de plantio e poda da parte aérea na partição de massa seca de plantas de batata em hidroponia**. 2007. 56 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria.

DELLAI, J. et al. Densidade de plantio na produção hidropônica de minitubérculos de batata. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 38, n. 6, p. 1534-1539, nov./dez. 2008.

DEBERGH, P. C.; MAENE, L. J. A scheme for commercial propagation of ornamental plants by tissue culture. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 14, p. 335-345, 1981.

DESJARDINS, Y.; GOSSELIN, A.; YELLE, S. Acclimatization of *ex vitro* strawberry plantlets in CO₂ - enriched environments and supplementary lighting. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 112, p. 846-851, 1987.

DÍAZ-PÉREZ, J. C.; SHAKEL, K. A.; SUTTER, E. G. Effects of *in vitro* formed roots and acclimatization on water status and gas exchange of tissue cultured apple shoots. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 120, n. 3, p. 435-440, May/Jun. 1995.

EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa Tecnológica em Informática para Agricultura. Ambiente software NTIA, versão 4.2.2: Manual do Usuário - Ferramental Estatístico. Campinas, 1997.

ERIG, A. C. et al. Enraizamento *in vitro* e aclimatização de mudas de marmeleiro cvs. MC e Adams, utilizadas como porta-enxerto para a pereira. **Scientia Agraria**, Curitiba, v. 5, n. 1-2, p. 61-68, jan./jun. 2004.

FACHINELLO, J. C. et al. **Propagação de plantas frutíferas de clima temperado**. Pelotas: UFPel, 1994. 179 p.

FAO. FAOSTAT data 2008. **Produção mundial de batata**. Disponível em: <<http://faostat.fao.org/faostat>>. Acesso em: 23 nov. 2008.

FAVORETTO P. **Parâmetros de crescimento e marcha de absorção de nutrientes na produção de minitubérculos de batata cv. Atlantic**. 2005. 98 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade de São Paulo - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba.

FERREIRA, M. E. et al. Aplicações da cultura de tecidos no melhoramento genético de plantas. In: TORRES, A. C. et al. (Org.) **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: Embrapa-SPI, 1998. p. 21-44.

FERNANDES, A. A. et al. Produção de mudas de tomateiro por meio de estacas enraizadas em hidroponia. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 39, n. 4, p. 343-348, abr. 2004.

FORTES, G. R. L.; PEREIRA, J. E. S. Batata-semente Pré-básica: Cultura de Tecidos. In: PEREIRA, A.S.; DANIELS, J. (Org.). **O cultivo da batata na região sul do Brasil**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2003. p. 421-433.

FUENTES, G. et al. Exogenous sucrose can decrease *in vitro* photosynthesis but improve field survival and growth of coconut (*Cocos nucifera* L.) *in vitro* plantlets. **In Vitro Cellular and Development Biology – Plant**, Columbia, v. 41, n. 1, p. 69-76, Jan./Feb. 2005.

GALSTON, A. W.; DAVIES, P. J.; SATTER, R. L. **The life of the green plant**. 3. ed. New Jersey: Prentice-Hall, 1980. 464 p.

GEORGE, E. F. **Plant propagation by tissue culture: The technology**. 2. ed. England: Exegetics, 1993. v. 1. 575 p.

GIUSTO, A. B. **Tecnologia do broto como propágulo na produção de minitubérculos de batata-semente: avaliação do ELISA na detecção de quatro vírus regulamentados**. 2006. 142 f. Dissertação (Mestrado em Agricultura Tropical e Subtropical) Instituto Agronômico de Campinas. Campinas.

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

GROUT, M. C.; MILLAN, S. Photochemical development of micropropagated strawberry plantlets following transplanting. **Annals of Botany**, Oxford, v. 55, n. 1, p. 129-131, Jan. 1985.

GUERRA, M. P. et al. Estabelecimento de um protocolo regenerativo para a micropropagação do abacaxizeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 34, n. 9, p. 1557-1563, set., 1999.

HARTMANN, H. T. et al. **Plant propagation: principles and practices**. 7th ed. Upper Saddle River, New Jersey: Prentice Hall, 2002. 847 p.

HAWKES, J. G. Origins of cultivated potatoes and species relationships. In: BRADSHAW, J. E.; MACKAY, R. R. **Potato Genetics**. Cambridge: CAB International, 1994. p. 3-42.

HAZARIKA, B. N. Acclimatization of tissue-cultured plants. **Current Science**, Bangalore, v. 85, n. 12, p. 1704-1712, Dec. 2003.

HUIMEI, W.; YUANGANG, Z.; HONGMEI, L. Efficient rooting and root development after transfer of regenerated plantlets of *Camptotheca acuminata*. **Eurasian Journal of Forest Research**, Sapporo, v. 10, n. 2, p. 179-184, Jan./Dec. 2007.

IBGE - Estatística. **Produção nacional de batata**. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/servidor_arquivos_est/>. Acesso em: 07 dez. 2008.

KADLECEK, P. et al. Importance of *in vitro* pretreatment for *ex vitro* acclimatization and growth. **Plant Science**, Limerick, v.161, n.4, p. 695-701, Sept. 2001.

KANECHI, M. et al. The effects of carbon dioxide enrichment, natural ventilation, and light intensity on growth, photosynthesis, and transpiration of cauliflower plantlets cultured *in vitro* photoautotrophically and photomixotrophically. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 123, n. 2, p. 176-181, 1998.

KIBBLER, H.; JOHNSTON, M. E.; WILLIAMS, R. R. Adventitious root formation in cuttings of *Backhousia citriodora* F. Muell 1. Plant genotype, juvenility and characteristics of cuttings. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, n. 102, p. 133-143, 2004.

KIM, S.Y. et al. Hydroponic culture system for the production of seed tubers without soil. **American Journal of Potato Research**, Orono, v. 77, n. 6, p. 394, Nov./Dec. 2000.

KOZAI, T. Micropropagation under photoautotrophic conditions. In: DEBERGH, P. C., ZIMMERMAN, R. H. (ed.): **Micropropagation. Technology and Application**. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht - Boston - London, 1991. p. 447-469.

KOZAI, T.; KUBOTA, C.; JEONG, B. R. Environmental control for the large-scale production of plants through *in vitro* techniques. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Dordrecht, v. 51, n. 1, p. 49-56, Oct. 1997.

KOZAI, T.; KUBOTA, C. Developing a photoautotrophic micropropagation system for woody plants. **Journal of Plant Research**, Tokyo, v.114, n. 4, p. 525-537, Jul./Aug. 2001.

LOPES, C. A.; BUSO, J. A. **Cultivo da batata (*Solanum tuberosum* L.)**. Brasília: Embrapa Hortaliças, 1997. 36 p.

MACIEL, A. L. R.; SILVA, A. B.; PASQUAL, M. Aclimação de plantas de violeta africana (*Saintpaulia ionantha* Wendl.) obtidas "*in vitro*": efeitos do substrato. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 24, n. 1, p. 9-12, jan./mar. 2000.

MEDEIROS, C. A. B. et al. Produção de sementes pré-básicas de batata em sistemas hidropônicos. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 20, n. 1, p. 110-114, jan./jun. 2002.

MENZEL, C. M. Tuberization in potato at high temperatures: promotion by disbudding. **Annals of Botany**, Oxford, v. 47, p. 727-733, Jun. 1981.

MÜLLER, et al. Produção hidropônica de batata em diferentes concentrações de solução nutritiva e épocas de cultivo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 42, n. 5, p. 647-653, maio 2007.

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

MURASHIGE, T. Plant propagation through tissue culture. **Annual Review of Plant Physiology**, Palo Alto, v. 25, p. 135-166, 1974.

NICOLOSO, F. T. et al. Efeito de doses e fontes de carboidratos no crescimento de plantas de ginseng brasileiro (*Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen) cultivadas *in vitro*. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 27, n. 1, p. 84-90, jan./mar. 2003.

PACHECO, G. et al. Influence of substrates and *in vitro* preconditioning treatments on ex vitro acclimatization of *Arachis retusa*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 41, n. 1, p. 165-169, jan. 2006.

PAIVA, P. D. O. et al. Propagação *in vitro* de Gloxínia. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, Campinas, v. 3, n. 2, p. 29-41, jul./dez. 1997.

PANDEY, D. M. et al. Effects of different irradiances on the photosynthetic process during *ex-vitro* acclimation of *Anoectochilus* plantlets. **Photosynthetica**, Praga, v. 44, n. 3, p. 419-424, Jul./Sept. 2006.

PEREIRA, J. E. S. et al. Avaliação de dois sistemas hidropônicos na produção de material pré-básico de batata. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.19, suplemento CD-Rom, 3p., 2001.

PEREIRA, J. E. S.; FORTES, G. R. de L. Produção de mudas pré-básicas de batata por estaquia a partir de plantas micropropagadas. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 22, n. 2, p. 186-192, abr./jun. 2004.

PEREIRA, J.E.S. et al. Influência do número de gemas, presença ou ausência de folhas e posição do explante na multiplicação *in vitro* da batata. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.23, n.1, p.86-89, jan./jun. 2005.

POSPÍŠILOVÁ, J. et al. Photosynthetic responses to stress during *in vitro* cultivation. 1992. In: VORÁČKOVÁ, Z.; LIPAVSKÁ, H.; KONEČNÝ, P. The efficiency of transfer of plants cultivated in vitro to *ex vitro* conditions as affected by sugar supply. **Biologia Plantarum**, Praha, v. 41, n. 4, p. 507-513, Jul./Aug. 1998.

POSPÍŠILOVÁ, J. et al. Acclimation of tobacco plantlets to *ex vitro* conditions as affected by application of abscisic acid. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 49, n. 322, p. 863-869, May 1998.

POSPÍŠILOVÁ, J. et al. Acclimatization of micropropagated plants to *ex vitro* conditions. **Biologia Plantarum**, Praha, v. 42, n. 4, p. 481-497, Jul./Aug. 1999.

PREECE, J. E.; SUTTER, E. G. Acclimatization of micropropagated plants to the greenhouse and field. In: DEBERGH, P. C.; ZIMMERMAN, R. H. (Org.). **Micropropagation: Technology and Application**. London: Kluwer Academic Publishers, 1991. p. 70-93.

PREMKUMAR, A. et al. Effects of *in vitro* tissue culture conditions and acclimatization on the contents of Rubisco, leaf soluble proteins, photosynthetic pigments, and C/N ratio. **Journal of Plant Physiology**, Stuttgart, v. 158, n. 7, p. 835-840, Jul. 2001.

RADMANN, E. B. et al. Influência da densidade do fluxo luminoso na qualidade de plantas micropropagadas de *Gypsophila paniculata* L. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 7, n. 3, p. 171-175, set./dez. 2001.

RIBEIRO, M. F. et al. Influência de diferentes concentrações de sais de MS e açúcares no cultivo *in vitro* de manjeriço roxo (*Ocimum basilicum* L.). **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 5, n.1, p. 57-59, jul. 2007.

RIQUELME, C.; GUIÑAZU, M. E.; TIZIO, R. Pre-acondicionamiento y aclimatización em condiciones de invernáculo de plântulas micropropagadas de frutilla, menta, papa y vid. **Phyton**, Buenos Aires, v. 52, n. 1, p. 73-82, ene./ jun. 1991.

RUSSOWSKI, D.; NICOLOSO, F. T. Nitrogênio e fósforo no crescimento de plantas de Ginseng Brasileiro [*Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen] cultivadas *in vitro*. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 33, n. 1, p. 57-63, jan./fev. 2003.

SANDRI, M. A. et al. High density of defoliated tomato plants in protected cultivation and its effects on development of trusses and fruits. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 20, n. 3, p. 485-489, jul./set., 2002.

SEON, J. H. et al. Influence of *in vitro* growth conditions on photosynthetic competence and survival rate of *Rehmannia glutinosa* plantlets during acclimatization period. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Dordrecht, v. 61, n. 1, p. 135-142, Apr. 2000.

SHIM, S. W.; HAHN, E. J.; PAEK, K. Y. *In vitro* and *ex vitro* growth of grapevine rootstock "5BB" as influenced by number of air exchanges and the presence or absence of sucrose in culture media. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Dordrecht, v. 75, n. 1, p. 57-62, Oct. 2003.

SILVA, R. M. Multiplicação rápida. In: REIFSCHNEIDER, F. J. B. (Org.) **Produção de Batata**. 1. ed. Brasília: Linha Graf. e Ed., 1987. p. 194 - 210.

SKREBSKY, E. C. et al. Sacarose e período de cultivo *in vitro* na aclimatização *ex vitro* de ginseng brasileiro (*Pfaffia glomerata* Spreng. Pedersen). **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34, n. 5, p. 1471-1477, set./out. 2004.

SKREBSKY, E. C.; NICOLOSO, F. T.; MALDANER, J. Substratos na aclimatização de *Pfaffia glomerata* (Spreng) Pedersen produzida *in vitro* sob diferentes doses de sacarose. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 36, n. 5, p. 1416-1423, set./out. 2006.

THOMPSON-JOHNS, A. et al. **Potato production in the home garden**. University of Idaho. 1998. Disponível em: <<http://info.ag.uidaho.edu/Resources/PDFs/CIS1000.pdf>> Acesso em 18 nov. 2008.

TORRES, A. C. et al. Retrospectiva da cultura de tecidos. In: TORRES, A. C. et al. (Org.) **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: Embrapa-SPI, 1998a. p.11-20.

TORRES, A. C. et al. Cultura de ápices caulinares e recuperação de plantas livre de vírus. In: TORRES, A. C. et al. (Org.) **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: Embrapa-SPI, 1998b. p.133-146.

UEMOTO, L. K. et al. Estabelecimento de um protocolo para a propagação *in vitro* de rainha-do-abismo, *Sinningia leucotricha* (Hoehne) Moore - (Gesneriaceae). **Acta Scientia Agronômica**, Maringá, v. 28, n. 4, p. 503-506, Oct./Dec. 2006.

VORÁČKOVÁ, Z.; LIPAVSKÁ, H.; KONEČNÝ, P. The efficiency of transfer of plants cultivated *in vitro* to *ex vitro* conditions as affected by sugar supply. **Biologia Plantarum**, Praha, v. 41, n. 4, p. 507-513, Jul./Aug. 1998.

WASSNER, D.; RAVETTA, D. Vegetative propagation of *Grindelia chilensis* (Asteraceae). **Industrial Crops and Products**, St. Louis, v. 11, n. 1, p. 7-10, Jan., 2000.

WOODHEAD, J. L.; BIRD, K. T. Efficient rooting and acclimation of micropropagated *Ruppia maritima* Loisel. **Journal of Marine Biotechnology**, New York, v. 6, n. 3, p. 152-156, Jul./Sept. 1998.

APÊNDICE

APÊNDICE A – Plântulas de batata aclimatizadas em sistema com flutuação (A) e em sistema com substrato (areia) (B). Sistema para enraizamento de miniestacas de plantas de batata (C). Detalhe das miniestacas sendo enraizadas (D). Miniestacas após 21 dias de enraizamento em areia, prontas para o plantio (E1 e E2).

