

Enraizamento *in vitro* e aclimatização de mudas micropropagadas de *Aloe vera* L.

SILVA, C.G.¹; DEBIASI, C.^{1,2*}; PESCADOR, R.¹

¹FURB - Fundação Universidade Regional de Blumenau, Blumenau-SC, 89010-971; ²Doutorando em Agronomia, bolsista CNPq. UNESP - Universidade Estadual Paulista, Botucatu-SP, 18610-307. *Autor correspondente (debiasi@fca.unesp.br)

RESUMO. Com o objetivo de estabelecer um método eficiente de aclimação de *Aloe vera* micropropagada, foram avaliados os efeitos do ácido Indol-butírico (AIB) (T1=zero; T2=1,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$; T3=2,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$; T4=4,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$; T5=8,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e T2=10,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$) sobre o enraizamento *in vitro* e posteriormente foram testados diferentes substratos (Ta=Casca de arroz carbonizada; Tb=Areia; Tc=Plantmax[®]; Td=Casca de arroz carbonizada + Areia em 1:1; Te=Casca de arroz carbonizada + Plantmax[®] em 1:1; e Tf=Areia + Plantmax[®] em 1:1) para o crescimento e desenvolvimento das mudas em casa de vegetação. Concluiu-se que brotos micropropagados de *A. vera*, com tamanho médio de 1,5 cm devem ser enraizados *in vitro*, durante 30 dias, em meio de cultura MS suplementado com 1,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de IBA, sacarose (30 g L⁻¹) e Agar (7 g L⁻¹), pH ajustado para 5,8, mantidos em câmara de crescimento a uma temperatura de 25 \pm 2° C, com fotoperíodo de 16 horas/luz (50 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de intensidade) e 8 horas/escuro. Em seguida devem ser aclimatizados em substrato comercial Plantmax[®], durante 60 dias, em casa de vegetação (25 \pm 2° C, 80% de UR do ar e 40% de redução da radiação solar). Dessa forma, 95% das plantas micropropagadas de *A. vera* estarão prontas para serem transplantadas em definitivo para o campo de produção, elitizadas no que diz respeito à qualidade genética e fitossanitária.

Palavras chave: Babosa, aclimatização, ácido Indol-butírico, substrato, micropropagação.

ABSTRACT. *In vitro* rooting and acclimatization of micropropagated plants of *Aloe vera* L.

With the objective to establish an efficient method of acclimatization of *A. vera*, the effect of the Indol-butiric acid (IBA) had been evaluated (T1=zero; T2=1.0 $\mu\text{mol L}^{-1}$; T3=2.0 $\mu\text{mol L}^{-1}$; T4=4.0 $\mu\text{mol L}^{-1}$; T5=8.0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ and T2=10.0 $\mu\text{mol L}^{-1}$) on *in vitro* rooting. For acclimatization the following substrates were tested: Ta=Carbonized rind of rice; Tb=Sand; Tc=Plantmax[®]; Td=Carbonized rind of rice + Sand in 1:1; Te=Carbonized rind of rice + Plantmax[®] in 1:1; e Tf=Sand + Plantmax[®] in 1:1 for the growth and development of the plantlets in greenhouse. One concluded that sprouts of *A. vera*, with average size of 1.5 cm must be taken *in vitro* rooting, during 30 days, in MS media culture supplemented with 1.0 $\mu\text{mol/L}$ of IBA, sucrose (30 g L⁻¹) and Agar (7 g L⁻¹), pH adjusted for 5.8, kept in chamber of growth to a temperature of 25 \pm 2° C, with photoperiod of 16 hours light (50 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ of intensity) and 8 hours dark. After that they must be acclimatized in substratum Plantmax[®], during 60 days, in greenhouse (25 \pm 2° C, 80% of UR and 40% of reduction of the solar radiation). Of this, 95% of the *A. vera* plants will be ready to be transplanted in definitive for the production field, differentiated in that it says respect the genetic and phytosanitary quality.

Key words: *Aloe vera* L., acclimatization, indol-butyric acid, substrate, micropropagation.

INTRODUÇÃO

Pertencente a família Liliaceae, *Aloe vera* L. (babosa) é uma das espécies medicinais mais utilizadas, tanto na medicina tradicional, quanto na homeopática, além de ser empregada na produção

de cosméticos e como planta ornamental. Atualmente é um dos fitoterápicos que possui maior quantidade de pesquisas que comprovam sua eficiência, sendo eficaz no caso de diversas patologias em seres humanos e também em animais. Dado a este fato, a

Recebido para publicação em 24/05/2005

Aceito para publicação em 19/12/2005

demanda por matéria prima desta espécie é crescente em todo o mundo, o que leva a necessidade de se produzir cada vez mais, não só em quantidade, principalmente em qualidade.

As plantas medicinais podem apresentar problemas relacionados à produção de mudas. A recalcitrância apresentada como, por exemplo, a não produção de sementes, exigências específicas de temperaturas e luminosidade, dormência e ataque por pragas e doenças, podem impedir a sistematização na produção de mudas. Particularmente, *A. vera* é convencionalmente propagada via divisão de brotos laterais, atingindo em média 4 mudas/ano. A aplicação da micropropagação em espécies do gênero *Aloe*, quando comparada ao método convencional, supera significativamente, não só no número de mudas produzidas, mais principalmente na qualidade delas, além de reduzir o tempo gasto na produção

Mesmo existindo protocolos de micropropagação de espécies de *Aloe* (Aggarwal & Barna, 2004; Chukwujekwu et al., 2002; Abrie & Van Staden, 2001; Araujo et al., 2002; Liao et al., 2004; Natali et al., 1990; Meyer & Van Staden, 1991), poucos são aqueles que abordam os problemas relacionados ao enraizamento e à aclimação. Ambas as etapas podem comprometer todo processo de micropropagação. Assim, o propósito da rizogênese é a formação de raízes adventícias nas hastes caulinares obtidas no estágio de multiplicação *in vitro*, permitindo a formação de uma planta completa, o que a princípio favoreceria a aclimação em condições *ex vitro*.

A baixa luminosidade e alta umidade relativa nos frascos de cultura *in vitro* dificultam o estabelecimento de condições autotróficas normais para algumas espécies, quando transferidas para aclimação (Pedrotti, 2001). Para que as mudas tenham uma alta taxa de sobrevivência na aclimação, é necessário que estas produzam novas raízes em substratos, e que estes possuam condições físicas e nutricionais adequadas. Além do mais, a planta deverá desenvolver mecanismos de controle de transpiração e condutância estomática (Díaz-Perez et al., 1995), ativar controle de perda de água pelas células (Sutter, 1988) e aumentar a taxa fotossintética em condições de atmosfera mais rica em CO₂ (Vantelgen et al., 1992). Neste sentido, também o substrato usado na etapa de aclimação tem influência no processo de enraizamento adventício e qualidade destas, além de ser fundamental na nutrição e posterior crescimento e desenvolvimento da nova planta.

Para obtenção de mudas de *A. vera* bem formadas e sadias durante as fases de enraizamento (pré-aclimação) e aclimação, visando aumentar a taxa de sobrevivência destas, o presente trabalho avaliou os efeitos do regulador ácido indol-butírico

(AIB) sobre o enraizamento *in vitro* e diferentes substratos no processo de aclimação das mudas micropropagadas.

MATERIAL E MÉTODO

Enraizamento *in vitro*

Broto micropropagado de *A. vera*, mantidos em meio de cultura MS (Murashige & Skoog, 1962), com tamanho médio de 1,5 cm de altura, foram cultivados nos meios de cultura com os seguintes tratamentos: T1 (MS); T2 (MS + 1,0 µmol L⁻¹ de AIB); T3 (MS + 2,0 µmol L⁻¹ de IBA); T4 (MS + 4,0 µmol L⁻¹ de AIB); T5 (MS + 8,0 µmol L⁻¹ de AIB) e T6 (MS + 10,0 µmol L⁻¹ de AIB).

Os meios de cultura foram suplementados com sacarose (30 g L⁻¹) e Agar (7 g L⁻¹), pH ajustado para 5.8 e autoclavados durante 20 minutos a uma temperatura de 120 °C e 1,5 atm de pressão de vapor. Após a inoculação em câmara de fluxo laminar, as culturas foram mantidas em câmara de crescimento a uma temperatura de 25 ± 2° C, com fotoperíodo de 16 horas/luz (50 µmol m⁻² s⁻¹ de intensidade) e 8 horas/escuro por um período de 30 dias.

Aclimação

Broto micropropagado de *A. vera*, mantidos em meio de cultura MS, com tamanho médio de 1,5cm de altura, foram enraizados *in vitro* em meio MS adicionado de 1,0 µmol L⁻¹ de AIB (melhor resultado na fase de enraizamento), sacarose (30 g L⁻¹) e Agar (7 g L⁻¹), pH ajustado para 5.8 e autoclavados durante 20 minutos a uma temperatura de 120 °C e 1,5 atm de pressão de vapor. Após 60 dias em câmara de crescimento a uma temperatura de 25 ± 2 ° C, com fotoperíodo de 16 horas/luz (50 µmol m⁻² s⁻¹ de intensidade) e 8 horas/escuro, as plantas já enraizadas foram retiradas dos frascos e passaram por limpeza das partes necrosadas e lavagem em água corrente para eliminação de restos de meio de cultura. Após este processo, as mudas micropropagadas foram plantadas em vasos plásticos de 1 L contendo os tratamentos: Ta (Casca de arroz carbonizada); Tb (Areia); Tc (tipo comercial: Plantmax®); Td (Casca de arroz carbonizada + Areia em 1:1); Te (Casca de arroz carbonizada + Plantmax® em 1:1); e Tf (Areia + Plantmax® em 1:1). O período de aclimação foi de 60 dias em casa de vegetação em condições de 25 ± 2 ° C, 80% de UR do ar e 40% de redução da radiação solar.

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, contendo 6 tratamentos e 10 repetições, sendo cada repetição representada por um broto micropropagado (enraizamento) ou por uma microplanta (aclimação). Os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e teste

de separação de médias (TUKEY 5%).

As características biométricas avaliadas em ambos os experimentos foram o número e comprimento de raiz, altura dos brotos micropropagados (no enraizamento) e na aclimatização, número de folhas, além da taxa de sobrevivência. No experimento de enraizamento as avaliações foram realizadas aos 30 dias enquanto que no experimento de aclimatização foram realizadas aos 30 e 60 dias de cultivo.

RESULTADO E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos mostraram um efeito dos tratamentos, tanto no enraizamento quanto na aclimatização, no que diz respeito ao crescimento e desenvolvimento das mudas de *A. vera* micropropagadas.

Enraizamento *in vitro*

Com exceção da altura dos brotos, todas as demais características avaliadas durante a fase de enraizamento (número e comprimento das raízes e, número de folhas) apresentaram diferenças significativas conforme o tratamento aplicado (Tabela 1).

Igualando-se estatisticamente no número de raízes formadas, os brotos cultivados nos tratamentos T1 (MS) e T2 (MS + 1,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de AIB) apresentaram as maiores médias, 3,5 e 4,10 raízes respectivamente. Já o pior resultado, 1,5 novas raízes formadas de média, foi observado quando se adicionou ao meio de cultura MS 2,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de AIB (T3).

Mesmo não diferindo estatisticamente na indução de raízes, a adição de 1,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de AIB (T2) apresentou pequena superioridade em relação à ausência (T1) deste regulador vegetal no meio de cultura MS.

Resultados semelhantes foram reportados por Aggarwal & Barna (2004), os quais também trabalhando com *A. vera* conseguiram 90 e 100% de enraizamento *in vitro* com brotos cultivado em meio MS suplementado com 0,2 mg L^{-1} de AIB ou ausência de reguladores, respectivamente. Abrie & Van Staden (2001) e Meyer & Van Staden (1991) relataram que a suplementação do meio MS com AIB favoreceu a formação *in vitro* de raízes em brotos micropropagados de *A. polyphylla* e *A. barbadensis*, respectivamente, quando comparado com a não suplementação. No trabalho de Abrie & VanStaden (2001) com *A. polyphylla*, foram comparados duas diferentes suplementações do meio MS para o enraizamento, sendo que com a utilização de 0,1mg L^{-1} de BA (6-Benzilaminapurina) conseguiram 21,4% de brotos enraizados, enquanto que com 0,5 mg L^{-1} de AIB, 64,2% dos brotos enraizaram. Já Araújo et al. (2002) descrevem que o enraizamento *in vitro* de *A. vera* pode estar associado ao esgotamento de nutrientes no meio de cultura, uma vez que ocorria sempre após

35 dias de cultivo, salientando que o meio MS suplementado com 4,03 $\mu\text{mol L}^{-1}$ ANA (ácido-Naftaleno-acético) e 6,67 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de BA e o número de raízes formadas obedecia a seqüência média de 1 raiz aos 35 dias, 3 raízes aos 45 dias e 4 raízes aos 60 dias de cultivo. Os mesmos autores ainda sugerem a não necessidade de elaboração de meios de enraizamento específicos, porém relatam a essencialidade da presença de raízes formadas para obtenção de sucesso durante a fase de aclimatização.

Quando cultivado em meio de cultura MS contendo 0,25 mg L^{-1} de AIB, brotos de *Lens culinaris* M. enraizam com 25% de freqüência, atingindo média de 7,87 raízes e comprimento de 7,13mm e aumentando a concentração deste regulador não enraizam (Khawar & Ozcan, 2002). Já Rout et al. (1999) conseguiram ótimo enraizamento e crescimento das raízes em brotos de *Plumbago zeylanica* L. cultivados em meio de cultura MS suplementado com 0.25 mg L^{-1} de AIB.

Com base nos resultados obtidos no presente trabalho, verificamos que a presença de AIB no meio de cultura MS pode acelerar o processo de enraizamento *in vitro* de *A. vera*, quando utilizadas concentrações adequadas. Em geral, o aumento na concentração de auxinas adicionadas ao meio de cultura, com o propósito de induzir enraizamento, é favorável até um determinado valor, a partir do qual o efeito pode se tornar contrário. E a concentração adequada vai depender da espécie, do tipo de explante e da concentração endógena que o tecido trabalhado possui. Segundo Taiz & Zeiger (2004), a variação na concentração de auxina no meio de cultura pode estimular ou inibir o enraizamento do explante *in vitro*.

Por outro lado, a ausência de reguladores pode ser o ponto chave para se conseguir bons resultados no enraizamento *in vitro*, assim como o observado no presente trabalho. Chukwujekwu et al. (2002) verificaram que a ausência de reguladores vegetais no meio de cultura MS favoreceu o enraizamento *in vitro* de *A. polyphylla*, superando, mesmo não diferindo estatisticamente, quando adicionado ANA ou AIB.

A formação de raízes nas brotações de *A. vera*, quando cultivadas em meio de cultura sem reguladores vegetais, provavelmente ocorreu devido ao acúmulo de auxinas endógenas provenientes de folhas e principalmente das gemas. Assim, em algumas espécies, pode ser dispensado o uso de auxinas no enraizamento, conforme Carvalho et al. (1999) e Moreira et al. (2000).

Em relação ao comprimento das raízes formadas *in vitro*, o tratamento T1 (MS) proporcionou a melhor condição, atingindo média de 7,25 cm. A adição de 8,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de AIB (T5), por outro lado, influenciou negativamente, atingindo a menor média em relação a esta característica, 3,12 cm de

TABELA 1. Número de raízes, comprimento das raízes, altura dos brotos e número de folhas dos brotos micropropagados de *A. vera* em 60 dias de cultivo *in vitro*, de acordo com as diferentes concentrações de AIB no meio MS: T1(isento de fitoregulador); T2(1,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de AIB); T3(2,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de AIB); T4(4,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de AIB); T5(8,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de AIB); T6(10 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de AIB).

Tratamentos	Número de raízes	Comprimento das raízes (cm)	Altura dos brotos	Número de folhas
T1	3,50 a	7,25 a	2,64 a	4,40 a
T2	4,10 a	5,42 ab	2,77 a	4,30 ab
T3	1,50 b	3,67 b	2,10 a	3,10 c
T4	3,00 ab	5,53 ab	2,24 a	4,00 abc
T5	3,10 ab	3,12 b	3,38 a	3,40 bc
T6	3,10 ab	4,33 b	2,23 a	3,60 abc

Letras que se diferem na vertical indicam significância pelo teste de separação de médias TUKEY 5% (n=10).

comprimento das raízes.

A presença de auxina é necessária na fase de indução do sistema radicular, porém conforme se aumenta à concentração, diminui o comprimento destas em meios de cultura que contenham IBA ou NAA, podendo ocasionar a inibição completa do crescimento radicular (Salisbury & Roos, 1991).

Radmann et al. (2002) descreve que, tanto para o comprimento, quanto para o número de raízes de maceira formadas *in vitro*, o IAA (ácido-Indolil-3-acético) se demonstrou mais efetivo em altas concentrações (50 e 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$) e o AIB e o ANA em baixas (0,5 e 1,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$). Também a combinação de auxinas pode ser determinante em alguns casos. Dalal & Rai (2004), trabalhando com *Oroxylum indicum* V. notaram que a combinação de duas auxinas resultava em melhores taxas de enraizamento *in vitro*.

Assim, 91% dos brotos de *O. indicum* enraizaram em meio MS (1/4 da concentração de sais) suplementado com ANA (2.69 $\mu\text{mol L}^{-1}$) e AIA (5.71 $\mu\text{mol L}^{-1}$) associados, enquanto que individualmente ANA e AIA induziram 33,3% e o AIB apenas 25%.

Em relação à altura dos brotos de *A. vera* cultivados *in vitro* sob efeito do AIB, não verificamos diferença significativa entre os tratamentos, estando ela mantida entre 2,10 (T3) e 3,38 cm (T5).

As auxinas estão associadas, dentre outras funções, à expansão e alongamento celular (Taiz & Zeiger, 2004). No presente trabalho verificou-se que nem sempre a presença de AIB favoreceu o aumento do tamanho das plantas, uma vez que as médias obtidas nos tratamentos T3, T4 e T6 (2,10, 2,24 e 2,23 cm, respectivamente), foram inferiores a do tratamento T1 (2,64 cm).



FIGURA 1- Padrões diferenciais de desenvolvimento do número e comprimento de raízes e da altura e do número de folhas dos brotos de *A. vera* após 60 dias de cultivo *in vitro*

A formação de folhas nos brotos de *A. vera* micropropagados foi superior quando cultivada em meio MS isento de reguladores vegetais (T1), no qual se obteve um número médio de 4,44 novas folhas formadas. A pequena diferença obtida pode ser atribuída a possíveis alterações no balanço hormonal auxina/citocinina endógena.

Segundo Pio et al. (2002), a obtenção de plântula com sistema radicular bem desenvolvido é de grande importância para a sua sobrevivência e crescimento em novas condições ambientais, como as proporcionadas na aclimatização. A formação de raízes adventícias *in vitro* permite a constituição de uma planta completa, o que posteriormente durante a fase de aclimação, facilitará o pegamento da muda nas condições *ex vitro*.

Aclimatização

Observando a Tabela 2, podemos afirmar que o substrato utilizado na aclimação de mudas micropropagadas de *A. vera*, influencia de forma significativa o crescimento, desenvolvimento e sobrevivência destas. Assim, em todas as características avaliadas, tanto aos 30, quanto aos 60 dias, notou-se diferença estatística significativa entre os tratamentos, ou seja, diferenças na resposta das mudas conforme o tipo de substrato utilizado.

Aos 30 dias, momento da primeira avaliação, em relação ao número de raízes formadas, o tratamento Tb (areia) induziu 4,5 raízes por broto, superando significativamente a média obtida nos demais tratamentos. Já para o comprimento das raízes formadas, o tratamento Td [casca de arroz carbonizada + Areia (1:1)] se destacou, formando mudas com raízes de 8,6 cm de comprimento em média, enquanto que na característica altura das

mudas, o tratamento Tb (areia), mesmo não diferindo estatisticamente dos tratamentos Tc (substrato comercial Plantmax®), Td [casca de arroz carbonizada + Areia (1:1)], Te [casca de arroz carbonizada + Substrato comercial Plantmax® (1:1)] e Tf [Areia + Substrato comercial Plantmax® (1:1)], apresentou maior média, 6,7cm de altura. Para número de novas folhas formadas, as mudas aclimatadas nos substratos areia (Tb) e Areia + Substrato comercial Plantmax® (1:1) (Tf) apresentaram os maiores valores em relação aos demais, média de 3 novas folhas por muda aclimatada.

As mudas de *A. vera* aclimatadas (30 dias), em substrato casca de arroz carbonizada (Ta), apresentaram necrose acentuada nos tecidos, o que levou a 100% de morte das plantas.

Os melhores resultados foram obtidos com o substrato comercial, certamente por apresentar melhores características físicas, químicas e biológicas para o cultivo da *A. vera*, superando, assim, os resultados com a utilização dos demais substratos. Em geral, a casca de arroz carbonizada apresenta alta porosidade/aeração, conseqüentemente maior retenção de água e menor espaço de aeração, quando comparado ao substrato comercial tipo Plantmax®. Porém no que diz respeito ao aporte de nutrientes, a casca de arroz carbonizada contribuiu menos e pode ter sido um dos fatores que influenciaram os resultados.

Aos 60 dias de aclimação (última avaliação), 50% dos tratamentos utilizados não possuíam mais mudas vivas, restando apenas aquelas dos tratamentos Tb (areia), Tc (substrato comercial Plantmax®) e Te (casca de arroz carbonizada + Substrato comercial Plantmax® (1:1)).

TABELA 2. Altura, comprimento das raízes e número de folhas das plantas micropropagadas de *A. vera* durante a fase de aclimação sob efeito de diferentes substratos: Ta(casca de arroz carbonizada); Tb (areia); Tc (substrato comercial Plantmax®); Td [casca de arroz carbonizada + Areia (1:1)]; Te [casca de arroz carbonizada + Substrato comercial Plantmax® (1:1)]; Tf [Areia + Substrato comercial Plantmax® (1:1)].

Tratamentos	1ª Avaliação (30 dias)			2ª Avaliação (60 dias)				
	Número de raízes	Comprimento das raízes (cm)	Altura das mudas	Número de folhas	Número de raízes	Comprimento das raízes (cm)	Altura das mudas	Número de folhas
Ta	-	-	-	-	-	-	-	-
Tb	4,50 a	3,20 bc	6,50 a	3,00 a	3,90 a	2,50 b	7,00 b	3,00 a
Tc	2,00 c	5,22 ab	6,70 a	2,75 ab	2,00 c	3,00 b	8,22 a	2,64 b
Td	3,00 bc	8,62 a	4,76 a	2,25 b	-	-	-	-
Te	3,10 b	4,82 ab	5,14 a	2,32 b	3,00 b	9,00 a	5,32 c	2,00 c
Tf	2,00 c	5,70 ab	4,90 a	3,00 a	-	-	-	-

Letras que se diferem na vertical indicam significância pelo teste de separação de médias TUKEY 5% (n=10).

Em relação ao número de raízes formadas, assim como na avaliação realizada aos 30 dias, o tratamento Tb (areia) se destacou, induzindo a formação de 3,9 novas raízes nas mudas aclimatizadas. Já para o comprimento das raízes, se sobressaiu àquelas crescidas no tratamento Te [casca de arroz carbonizada + Substrato comercial Plantmax® (1:1)], formando mudas com raízes de 9,0 cm de comprimento em média. Para a característica altura das mudas, o tratamento Tc (substrato comercial Plantmax®), diferiu significativamente dos demais ao proporcionar um crescimento médio de 8,22 cm de altura. Para o número de novas folhas formadas verificamos que as mudas aclimatizadas no substrato areia (Tb), apresentaram maior média (3).

Araújo et al. (2002) observaram que o enraizamento *in vitro* de *A. vera* exerceu marcada influência sobre a sobrevivência das plântulas na fase de aclimatização, sendo uma fase indispensável na micropropagação desta espécie. Ault (1994), concluiu em suas pesquisas que mudas micropropagadas de *Eriostemon myoporoides* são aclimatizadas com maior sucesso quando enraizamento *in vitro*. George (1996), afirmou que algumas espécies, quando enraizadas *in vitro*, crescem melhor, apresentam maior taxa de sobrevivência e emitem novas raízes mais rapidamente durante o período de aclimatização. Debergh (1991) observou que as raízes formadas *in vitro* nas plantas micropropagadas, na maioria dos casos, morrem após duas semanas em substratos de aclimatização, sendo que neste mesmo período novas raízes começam a se desenvolver, indicando que para algumas espécies, as raízes *in vitro* não são funcionais. Neste sentido, Araújo et al. (2002) observaram, 20 dias após o transplante de mudas micropropagadas de *A. vera*, enraizadas *in vitro*, para a aclimatização, degeneração do sistema radicular, seguida da imediata emissão de novas raízes primárias e secundárias.

Em relação à taxa de sobrevivência das mudas de *A. vera* ao final do período de aclimatização (60 dias), destacam-se os tratamentos Tb (areia), Tc (substrato comercial Plantmax®) e Te [casca de arroz carbonizada + Substrato comercial Plantmax® (1:1)], os quais apresentaram respectivamente, 80, 95 e 75% de sobrevivência.

Aclimatando mudas micropropagadas de *A. vera*, Aggarwal & Barna (2004) utilizaram solo + esterco de curral (1:1) e obtiveram 82% de sobrevivência após 30 dias. Já Chukwujekwu et al. (2002), trabalhando com micropropagação de *A. polyphylla*, utilizaram solo+vermiculita+areia (1:1:1) e conseguiram 98% de plantas vivas no período de aclimatização.

O desenvolvimento de raízes em vaso é diferente daquele observado no campo e o cultivo em

recipientes alteram as condições entre as raízes e o substrato em razão do volume e espaços reduzidos (Bunt, 1961). Buscando compensar estes fatores, os substratos devem apresentar elevado espaço de aeração, elevada capacidade de retenção de água, alta capacidade de troca de cátions e baixo teor de sais solúveis, pH adequado, entre outros itens.

Araújo et al. (2002) relatam que mudas de *A. vera* enraizadas *in vitro* apresentam 80 a 95% de sobrevivência na aclimatização, enquanto que naquelas desprovidas de sistema radicular a taxa de sobrevivência cai para 30%. Os mesmos autores aclimataram com sucesso as mudas de *A. vera* enraizadas *in vitro* em substrato formado pela mistura de substrato comercial Plantmax® + solo (1:1).

Para Bosa et al (2003), o bom desempenho dos substratos comerciais e das misturas de solo e/ou compostos orgânicos com o condicionador físico (areia) pode ser atribuído à boa capacidade de estruturação do substrato.

As condições de cultivo ($25 \pm 2^\circ \text{C}$, 80% de U.R. do ar e 40% de redução da radiação solar) adotadas neste trabalho foram adequadas quando combinadas aos substratos representados pelos tratamentos Tb (areia), Tc (Substrato comercial Plantmax®) e Te [casca de arroz carbonizada + Substrato comercial Plantmax® (1:1)].



FIGURA 2. Plantas de *A. vera* aclimatadas em substrato comercial Plantmax® cultivadas por um período de 210 dias em casa de vegetação.

O sucesso de um protocolo de micropropagação depende, em parte, do desempenho das microplantas durante as fases de enraizamento *in vitro* e posteriormente na aclimatização. Conforme a espécie trabalhada, a exigência em detalhamentos metodológicos durante estas fases se faz necessária ou não, uma vez que o comportamento é totalmente variável entre elas. No presente trabalho, os resultados indicaram exigências específicas, podendo concluir que: Brotos micropropagados de *A. vera*, com tamanho médio de 1,5 cm devem ser enraizados *in vitro*, durante 30 dias, em meio MS suplementado

com 1,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de AIB, sacarose (30 g L^{-1}) e Agar (7 g L^{-1}), pH 5.8, mantidos em câmara de crescimento a uma temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, com fotoperíodo de 16 horas/luz (50 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de intensidade) e 8 horas/escuro. A aclimatização de mudas micropropagadas de *A. vera* deve ser realizada em substrato comercial, durante 60 dias, em casa de vegetação ($25 \pm 2^\circ\text{C}$, 80% de UR do ar e 40% de redução da radiação solar). Dessa forma, 95% das plantas micropropagadas de *A. vera* estarão prontas para serem transplantadas em definitivo para o campo de produção, apresentando qualidade genética e fitossanitária, garantindo ao produtor segurança na implantação da lavoura e ganhos de rendimento.

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

- ABRIE, A.L.; VAN STADEN, J. Micropropagation of the endangered *Aloe polyphylla*. **Plant Growth Regulation** . v.33, p.19-23, 2001.
- AGGARWAL, D.; BARNAL, K.S. Tissue culture propagation of elite plant of *Aloe vera* Linn. **Journal Plant Biochemistry & Biotechnology**, v.13, p.77-9, 2004.
- ARAÚJO, P.S. et al. Micropropagação de babosa *Aloe vera* L. **Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**, n.25, p.54-7, 2002.
- AULT, J.R. *In vitro* propagation of *Eriostemon myoporoides* and *Eriostemon* 'Stardust'. **HortScience**, v.29, n.6. p. 686-8, 1994.
- BOSA, N. et al. Avaliação do crescimento de *Gypsophila paniculata* durante o enraizamento *in vitro*. **Horticultura Brasileira**, v.21, n.3, p.510-3, 2003.
- BUNT, A.C. Some physical properties of pot-plant composts and their effect on plant growth. **Plant and Soil**, v.13, n.4, p.322-32, 1961.
- CARVALHO, G.R. et al. Aclimatização de plântulas de café (*Coffea arabica* L.) propagadas *in vitro*. **Ciência e Agrotecnologia**, v.23, n.3, p.483-90, 1999.
- CHUKWUJEKWU, J.C.; FENNELL, C.W.; VAN STADEN, J. Optimization of the tissue culture protocol for the endangered *Aloe polyphylla*. **South African Journal of Botany**, n.68, p.424-9, 2002.
- DALAL, N.V.; RAÍ, V.R. *In vitro* propagation of *Oroxylum indicum* Vent. A medicinally important forest tree. **Journal Forest Resource**, v.9, p.61-5, 2004.
- DEBERGH, P.C. Aclimatization techniques of plants from *in vitro*. **Acta Horticulturae**, v.289, p.291-300. 1991.
- DEBIASI, C.; FELTRIN, F.; MICHELIZZI, F.C. Micropropagação de gengibre (*Zingiber officinale*). **Revista Brasileira de Agrociência**, v.10, n.1, p.65-70, 2004.
- DÍAZ- PEREZ, J.C.; SUTTER; E.G.; SHACKEL, K.A. Acclimatization and subsequent gas-exchange, water relations, survival and growth of microcultured apple plantlets after transplanting them in soil. **Physiologia Plantarum**, v.95, p.225-32, 1995.
- GEORGE, E.F. **Plant propagation by tissue culture- Part 1: The technology**. 2.ed. Edington: Exegetics, 1996. 786p.
- KHAWAR, K.M.; ZCAN, S. Effect of Indole-3-Butyric Acid on *in vitro* Root Development in Lentil (*Lens culinaris* Medik.). **Turk Journal Botany**, v.26, p.109-111, 2002.
- LIAO, Z. et al. Micropropagation of endangered Chinese aloe. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, n.76, p.83-6, 2004.
- MEYER, H.J.; VANSTADEN, J. Rapid *in vitro* propagation of *Aloe barbadensis* Mill. **Plant Cell Tissue and Organ Culture**, n.26, p.167-171, 1991.
- MOREIRA, M.F.; APPEZZATO-DA-GLÓRIA, B.; Z Aidan, L.B.P. Anatomical aspects of AIB treated microcuttings of *Gomphrena macrocephala* St.-Hil. **Brasilian Archives of Biology and Tecnology**, v.43, n.2, p.221-7, 2000.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays of tobacco tissue cultures. **Physiology Plantarum**, n.15, p.473-497, 1962.
- NATALI, L.; SANCHEZ, I.C.; CAVALLINI, A. *In vitro* culture of *Aloe barbadensis* Mill.: Micropropagation from vegetative meristems. **Plant Cell Tissue and Organ Culture**, n.20, p.71-2, 1990.
- PEDROTTI, E.L.; VOLTOLINI, J.A. Enraizamento *ex vitro* e aclimatização do porta-enxerto de macieira M.9. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.23, n.2, p.234-9, 2001.
- PIO, R. et al. Enraizamento *in vitro* de brotações do porta enxerto de citros *Tangerina sunki x Trifoliata* English 63-256 com o uso de sacarose e ácido indol-butírico. **Ciência e Agrotecnologia**, v.26, n.1, p.66-70, 2002.
- RADMANN, E.B.; FACHINELLO, J.C.; PETERS, J.A. Efeito de auxinas e condições de cultivo no enraizamento *in vitro* de porta-enxertos de macieira 'M-9'. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.24, n.3, p.624-8, 2002.
- ROUT, G.R. et al. Rapid clonal propagation of *Plumbago zeylanica* Linn. **Plant Growth Regulation**, v.28, p.1-4, 1999.
- SALISBURY, F.B.; ROOS, C.W. **Plant Physiology**. Wadsworth, California: 1991. cap.17, p.357-78.
- SUTTER E. Stomatal and Cuticular water loss from apple, cherry, and sweetgum plants after removal from *in vitro* culture. **Journal of American Society for Horticultural Science**, v.113, n.2, p.234-8, 1988.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Plant physiology**. Redwood City: The Benjamim/Cummings, 2004. 556p.
- VANTELGEN, H.J.; VANMIL, A.; KUNNEMAN, B. Effect of propagation and rooting condition on acclimatization of micropropagated plants. **Acta Botânica Neerlandica**, v.41, n.4, p.453-9, 1992.