

# CIRCULAR TÉCNICA

n. 374 - setembro 2022

ISSN 0103-4413

Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais  
Departamento de Informação Tecnológica  
Av. José Cândido da Silveira, 1647 - União - 31170-495  
Belo Horizonte - MG - www.epamig.br - Tel. (31) 3489-5000



Secretaria de Agricultura,  
Pecuária e Abastecimento  
Estado de Minas Gerais

## Propagação de palma forrageira sob sistemas de multiplicação *in vitro*<sup>1</sup>

*Luciana Cardoso Nogueira Londe<sup>2</sup>*  
*Amanda Daniele Cardoso Barbosa<sup>3</sup>*  
*Joana D'Ark Nunes da Silva Lima<sup>4</sup>*  
*Débora Ferreira de Souza<sup>5</sup>*  
*Geisla Garcia Leal<sup>6</sup>*

### INTRODUÇÃO

Atualmente, a palma forrageira é cultivada em grande escala em regiões do Nordeste do Brasil. Os principais genótipos cultivados são *Opuntia* e *Nopalea*, que se destacam por apresentarem adaptações morfológicas, fisiológicas e bioquímicas. A capacidade de tolerar longos períodos de estiagem torna esses genótipos úteis para a agricultura e a nutrição animal.

A palma é uma opção viável como forrageira em regiões com condições edafoclimáticas, que são, por sua vez, limitantes para outras espécies de forrageiras. Entretanto, o sistema de cultivo convencional, pelo qual a palma é propagada, apresenta limitações que dificultam os programas de melhoramento, necessitando de sistemas viáveis de cultivo que diminuam o período de obtenção de novas mudas. No plantio convencional, as mudas são feitas pela retirada de cladódios da planta-mãe, propagação assexuada por estaquia. Segundo Peixoto *et al.* (2006), o plantio convencional demonstra crescimento lento,

e a disponibilidade de mudas ocorre dois anos após o plantio, tendo como consequência a dificuldade na aquisição de propágulos vegetativos. As técnicas de laboratório, como a cultura de tecidos, visam acelerar os métodos convencionais de propagação vegetativa, fornecendo mudas de alto padrão, livre de pragas, em curto espaço de tempo e em quantidade suficiente para a demanda (SCHIAVINATO *et al.*, 2008). São técnicas aplicadas com o objetivo de expor os explantes a um ambiente controlado, propiciando condições favoráveis de crescimento, desenvolvimento e propagação em curtos espaços de tempo, atendendo a suas exigências nutricionais. De acordo com Faria *et al.* (2002), o desempenho na tecnologia e na aplicação dos métodos de cultura *in vitro* é estabelecido pelo conhecimento dos requerimentos nutricionais das células e dos tecidos em cultura. Dentro da micropropagação, podem-se utilizar os sistemas de multiplicação, semissólido (SS) e biorreatores de imersão temporária (BITs).

Apoio FAPEMIG/CNPq.

<sup>1</sup>Circular Técnica produzida pela EPAMIG Norte - CEGR (38) 3834-1760, cegr@epamig.br.

<sup>2</sup>Bióloga, D.Sc., Pesq. EPAMIG Norte - CEGR, Nova Porteirinha, MG, luciana@epamig.br.

<sup>3</sup>Graduanda Agronomia UNIMONTES, Campus Janaúba/Bolsista PIBIC FAPEMIG/EPAMIG Norte, Janaúba, MG, ad320095@gmail.com.

<sup>4</sup>Graduanda Agronomia UNIMONTES, Campus Janaúba/Bolsista PIBIC FAPEMIG/EPAMIG Norte, Janaúba, MG, joanadark93\_@hotmail.com.

<sup>5</sup>Graduanda Agronomia UNIMONTES, Campus Janaúba/Bolsista PIBIC FAPEMIG/EPAMIG Norte, Janaúba, MG, fdesouza@gmail.com.

<sup>6</sup>Graduanda Agronomia UNIMONTES, Campus Janaúba/Bolsista PIBIC CNPq/EPAMIG Norte, Janaúba, MG, geislagarcialealrpm@hotmail.com.

Esta Circular Técnica tem por finalidade abordar as aplicações das técnicas de cultura de tecidos na propagação *in vitro* de 11 genótipos de palma forrageira, com análise da eficiência dos sistemas de multiplicação, SS e BITs.

## CONDUÇÃO DO EXPERIMENTO

O experimento foi realizado no Laboratório de Biotecnologia Vegetal da EPAMIG Norte - Campo Experimental do Gorutuba (CEGR), Nova Porteirinha, MG. Foram utilizados 11 genótipos de palmas forrageiras, retirados do Campo Experimental do Gorutuba, provenientes do Banco de Germoplasma do Instituto Agrônomo de Pernambuco (IPA). No cultivo *in vitro* foram usados dois sistemas de multiplicação, o convencional, com o meio de cultura sólido e frascos de 50 mL, e o meio de cultura Murashige & Skoog (MS) (MURASHIGE; SKOOG, 1962), suplementado com 30 g/L de sacarose, 0,1 g/L de inositol, 7 g/L de ágar, 0,5 mg/L de ácido naftaleno-acético (ANA) e 1 mg/L de 6-benzilaminopurina (BAP) (7g/L de ágar). E, para o BIT, o meio de cultura foi semelhante, porém sem adição do agente geleificante. Sendo acrescentado 200 mg/L de ácido ascórbico e 0,25 mL de Plant Preservative Mixture (PPM) Sigma.

Os explantes tiveram o comprimento reduzido para 15 mm ( $\pm 1$  mm) e foram, em seguida, acondicionados em BITs, em frascos de subcultivo convencional. Os tratamentos foram ordenados em esquema fatorial 11 x 2, com delineamento inteiramente casualizado, combinando 11 genótipos de palma forrageira

com os dois métodos de micropropagação, totalizando 22 tratamentos com cinco repetições, sendo cada repetição composta por quatro explantes. Os explantes ficaram em contato com o meio líquido por 3 minutos, a cada 4 horas. Em ambos os métodos, o pH do meio de cultura foi ajustado para 5,8 e autoclavado a 120 °C e kg/cm por 20 minutos. Os tratamentos foram mantidos em sala de crescimento por um período de 30 dias, submetidos a fotoperíodo de 16 horas por lâmpada de LED branca (40  $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ ) e temperatura média de 25 °C. Finalizado o período, foram avaliados os seguintes parâmetros: comprimento do cladódio (cm); diâmetro médio do cladódio (mm) e massa da matéria fresca e seca (g). Os sistemas de micropropagação foram comparados pelo teste F ( $p < 0,05$ ) e os genótipos pelo agrupamento de médias de Scott-Knott ( $p < 0,05$ ).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Observou-se a interação nas unidades experimentais entre os fatores genótipos e sistemas de multiplicação para todas as características avaliadas (Tabela 1).

Ao analisar o desdobramento dos genótipos em cada sistema de multiplicação, nota-se que os genótipos não diferiram entre si para a característica comprimento do cladódio ao utilizar o sistema SS, havendo diferença quando os genótipos do sistema SS foram comparados com o biorreator, que proporcionou melhores respostas para a variável comprimento do cladódio. Para as demais características, os genótipos IPA 100001, IPA 200002, IPA 100414 obtiveram

Tabela 1 - Influência do sistema de multiplicação semissólido (SS) e biorreator de imersão temporária (BIT), sobre o comprimento de cladódio (cm), diâmetro (mm), massa fresca e seca (g) em genótipos de palma forrageira, aos 30 dias de cultivo *in vitro* – Nova Porteirinha, MG

Genótipo	Comprimento		Diâmetro		Massa fresca		Massa seca	
	SS	BIT	SS	BIT	SS	BIT	SS	BIT
IPA 200016	1,93 Ba	15,61 Ac	3,26 Bc	3,73 Ad	1,05 Bb	1,14 Ad	1,00 Bb	1,01 Ac
IPA 200205	1,95 Ba	17,14 Ab	2,77 Bc	3,63 Ad	1,04 Bc	1,05 Ad	1,00 Bc	1,00 Ad
IPA 100001	2,24 Ba	18,31 Aa	4,97 Ba	5,57 Aa	1,12 Ba	1,26 Aa	1,01 Ba	1,01 Aa
IPA 100414	2,07 Ba	16,84 Ab	4,53 Bb	5,24 Aa	1,12 Bc	1,11 Aa	1,00 Ba	1,00 Aa
IPA 200174	1,37 Ba	16,76 Ab	4,54 Ac	4,45 Aa	1,15 Bd	1,07 Aa	1,00 Bc	1,00 Aa
IPA 100004	1,49 Ba	11,20 Ad	3,35 Bc	3,89 Ad	1,04 Bc	1,05 Ad	1,00 Bc	1,00 Ad
IPA 100002	2,05 Ba	14,71 Ac	3,81 Bc	5,18 Ab	1,06 Bb	1,16 Aa	1,00 Bc	1,01 Ac
IPA 200173	1,63 Ba	13,85 Ac	3,97 Bc	4,60 Aa	1,10 Bc	1,10 Aa	1,00 Bc	1,00 Aa
IPA 100412	1,65 Ba	12,68 Ad	3,80 Bc	4,63 Aa	1,08 Bc	1,12 Aa	1,00 Bd	1,00 Ab
IPA 100410	2,57 Ba	17,11 Ab	3,83 Bb	5,22 Aa	1,10 Bb	1,16 Aa	1,00 Bc	1,01 Aa
IPA 200002	2,63 Ba	19,97 Aa	4,31 Ba	6,66 Aa	1,13 Ba	1,23 Aa	1,01 Ba	1,01 Aa

Fonte: Elaboração dos autores.

Nota: Médias seguidas por mesma letra maiúscula na linha para cada variável não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

melhores desempenhos. Observa-se que o biorreator estabeleceu melhores médias para as características comprimento do cladódio, diâmetro e massa seca e fresca, em todos os genótipos avaliados (Tabela 1). É provável que esse resultado seja em razão dos aumentos da disponibilidade de água e de nutrientes proporcionados por esse meio de cultivo (CHEN; ZIV, 2001), no qual não existem limitações físicas para a difusão dos nutrientes, quando comparado aos meios de cultura de consistência semissólida.

A eficiência do BIT sobre o sistema SS é explicada pelo seu sistema automatizado, que controla o contato dos explantes com o meio líquido (GEORGIEV *et al.*, 2014), provocando a renovação da atmosfera do recipiente de cultivo e possibilitando a remoção dos gases eliminados pelas plantas, podendo ter efeito inibidor ao crescimento. Além disso, o espaço físico neste sistema é mais bem aproveitado pela cultura, pois todas as partes dos explantes têm acesso ao meio de cultura durante a imersão, aumentando a área de absorção de nutrientes e as taxas de multiplicação das plantas. Já os genótipos cultivados em BITs diferenciaram entre si em todas as características consideradas, sobressaindo os genótipos IPA 100001, IPA 100414, IPA 100412, IPA 200173, IPA 200174 e IPA 200002. A maioria dos genótipos revela individualidade sobre as mesmas condições, provavelmente por ser material de gêneros e espécies distintas. Londe *et al.* (2019), ao trabalharem com os genótipos IPA 200016 do gênero *Opuntia* e com os do gênero *Nopalea*, IPA 100004 e IPA 200205, observaram que estes apresentaram diferentes respostas morfológicas no sistema de multiplicação em BITs. Perceberam, também, que um mesmo genótipo pode expressar variações no comportamento, dependendo do ambiente e do meio de cultivo, pois um ambiente pode prover melhores condições para o desenvolvimento que o outro, associado às exigências específicas de cada genótipo.

O sistema de multiplicação pode influenciar nas respostas distintas dos genótipos no que se refere à consistência do meio de cultivo, havendo no meio SS ação de agente solidificante (ágar) que, apesar de proporcionar sustentação para o explante, reduz a disponibilidade de água e nutrientes. Em biorreatores é utilizado o meio líquido, que fornece maiores taxas de absorção de nutrientes, decorrente da maior área de contato com os explantes na hora da imersão, proporcionando melhor oxigenação das plantas e maior qualidade dos propágulos vegetati-

vos. Em regra, é necessário um ajuste de protocolo para cada espécie, cultivar ou genótipo em particular. Conforme Pereira *et al.* (2001), espécies e cultivares necessitam de protocolos específicos, já que, de acordo com as características genéticas, cada um pode apresentar resultados diferentes sob a mesma condição de cultivo. De modo geral, os genótipos do gênero *Opuntia* são mais responsivos em BITs, apresentando melhores dados para as características avaliadas. Enquanto os do gênero *Nopalea* apresentam melhor desenvolvimento em meio SS, apesar de que, em ambos os sistemas de cultivo, os genótipos do gênero *Nopalea* obtiveram menor desenvolvimento comparados com os do gênero *Opuntia*. Em meio SS, não houve diferença significativa para o comprimento de cladódios em todos os genótipos considerados. Enquanto no meio líquido, a taxa de absorção dos nutrientes ocorre de forma mais rápida, em BIT, os genótipos IPA 100001 e IPA 200002 tiveram maior comprimento do cladódio (Tabela 1).

Foram observadas diferenças significativas quanto às respostas dos genótipos em nível de espécie (Tabela 1). Dentro do gênero *Opuntia*, os genótipos IPA 100414, IPA 200173, IPA 100412, IPA 100410, IPA 100002, pertencentes às espécies *Opuntia ficus-indica* e IPA 200174 (*Opuntia Undulata* Griffiths), alcançaram maior diâmetro e massa fresca e seca, quando micropropagados em BITs, enquanto IPA 200016 (*Opuntia Stricta* Haw) foi responsivo em meio SS. Verifica-se também que os genótipos podem apresentar o mesmo desempenho em ambientes diferentes. Fato observado pelos genótipos IPA 200002 e IPA 100001 que sobressaíram nos dois sistemas de multiplicação. Além de determinar o melhor sistema de multiplicação, é necessário entender as relações existentes entre variáveis.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Ambos os sistemas de cultivo influenciaram nas respostas morfológicas dos genótipos avaliados, porém, estes diferiram entre si, dependendo do gênero e da espécie. Os genótipos do gênero *Opuntia* apresentaram dados significativos em relação às variáveis: diâmetro e massa fresca e seca em BITs, comparado ao meio SS.

Diante das informações deste estudo, constatou-se que o mais indicado é o uso dos BITs, como sistema propagativo da palma forrageira, tendo em vista as melhores respostas observadas nos genó-

tipos, a facilidade de manuseio e o baixo custo do processo.

### REFERÊNCIAS

- CHEN, J.; ZIV, M. The effect of ancyimidol on hyperhydricity, regeneration, starch and antioxidant enzymatic activities in liquid-culture Narcissus. **Plant Cell Reports**, New York, v.20, n.1, p.22-27, Jan. 2001.
- FARIA, R. de T. *et al.* Preservation of the brazilian orchid *Cattleya walkeriana* Gardner using *in vitro* propagation. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v.2, n.3, p.489- 492, 2002.
- GEORGIEV, V. *et al.* Temporary immersion systems in plant biotechnology. **Engineering in Life Sciences**, v.14, n.6, p.607-621, Nov. 2014. Special issue: Plant cells and algae in bioreactors.
- LONDE, L.C.N. Use of temporary immersion bioreactors on *in vitro* culture of cactus pear. **African Journal of Agricultural Research**, v.14, n.32, p.1487-1492, Sept. 2019.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for a rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Sweden, v.15, n.3, p.473-497, 1962.
- PEIXOTO, M.J.A. *et al.* Desenvolvimento de *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill., em diferentes substratos, após micropropagação *in vitro*. **Acta Scientiarum**. Animal Sciences, Maringá, v.28, n.1, p.17-20, jan./mar. 2006.
- PEREIRA, J.E.S. *et al.* Avaliação de dois sistemas hidropônicos para a produção de sementes pré-básicas de batata. **Horticultura Brasileira**, Brasília, DF, v.19, 2001. Suplemento.
- SCHIAVINATO, Y. de O. *et al.* Micropropagação de *Anthurium plowmannii* Croat. **Plant Cell Culture & Micropropagation**, Lavras, v.4, n., p.15-20, 2008.