

CIRCULAR TÉCNICA

n. 216 - junho - 2015

ISSN 0103-4413



Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais
Departamento de Informação Tecnológica

Av. José Cândido da Silveira, 1.647 - União - 31170-495
Belo Horizonte - MG - site: www.epamig.br - Tel. (31) 3489-5000



Produção de mudas de palma forrageira por micropropagação sob diferentes tipos de desinfestações¹

*Luciana Nogueira Londe²
Nayara de Souza Damascena³
Warley Rafael Oliva Brandão⁴
Annanda Mendes Costa⁵
Emerson Brito Ribeiro⁶*

INTRODUÇÃO

A estacionalidade da produção de forrageiras no Semiárido é provocada principalmente pela distribuição irregular das chuvas durante todo o ano. Por isso, os cultivos mais recomendados para essa região são os que conseguem suportar condições de falta de água, altas temperaturas, solos pobres que exigem poucos energéticos e sejam de fácil manejo, proporcionando alimento e forragem para a agricultura de subsistência.

A palma forrageira, em especial a *Opuntia ficus indica*, satisfaz várias das exigências descritas (BARBERA; INGLESE; PIMIENTA-BARRIOS, 2001). Trata-se de uma planta de porte bem desenvolvido e caule menos ramificado, o que lhe confere um aspecto ereto e crescimento vertical pouco frondoso. São adaptadas às condições do Semiárido, resistem às longas estiagens e desempenham um papel importante no fornecimento de forragem para o gado e em projetos de preservação do solo para zonas áridas, além de produzirem frutas e verduras para consumo humano.

PROPAGAÇÃO

A palma forrageira pode ser propagada por meio de estaquia ou sementes. Ambos os métodos apresentam baixo rendimento de mudas. Entretanto, a propagação por estacas de cladódios demanda um grande número de propágulos e acarreta sérios riscos, como o favorecimento do uso de cladódios doentes, desuniformes e fisiologicamente inadequados (FROTA et al., 2004). Por outro lado, a produção por sementes apresenta baixo potencial de germinação, resultando em segregação genética, longa fase juvenil e diminuição da velocidade de crescimento das plantas (LLAMOCA-ZÁRATE et al., 1999).

Nesse sentido, embora a propagação por métodos convencionais seja a mais utilizada, tem sido um dos fatores limitantes para o plantio dessa cultura, visto que a necessidade de grandes quantidades de material demandada por grandes plantações é um sério problema.

Plantações intensivas para a produção de verduras exigem grandes quantidades de propágulos

¹Circular Técnica produzida pela EPAMIG Norte de Minas, (38) 3834-1760, ctnm@epamig.br

²Bióloga, D.Sc., Pesq. EPAMIG Norte de Minas/Bolsista FAPEMIG, Nova Porteirinha, MG, luciana@epamig.br

³Graduanda Agronomia UNIMONTES, Bolsista FAPEMIG/EPAMIG Norte de Minas, Nova Porteirinha, MG, nayasouza22@hotmail.com

⁴Graduando Agronomia UNIMONTES, Bolsista FAPEMIG/EPAMIG Norte de Minas, Nova Porteirinha, MG, wrafaeloliva@hotmail.com

⁵Mestranda Melhoramento Genético UFV, Bolsista FAPEMIG, Viçosa, MG, annanda14@gmail.com

⁶Téc. Química, EPAMIG Norte de Minas, Nova Porteirinha, MG, britoib@hotmail.com

que garantam a uniformidade das plantas. Pela sua importância para as regiões Semiáridas do Brasil, tem-se a necessidade de métodos mais sofisticados para sua propagação, com a utilização de novas tecnologias disponíveis, como por exemplo, a micropropagação. Por meio desta, centenas de plantas podem ser formadas a partir de uma única matriz, permitindo a introdução mais rápida de novas cultivares, do que mediante a utilização da propagação convencional (SILVA; ALBUQUERQUE; BRITO, 2005).

Para resultados satisfatórios desse processo com forrageiras, é necessário a otimização de um protocolo de estabelecimento *in vitro*, o qual possibilita a rápida obtenção de genótipos melhorados e que garantam o suprimento nutricional adequado para a alimentação dos rebanhos a longo prazo. Portanto, o presente trabalho teve como objetivo estabelecer um protocolo *in vitro* para a multiplicação da palma forrageira (*Opuntia ficus*), com técnicas de fracionamento de cladódios em diferentes tipos de desinfestações.

ESTABELECIMENTO DE PROTOCOLO PARA MULTIPLICAÇÃO IN VITRO

Cladódios jovens de palma forrageira, colhidos de plantas mantidas na EPAMIG Norte de Minas, município de Nova Porteirinha-MG, foram conduzidos para o laboratório de Biotecnologia Vegetal da Empresa.

Para a obtenção do protocolo foram testados diferentes tipos de explantes, sendo estes cladódios inteiros e sem corte, inteiros seccionados ao meio e gemas cortadas de, aproximadamente, 5 mm, contendo uma auréola. Após a seleção, o material foi submetido a três tipos de desinfestação D1, D2 e D3, respectivamente.

Na primeira desinfestação (D1), os cladódios foram submetidos a álcool 95% por 1 minuto, hipoclorito de sódio 100%, seguida da tríplice lavagem com água destilada e autoclavada. Na segunda desinfestação (D2), os cladódios foram imersos no álcool 95%, por 30 segundos, em água sanitária 1% acrescidos com tween por 15 minutos, realizando-se, em seguida, a primeira tríplice lavagem com água destilada autoclavada. Foram colocados em estreptomomicina, em 30 minutos, seguida do derosal, em 30 minutos, e, após, foi feita a segunda tríplice lavagem. Foram imersos em lisoforme por 7 minutos, sendo logo após realizada a última tríplice lavagem. Na terceira desinfestação (D3), os explantes foram imersos na estreptomomicina, por 30 minutos, depois de retirados do antibiótico foram imer-

gidos em derosal, por 30 minutos, seguido da primeira tríplice lavagem com água destilada autoclavada. Em seguida, imergidos em álcool por 1 minuto seguido da segunda tríplice lavagem. Imergidos em lisoforme (formaldeído) por 7 minutos em agitação constante, sendo depois realizada novamente a tríplice lavagem com água destilada autoclavada. Imergiu-se em água sanitária com duas gotas de tween por 25 minutos sob agitação constante. Realizou-se a quarta tríplice lavagem dos explantes e, após assepsia, foram transportados à câmara de fluxo laminar. Nessa câmara esses cladódios foram seccionados em forma de retângulo contendo uma auréola por explante de, aproximadamente, 5 mm de comprimento.

Todos os materiais colocados dentro da câmara de fluxo foram anteriormente autoclavados. A câmara foi limpa com álcool 70% e luz ultravioleta. Os explantes foram estabelecidos no meio de indução, que consistiu do meio de cultura MS completo (MURASHIGE; SKOOG, 1962), os quais permaneceram por um período de 30 dias. Foram avaliados o índice de oxidação dos explantes, altura da parte aérea e oxidação de gemas.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, em fatorial 3 x 3, sendo três tipos de explante (cladódio inteiro sem corte, cladódios inteiros seccionados ao meio e gemas cortadas), três tipos de desinfestação e cinco repetições, sendo que cada repetição consistia de quatro explantes. Os dados foram analisados estatisticamente e as médias comparadas pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

AValiação DA OXIDAÇÃO NO CULTIVO IN VITRO

Quanto à variável oxidação, houve interação significativa ($P > 0,05$) entre os fatores explante e desinfestação. Os explantes desinfestados apresentaram alta taxa de oxidação, quando submetidos a todos os tipos de desinfestação, com exceção do tipo de explante cladódio inteiro que apresentou uma pequena taxa de oxidação na desinfestação D1 e uma alta taxa de oxidação na desinfestação D3. Não ocorreu oxidação, quando este foi submetido à desinfestação D2 (Quadro 1).

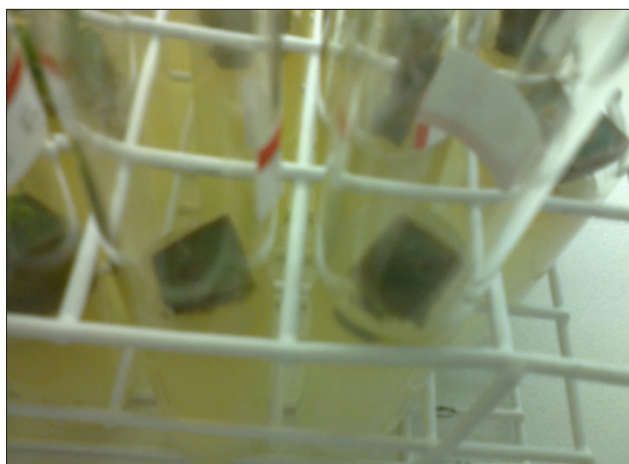
Quanto à variável parte aérea, houve interação significativa ($P > 0,05$) entre o tipo de explante e o tipo de desinfestação. Analisou-se que, ao realizar o corte do cladódio antes do seu processo de desinfestação, este é afetado negativamente (Fig. 1), inibindo o surgimento da parte aérea do explante, podendo ocasionar atraso no seu desenvolvimento.

QUADRO 1 - Avaliação da oxidação no cultivo in vitro de palma forrageira gigante dos três tipos de explantes, quando submetidos aos três tipos de desinfestações (D) - EPAMIG Norte de Minas, Nova Porteirinha, MG, 2014

Tipo de explantes	D1	D2	D3
Cladódios inteiros	55,0 a1	0,0 a1	95,0 a1
Cladódios seccionados	100,0 a2	100,0 a2	100 a1
Gemas cortadas	95,0 a2	100,0 a2	100 a1

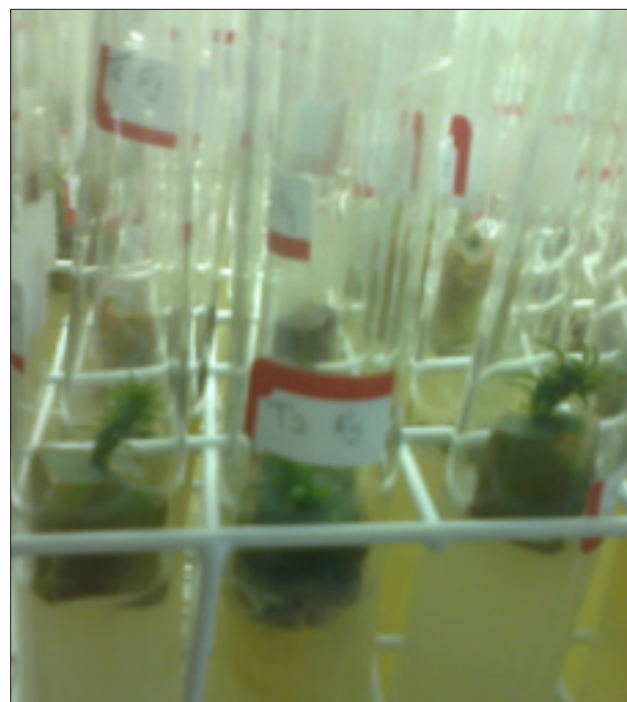
QUADRO 2 - Altura da parte aérea de palma forrageira gigante cultivada in vitro, quando submetida a diferentes tipos de fracionamentos de explantes e de desinfestação (D) - EPAMIG Norte de Minas, Nova Porteirinha, MG, 2014

Tipo de explantes	D1	D2	D3
Cladódios inteiros	2,33 a2	6,48 a2	0,52 a1
Cladódios seccionados	0,0 a1	0,0 a1	0,45 a1
Gemas cortadas	0,0 a1	0,0 a1	0,0 a1



Nayara de Souza Damascena

Figura 1 - Cladódios cortados de *Opuntia ficus indica* sem presença de parte aérea



Nayara de Souza Damascena

Figura 2 - Altura da parte aérea de cladódio inteiro de *Opuntia ficus indica* submetido à desinfestação (D2)

Observando o Quadro 2, verifica-se a presença da parte aérea somente nos explantes dos cladódios inteiros, quando submetidos às demais desinfestações. Sobressaem-se quando em interação com a desinfestação D2 que obteve maior parte aérea (Fig. 2), onde os explantes do tipo cladódios seccionados e gemas cortadas não apresentaram formação de parte aérea.

De acordo com o observado no Quadro 3, não foi constatada morte de gemas, quando o tratamento cladódio inteiro foi submetido à desinfestação D2. No entanto, ocorreu pequena morte de gemas, quando esse explante foi submetido à desinfestação D1, e maior morte de gemas, quando submetido à desinfestação D3. Ressalta-se a ineficiência das desinfestações 1, 2 e 3 neste trabalho, quando interagidas com os tipos de explantes cladódios seccionados e de gemas cortadas. O fato de os cladódios inteiros não sofrerem algum tipo de corte antes de passar pelo processo de desinfestação pode ter proporcionado uma maior barreira física, por causa da parede celular, que impede que os produtos químicos fornecidos pelas desinfestações agridam suas células e ocasionem morte das gemas nos explantes.

QUADRO 3 - Morte das gemas nos explantes de palma forrageira in vitro, quando submetidas a diferentes tipos de fracionamentos de explantes e de desinfestação (D) - EPAMIG Norte de Minas, Nova Porteirinha, MG, 2014

Tipo de explantes	D1	D2	D3
Cladódios inteiros	45,0 a1	0,0 a1	85,0 a1
Cladódios seccionados	100,0 a2	95,0 a2	90,0 a1
Gemas cortadas	95,0 a2	95,0 a2	90,0 a1

Não foram encontrados, na literatura, informações relacionadas com métodos de desinfestação testados com diferentes tipos de explantes parecidos com os testados neste trabalho. Entretanto, resultados deste trabalho servirão como avanços nas pesquisas sobre métodos que contribuam no processo de micropropagação da palma forrageira.

CONSIDERAÇÃO FINAL

O protocolo mais eficiente para a micropropagação de palma forrageira é o tipo de explante cladódio inteiro quando submetido à desinfestação D2.

REFERÊNCIAS

BARBERA, G.; INGLESE, P.; PIMIENTA-BARRIOS, E. (Ed.). **Agroecologia, cultivo e usos da palma forrageira**. Paraíba: SEBRAE-PB, 2001. 216p.

FROTA, H.M. et al. Efeitos do BAP e do AIA na indução e no crescimento in vitro de brotos de dez clones de

palma forrageira. **Revista Ciência Agronômica**, v.35, p.279-283, out. 2004. Número especial.

LLAMOCA-ZÁRATE, R.M. et al. Whole plant regeneration from the shoot apical meristem of *Opuntia ficus-indica* Mill. (Cactaceae). **Journal of Applied Botany-Angewandte Botanik**, v.73, n.3/4, p.83-85, 1999.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, v.15, n.3, p.473-497, July 1962.

SILVA, C.U.C.; ALBUQUERQUE C.C.; BRITO J.Z. **Cultivo in vitro de vegetais: considerações básicas**. Recife: UFRPE, 2005. 46p.

Os nomes comerciais apresentados nesta Circular Técnica são citados apenas para conveniência do leitor, não havendo por parte da EPAMIG preferência por este ou aquele produto comercial.

Disponível em: <http://www.epamig.br>, Publicações/Publicações disponíveis.
Departamento de Informação Tecnológica