# CIRCULAR TÉCNICA

n. 240 - junho 2016

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



# Avaliação da micropropagação de orquídeas com diferentes concentrações de AIA e BAP<sup>1</sup>

Luciana Cardoso Nogueira Londe<sup>2</sup>
Amanda Samila de Jesus Silva<sup>3</sup>
João Batista Ribeiro da Silva Reis<sup>4</sup>
Selma Silva Rocha<sup>5</sup>
Verônica Godinho Ferreira<sup>6</sup>
Daniela Ferreira Silveira<sup>7</sup>

### INTRODUÇÃO

A micropropagação in vitro é uma técnica muito utilizada e viável na obtenção de grande quantidade de plantas com qualidade fitossanitária em um tempo relativamente reduzido. Além disso, esta técnica facilita a produção de várias espécies que independem de fatores climáticos, podendo ser cultivadas em qualquer período do ano.

A micropropagação de orquídeas (*Epidendro* sp.) vem sendo muito utilizada, principalmente com intuito ornamental. As dificuldades na multiplicação de orquídeas no ambiente natural, somadas ao extrativismo ilegal para comercialização e à destruição dos hábitats destas plantas, têm levado muitas espécies à extinção (CHAER, 2012).

A micropropagação in vitro das orquídeas tem como vantagens menor contaminação de patógenos, maior multiplicação vegetativa e ganhos genéticos com características valorizadas comercialmente em curto tempo, reduzindo também os custos e, ainda, podendo ser produzida ao longo de todo o ano, além da qualidade genética fornecida (CARVALHO; SIL-VA; MEDEIROS, 2006).

Porém, para obter plantas de qualidade, é preciso que as técnicas de micropropagação sejam levadas a risco. O explante deve ser selecionado cuidadosamente, pois o tipo utilizado determina, muitas vezes, o grau de sucesso na micropropagação (CARVALHO; SILVA; MEDEIROS, 2006). E não somente o tipo de explante, como também a idade da planta. Se o explante foi retirado da planta em crescimento ativo, se passou por algum tipo de estresse fisiológico, tipo de solo onde a planta foi retirada, são fatores que influenciam no resultado da micropropagação.

O meio de cultura fornece ao explante todos os macro e micronutrientes, vitaminas, reguladores de crescimento e fonte de energia necessária para que possa crescer e se desenvolver, apesar de que, por ter sido cultivado in vitro, tem seu padrão de crescimento limitado. Os reguladores têm papel fundamental no crescimento e no desenvolvimento do explante, pois estes produzem substâncias sintéticas semelhantes aos hormônios naturais que a própria planta produz (CARVALHO; SILVA; MEDEIROS, 2006).

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup>Circular Técnica produzida pela EPAMIG Norte, (38) 3834-1760, epamignorte@epamig.br

<sup>&</sup>lt;sup>2</sup>Bióloga, D. Sc., Pesq. EPAMIG Norte/Bolsista FAPEMIG, Nova Porteirinha, MG, luciana@epamig.br

<sup>&</sup>lt;sup>3</sup>Graduanda Eng. Agrícola e Ambiental UFMG-ICA, Montes Claros, MG, amanda-samila@hotmail.com

<sup>&</sup>lt;sup>4</sup>Eng. Agrícola, D.Sc., Pesq. EPAMIG Norte-CEGR/Bolsista FAPEMIG, Nova Porteirinha, MG, jbrsreis@epamig.br

<sup>&</sup>lt;sup>5</sup>Graduanda Agronomia UNIMONTES/Bolsista FAPEMIG, Janaúba, MG, selmauniagro@gmail.com

<sup>&</sup>lt;sup>6</sup>Graduanda Agronomia UNIMONTES/Bolsista FADENOR, Janaúba, MG, veronica.agrounimontes@gmail.com

<sup>&</sup>lt;sup>7</sup>Graduanda Agronomia UNIMONTES, Janaúba, MG, danielaferreirasilveira7@gmail.com

Fazem parte dos reguladores as auxinas e citocininas, que têm como função regular o crescimento meristemático e a divisão celular, visto que maior quantidade de auxina favorece o crescimento, o desenvolvimento das raízes e promove modificações plásticas na parede celular, permitindo o alongamento; e maiores concentrações de citocinina promovem a citocinese e são essenciais na regeneração de calos (SILVA, 2003). Uma das auxinas mais importante e usada, sendo eficiente no crescimento da planta é o ácido indol-3-acético (AIA), que, além de ser uma auxina natural, é a menos estável. E a 6-benzilaminopurina (BAP) que é uma citocinina bastante usada e considerada a mais potente (GUERRA; NODARI, 2006).

Este estudo teve como objetivo avaliar a micropropagação da cultivar *Epidendro* sp. com diferentes concentrações de AIA E BAP.

#### **ESTABELECIMENTO DO CULTIVO IN VITRO**

O trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Biotecnologia da EPAMIG Norte, em Nova Porteirinha, MG. Os explantes já estabelecidos da cultivar *Epidendro* sp. foram subcultivados e introduzidos em meio de cultura MS, sendo suplementados com 0,0; 0,1; 0,2; 0,3 e 0,4 mg/L de AIA e 0,0; 0,5; 1,0 e 1,5 mg/L de BAP; 150 g de sacarose, 0,5 mg/L de inositol e solidificado com 7 g/L de ágar.

Utilizou-se, no experimento, para análise estatística, o delineamento inteiramente casualizado (DIC), em esquema fatorial (5x4), composto por 20 tratamentos, com cinco repetições cada, sendo três explantes por frasco. Após o preparo do meio, foi aferido o pH e ajustado para 5,8. O meio foi fervido e distribuído em 100 frascos de vidro, que foram vedados e autoclavados por 20 minutos a 120 °C. O subcultivo foi feito em câmera de fluxo laminar. As plantas foram multiplicadas e estabelecidas ao meio de cultura, e, após os procedimentos de repicagem e de identificação, os frascos foram encaminhados à sala de aclimatização, com temperatura a 25 °C.

Foram feitas avaliações em 30 e 60 dias, nas quais observaram-se as variáveis altura do explante, número de folhas, número de brotos, número de raízes e comprimento de folhas. Os dados foram analisados estatisticamente, usando-se o sistema R, e as médias, comparadas pelo teste F obtido pela análise de variância, a 5% de probabilidade, e quando significativos, realizou-se a análise de regressão.

# AVALIAÇÕES DAS CONCENTRAÇÕES DE BAP e AIA

As avaliações das respostas com concentrações de BAP foram mais significativas no período de 60 dias.

Analisando-se as concentrações de BAP no período de 60 dias, observou-se, no Gráfico 1, que a característica número de brotos obteve resposta crescente com o aumento das concentrações, tendo resposta mais responsiva para 1 e 1,5 mg/L de BAP, produzindo, aproximadamente, sete a nove brotos por frasco com três explantes. Assim, doses maiores de BAP proporcionaram a eficiência na multiplicação dos brotos. Segundo Carvalho e Vidal, (2003) concentrações altas de BAP induzem à formação de brotos adventícios.

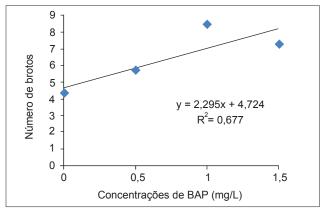


Gráfico 1 - Número médio de brotos de orquídeas em diferentes concentrações de BAP aos 60 dias de avaliação

Analisando-se a característica número de raízes com concentrações de BAP, observa-se decréscimo radicular, com o aumento das concentrações no período de 60 dias. De acordo Schwertner e Zaffari (2003), concentrações elevadas de BAP resultaram numa redução significativa do número médio de folhas e raízes. O Gráfico 2 demonstra que houve maior número de raízes, obtendo-se aproximadamente, 12 raízes por frasco com três explantes, por ausência do fitorregulador BAP.

Para a característica comprimento de folhas, foi observado que a ausência de AIA proporcionou maior comprimento de folhas com, aproximadamente, 16 mm no período de 60 dias (Gráfico 3). O decréscimo do comprimento das folhas pode ter relação com as baixas concentrações, pois, segundo Carvalho e Vidal (2003), o AIA é uma auxina que, comumente, é adicionada a concentrações relativamente elevadas (1-30 mg/L) em virtude de se decompor na presença de luz, mediante oxidação enzimática.

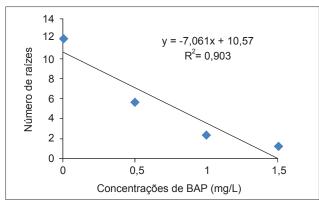


Gráfico 2 - Número médio de raízes de orquídeas em diferentes concentrações de BAP aos 60 dias de avaliação

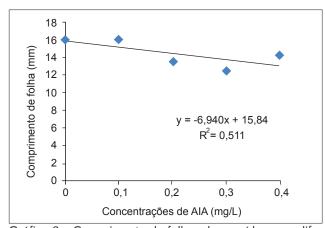


Gráfico 3 - Comprimento de folhas de orquídeas em diferentes concentrações de AIA aos 60 dias de avaliação

Houve interação entre as concentrações AIA e BAP no período de 60 dias, na qual observa-se decrescente para o número de raízes (Gráfico 4). Por causa das baixas concentrações de AIA, e BAP em maior concentração que AIA, BAP pode inibir a formação de raízes, podendo ser uma possível resposta para o decréscimo do número de raízes com o au-

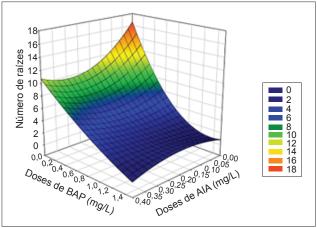


Gráfico 4 - Interação entre AIA e BAP para a variável número de raízes no período de 60 dias de avaliação

mento das concentrações dos reguladores de crescimento (CARVALHO; SILVA; MEDEIROS, 2006).

Portanto, observou-se que as baixas concentrações de AIA afetaram o crescimento das raízes, e que, possivelmente, a presença desta foi inibida pelo fitormônio BAP.

## **CONSIDERAÇÕES FINAIS**

A utilização de BAP na concentração 1 mg/L foi a mais eficiente por promover maior número de brotos. O comprimento de folhas não apresentou valores significativos de crescimento, podendo ser pelas baixas concentrações de AIA adicionadas, e as raízes obtiveram decréscimo significativo na presença do BAP.

### **REFERÊNCIAS**

CARVALHO, J.M.F.C.; SILVA, M.M.A.; MEDEIROS, M.J.L. Fatores inerentes à micropropagação. Campina Grande: Embrapa Algodão, 2006. p.20. (Embrapa Algodão. Documentos, 148). Disponível em: <a href="http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/">http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/</a> CNPA/18325/1/DOC148.pdf>. Acesso em: 4 abr. 2016.

CARVALHO, J.M.F.C.; VIDAL, M.S. **Noções de cultivo de tecidos vegetais**. Campina Grande: Embrapa Algodão, 2003. p.23-34. (Embrapa Algodão. Documentos, 116). Disponível em: <a href="http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/CNPA/16668/1/DOC116.PDF">http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/CNPA/16668/1/DOC116.PDF</a>>. Acesso em: 29 abr. 2016.

CHAER, L. Estudo para o estabelecimento de uma nova estratégia de clonagem in vitro de Cattleya e Cymbidium (Orchidaceae) por meio da utilização de gemas laterais de caules estiolados. 2012. 111p. Dissertação (Mestrado em Botânica) — Instituto de Biociências. Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012. Disponível em: <file:///C:/Users/Amanda%20 Samila/Desktop/Lia\_Chaer\_CORRIG.pdf>. Acesso em: 4 abr. 2016.

GUERRA, M.P.; NODARI, R.O. **Cultura de tecidos vegetais**. Florianópolis: UFSC, 2006. Apostila de Biotecnologia. Disponível em: < http://www.ebah.com. br/content/ABAAAeiQAAK/apostila-biotecnologia-ufsc>. Acesso em: 20 abr. 2016.

SCHWERTNER, A.B.S.; ZAFFARI, G.R. Micropropagação de singônio. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, Campinas, v.9, n.2, p.135-142, 2003. Disponível em: <a href="https://ornamentalhorticulture.emnuvens.com.br/rbho/">https://ornamentalhorticulture.emnuvens.com.br/rbho/</a>

article/download/177/38>. Acesso em: 22 abr. 2016.

SILVA, E.F. Multiplicação e crescimento in vitro de orquídea *Brassiocattleya* Pastoral x *Laeliocattleya* Amber Glow. 2003. 62 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) — Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG. Disponível em: <a href="http://repositorio.ufla.br/">http://repositorio.ufla.br/</a>

bitstream/1/4220/1/DISSERTA%C3%87%C3%830\_Multiplica%C3%A7%C3%A30%20e%20crescimento%20in%20vitro%20de%20orqu%C3%ADdea%20Brassocattleya%20Pastoral%20x%20Laeliocattleya%20Amber%20Glow.pdf>. Acesso em: 5 abr. 2016.