



---

## ESTABELECIMENTO *in vitro* DE ROSEIRA: EFEITO DO REGULADOR DE CRESCIMENTO BAP

**Maiqui Izidoro<sup>1</sup>; Josiele T. Leite<sup>2</sup>; Anna Lygia R. Maciel<sup>2</sup>; Adriana F. de Moraes<sup>2</sup>; Bianca G. Sobreira<sup>2</sup>; Washington B. S. Pereira<sup>2</sup>; Jéssica A. Batista<sup>2</sup>.**

### RESUMO

A manipulação de tecidos vegetais *in vitro* apresenta-se como uma excelente alternativa para a propagação de roseira, pois permite a produção de plantas mais uniformes e saudáveis, em maior número, menos tempo e menor espaço físico. Objetivou-se com o presente trabalho avaliar o efeito do regulador de crescimento 6-benzilaminopurina (BAP) no estabelecimento *in vitro* de *Rosa* spp. O trabalho foi realizado no Laboratório de Biotecnologia do IFSULDEMINAS - Câmpus Muzambinho, no período de março a maio de 2015. Empregou-se o delineamento inteiramente casualizado (DIC), com quatro repetições e cinco explantes por parcela. Os tratamentos constituíram-se de diferentes concentrações de BAP: 0,0; 0,5; 1,0; 1,5 e 2,0 mg L<sup>-1</sup>. Após 60 dias foram avaliados a porcentagem de sobrevivência dos explantes e número de folhas expandidas por explante. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (teste F) e quando houve diferenças, foram comparados pelo teste de comparação de médias (Skott-Knott). As maiores porcentagens de sobrevivência dos explantes foram obtidas utilizando BAP nas concentrações 2,0 mg L<sup>-1</sup>; 0,5 mg L<sup>-1</sup> e 1,5 mg L<sup>-1</sup>, respectivamente; BAP nas concentrações de 2,0 mg L<sup>-1</sup>; 0,5 mg L<sup>-1</sup> promovem o maior número de folhas expandidas por explante.

---

<sup>1</sup> Universidade Federal de Alfenas. Alfenas/MG, email: [mayk-isidoro@hotmail.com](mailto:mayk-isidoro@hotmail.com);

<sup>2</sup> Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sul de Minas Gerais – Câmpus Muzambinho Muzambinho/MG, email: [josiellytc@hotmail.com](mailto:josiellytc@hotmail.com);

<sup>2</sup> Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sul de Minas Gerais – Câmpus Muzambinho Muzambinho/MG, email: [anna.lygia@muz.ifsuldeminas.edu.br](mailto:anna.lygia@muz.ifsuldeminas.edu.br);

<sup>2</sup> Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sul de Minas Gerais – Câmpus Muzambinho Muzambinho/MG, email: [bpsobreira@hotmail.com](mailto:bpsobreira@hotmail.com);

<sup>2</sup> Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sul de Minas Gerais – Câmpus Muzambinho Muzambinho/MG, email: [adriana\\_fmoraes@hotmail.com](mailto:adriana_fmoraes@hotmail.com);

<sup>2</sup> Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sul de Minas Gerais – Câmpus Muzambinho Muzambinho/MG, email: [washingtonbs@yahoo.com.br](mailto:washingtonbs@yahoo.com.br);

<sup>2</sup> Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sul de Minas Gerais – Câmpus Muzambinho Muzambinho/MG, email: [jessikbio@hotmail.com](mailto:jessikbio@hotmail.com);

## INTRODUÇÃO

O segmento da floricultura é um setor muito competitivo, que está em plena expansão e movimentada bilhões de dólares em todo o mundo. Dentre as espécies ornamentais, a rosa é a flor de corte mais produzida e comercializada no Brasil e no mundo. São as flores mais requisitadas nas floriculturas, principalmente em datas comemorativas (PAIVA et al., 2004).

Tradicionalmente, as roseiras são multiplicadas por propagação vegetativa através das técnicas da estaquia, mergulhia e enxertia, o que favorece a disseminação e o acúmulo de patógenos. Além disso, a dependência da época do ano e a baixa taxa de multiplicação limitam a propagação convencional (DINIZ et al., 2014).

A manipulação de tecidos vegetais *in vitro* apresenta-se como uma excelente alternativa para o cultivo da roseira, já que permite a produção de plantas mais uniformes e saudáveis, em maior número, menos tempo e menor espaço físico. Além disso, permite a obtenção de plantas com alta qualidade fitossanitária (CROCOMO, 1986).

O estabelecimento é uma das fases da micropropagação da roseira que visa estabelecer os explantes *in vitro* para os subseqüentes experimentos de multiplicação e enraizamento. No processo de micropropagação, as citocininas e auxinas correspondem aos mais importantes grupos de reguladores de crescimento e da morfogênese de tecidos e órgãos vegetais (PASQUAL, 2001). Essas substâncias são essenciais para o desenvolvimento dos explantes e estão intimamente relacionadas com a divisão celular e o crescimento do meristema (MARQUES, 1996). As citocininas, a exemplo do BAP (6-benzilaminopurina), agem induzindo a quebra da dominância apical e proliferação de gemas axilares (GRATTAPAGLIA; MACHADO, 1998). Já as auxinas, segundo Bhojwani e Razdan (1996), são utilizadas em cultura de tecidos para induzir a divisão celular e a diferenciação de raízes.

No caso específico da micropropagação de roseira, há ainda várias questões a serem resolvidas. Além do custo elevado, problemas como a dominância apical, vitrificação e a senescência da folha dificultam o uso dessa técnica na multiplicação da referida planta (ALVES et al., 2007), necessitando de mais pesquisas com o cultivo. Assim, objetivou-se o trabalho avaliar o efeito do regulador de crescimento

BAP (6-benzilaminopurina) em diferentes concentrações no estabelecimento *in vitro* do cultivo da roseira.

## MATERIAL E MÉTODOS

O presente experimento foi desenvolvido no Laboratório de Biotecnologia no departamento de Ciências Agrárias e Biológicas do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sul de Minas Gerais - Câmpus Muzambinho, no período de março a maio de 2015.

Como fonte de explantes, foram utilizadas hastes florais comerciais classificadas como longa (60 cm de comprimento), obtidas de um produtor provenientes de casa de vegetação localizado no município de Andradas, Minas Gerais e mantidas por uma semana em temperatura de 4°C antes da instalação do experimento.

As hastes de rosa foram cortadas em três a quatro estacas, com cerca de 5 cm de comprimento, aproximadamente, utilizando os segmentos obtidos da porção mediana da haste, onde atingem tamanho mais adequado para as manipulações no processo de deposição *in vitro*.

Os segmentos das hastes foram lavados em água destilada e imersos em solução de hipoclorito de sódio a 1,25% de cloro ativo por 15 min. Em seguida os explantes foram submetidos à solução de álcool 70% por 1 min. Posteriormente, em câmara de fluxo laminar horizontal, essas foram lavadas três vezes consecutivas com água destilada e autoclavada. Em câmara de fluxo laminar, foram retiradas as gemas laterais dos segmentos das hastes com auxílio de bisturi e pinças histológicas. De maneira geral, as gemas apresentavam-se com aproximadamente 5 mm de diâmetro.

Os explantes foram inoculados em meio de cultura de MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962), adicionado de 30 g L<sup>-1</sup> de sacarose e 0,5 mg L<sup>-1</sup> de ANA (ácido naftaleno acético), contido em tubos de ensaio (150x25mm) com 10 mL de meio cada.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado (DIC), com quatro repetições e quatro explantes por parcela. Os tratamentos constituíram-se de diferentes concentrações de BAP (6-benzilaminopurina): 0,0; 0,5; 1,0; 1,5 e 2,0 mg L<sup>-1</sup>.

O pH dos meios de cultura foi aferido a 5,8, e solidificado em ágar 6 g L<sup>-1</sup>, e submetido ao processo de esterilização em autoclave por 15 min a 121°C, onde foi distribuído 1 explante em cada tudo de ensaio. As gemas laterais foram mantidas em sala de crescimento sob temperatura de 25°C e fotoperíodo de 16 horas por um período de 60 dias. Após 60 dias foram avaliados porcentagem de contaminação, oxidação e sobrevivência dos explantes e número de folhas expandidas por explante.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância com o emprego do software estatístico SISVAR (FERREIRA, 2011), sendo a diferença significativa entre tratamentos determinada pelo teste F e posteriormente, analisados pelo teste de comparação de médias (Skott Knott).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com os resultados apresentados na Tabela 1, pode-se observar que as maiores porcentagens de desenvolvimentos e sobrevivência dos explantes (50, 60 e 65%) foram obtidas nos meios de cultura adicionados de; 0,5 mg L<sup>-1</sup> e 1,5 mg L<sup>-1</sup> e 2,0 mg L<sup>-1</sup>, respectivamente.

Tabela 1. Efeito de diferentes concentrações de BAP, no potencial de regeneração de gemas laterais de roseira.

Tratamentos	Sobrevivência (%)	Nº de Folhas
Testemunha	30b	0,375b
0,5 mg L <sup>-1</sup>	60a	1,400a
1,0 mg L <sup>-1</sup>	35b	1,000b
1,5 mg L <sup>-1</sup>	50a	0,600b
2,0 mg L <sup>-1</sup>	65a	1,800a
CV (%)	25,23	43,69

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si ao nível de 5% pelo teste de Scott-Knott.

Os dados indicam que estes três tratamentos foram superiores estatisticamente aos demais, sendo adequados para obtenção de explantes para os próximos experimentos a serem realizados. Bressant et al. (1982), trabalhando com *Rosa x hybrida* cv. Gold Glow, observaram que o BAP em baixas concentrações estimula o desenvolvimento de gemas laterais de *Rosa x hybrida*.

Para a variável número de folhas expandidas, os tratamentos utilizando-se BAP nas concentrações de 2,0 mg L<sup>-1</sup> e 0,5 mg L<sup>-1</sup> , destacaram-se estatisticamente dos demais, com uma média de aproximadamente 1,8 e 1,4 folhas expandidas, respectivamente (Tabela 1 e Figura 1).



Figura 1: Número de folhas expandidas em gemas laterais de roseira cultivadas em meio de cultura com BAP na concentração de 2,0 mg L<sup>-1</sup>.

As citocininas exercem diferentes efeitos sobre a fisiologia do desenvolvimento em plantas. São associados à presença desta classe de hormônios eventos como a formação de brotações a partir de gemas, expansão foliar, retardo da senescência, promoção da germinação de sementes e formação de cloroplastos (TAIZ; ZEIGER, 2009). Em condições *in vitro*, as citocininas participam de processos de regulação da divisão, crescimento e diferenciação celular (ASSIS; TEIXEIRA, 1998).

Teixeira et al. (2004) trabalharam com o estabelecimento *in vitro* do porta-enxerto de *Prunus* spp. cultivado em meio de cultura acrescido de 0,0; 0,5; e 1,0 mg L<sup>-1</sup> de BAP e observaram uma inibição do comprimento da brotação e do número de folhas expandidas à medida que se elevava a concentração de BAP no meio de cultura. Isso leva a confirmar que cada espécie vegetal responde de maneira diferente as condições de cultivo *in vitro* e às concentrações de BAP adicionadas ao meio de cultura.

## CONCLUSÕES

As maiores porcentagens de sobrevivência dos explantes são obtidas utilizando BAP nas concentrações 2,0 mg L<sup>-1</sup> ; 0,5 mg L<sup>-1</sup> e 1,5 mg L<sup>-1</sup>, respectivamente. A utilização do BAP nas concentrações de 2,0 mg L<sup>-1</sup> e 0,5 mg L<sup>-1</sup> promovem o maior número de folhas expandidas por explante no cultivo da roseira *in vitro*.

## REFERÊNCIAS

- ALVES, Deiane Santos et al. **Influência de extratos vegetais no desenvolvimento *in vitro* de plântulas de Rosa x hybrida**. *Ciênc. agrotec.* [online]. 2007, vol.31, n.6, pp. 1888-1892.
- ASSIS, T.F.; TEIXEIRA, S.L. Enraizamento de plantas lenhosas. In: TORRES, A.C.; CALDAS, L.S.; BUSO, J.A. (Ed.) **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: EMBRAPA, 1998, p. 261–296.
- BHOJWANI, S. S.; RAZDAN, M. K. Tissue cultura media. In: \_\_\_\_\_. **Plant tissue culture: theory and practice, a revised edition**. Amsterdã: Elsevier, 1996. p. 39-62.
- CROCOMO, O. J. Plant biotechnology in the agriculture and development in Brasil. In: SIMPÓSIO ANUAL DA ACADEMIA DE CIÊNCIA DE SÃO PAULO, 11., 1990, São Paulo. **Anais...** São Paulo: [s.n.], 1986. p. 53-71.
- DINIZ, J.D.N.; ALMEIDA, J.L.; OLIVEIRA, A.B.; VIDAL, F.R. Multiplicação e enraizamento *in vitro* de Minirosa. **Revista Ciência Agronômica**, v. 45, n. 1, p. 68-73, jan-mar, 2014.
- FERREIRA, D.F. Sisvar: um sistema computacional de análise estatística. **Ciência e Agrotecnologia**. V.35, n.6. Lavras. Nov./Dec.2011.
- GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. (Eds.). **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília, DF: Embrapa/CNPQ, 1998. p. 183-260.
- MARQUES, D. A. **Influência de fitorreguladores e fontes de nitrogênio na morfogenese *in vitro* de *Chrysanthemum morifolium* (Ramat) Tzvelev cv. Amarelo**. 1996. 90 f.Dissertação (Mestrado em Agronomia) Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 1996.
- PAIVA, P.D.O.; PAIVA, R.; PAIVA, L.V. Estabelecimento *in vitro* de estrelícia (*Strelitzia reginae* Banks). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.28, n.05, p.1031-1037, set.out., 2004.
- PASQUAL, M. **Meios de cultura, cultura de tecidos: tecnologia e aplicações**. Lavras: UFLA/FAEPE, 2001. 74 p.
- TEIXEIRA, P.T.; SILVA, A.L.; DUCROQUET, J.P.H.J.; GUERRA, M.P. Multiplicação *in vitro* de porta-enxertos de *Prunus* spp. 'Carelli'. *Revista Brasileira de Fruticultura*, Jaboticabal, v.26, n.2, p.377-379, 2004.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 4.ed. Porto Alegre: Artmed, 2009. 819p.