

MULTIPLICAÇÃO *in vitro* DE GLOXÍNIA (*Sinningia speciosa* LOOD. HIERN.)¹

Aparecida Gomes de Araújo²
Cibelle Vilela Andrade Fiorini²
Moacir Pasqual²
Adriano Bortolotti da Silva²
Fabíola Villa²

RESUMO

Objetivou-se estudar a influência de concentrações do meio MS, de sacarose e de BAP na multiplicação *in vitro* de gloxínia. O meio de cultura utilizado foi o MS, e os tratamentos consistiram de duas concentrações (50 e 100%), associados a concentrações de sacarose (0, 30, 60 e 90 g L⁻¹) e acrescidos de BAP nas concentrações de 0, 1, 2 e 4 mg L⁻¹. O meio de cultura, contendo os tratamentos, foi distribuído em tubos de ensaio (15 mL) e autoclavados a 121°C por 20 minutos. Após o processo de inoculação em câmara de fluxo laminar, o material foi transferido para sala de crescimento com temperatura de 25 ± 2°C, irradiância de 35 µM m⁻² s⁻¹ e fotoperíodo de 16 horas. Em 45 dias, foram avaliados altura e número de brotos, número de folhas e peso das matérias fresca e seca. Melhores resultados foram obtidos em meio MS com 50% de sais minerais em todas as variáveis estudadas. A adição de 2 mg L⁻¹ de BAP proporciona maior número de folhas e brotos, e a de 2,55 mg L⁻¹, maior peso de plântulas secas. Maior altura de brotos foi verificada na ausência de BAP. Concluiu-se que o nível de sacarose ideal é de 30 g L⁻¹, para número de folhas e brotos, e de 60 g L⁻¹, para peso da matéria seca.

Palavras-chave: meio de cultura MS, sacarose, benzilaminopurina.

¹ Aceito para publicação em 22.10.2003. Apoio financeiro da FAPEMIG

² Departamento de Agricultura, Universidade Federal de Lavras (UFLA). Cx. P., 37, 37200-000. Lavras, MG. E-mail: mpasqual@ufla.br

ABSTRACT

IN VITRO MULTIPLICATION OF GLOXINIA (*Sinningia speciosa* LOOD. HIERN)

This work aimed to study the influence of concentrations of MS medium, sucrose and BAP on the multiplication *in vitro* of gloxinia. The culture medium used was the MS and the treatments consisted of two different concentrations (50% and 100%), associated to different sucrose concentrations (0, 30, 60 and 90 g L⁻¹) and added by BAP in the concentrations 0, 1, 2 and 4 mg L⁻¹. The culture medium containing the treatments was distributed in rehearsal tubes (15 ml) and autoclaved to 121°C for 20 minutes. Gloxinia nodal segments were inoculated aseptically in laminar flow camera. After the inoculation process, the material was transferred to a growing room with temperature of 25±2°C, irradiance of 35 μM m⁻² s⁻¹ and photoperiod of 16 hours. After 45 days, mean sprout length, number of sprouts, number of leaves, fresh and dry matter weight per explant were recorded. The best results were obtained in MS medium with 50% mineral salts for all the characters studies. The addition of 2 mg L⁻¹ BAP provides a larger number of leaves and sprouts and 2.55 mg L⁻¹ higher plant dry weight. Higher sprouts was verified in the absence of BAP. It was concluded that the ideal level of sucrose is 30 g L⁻¹ for number of leaves and sprouts and 60 g L⁻¹ for dried matter weight.

Key words: MS culture medium, sucrose, BAP.

INTRODUÇÃO

A propagação de plantas ornamentais a partir de técnicas de cultura de tecidos pode ser uma alternativa viável para a obtenção de um grande número de plantas com alta qualidade genética e fitossanitária, em um curto espaço de tempo, suprimindo, assim, a necessidade dos produtores de flores ou plantas ornamentais na aquisição de mudas com qualidade comprovada (10).

A propagação convencional da gloxínia é feita com o uso de sementes, gerando variações nas plantas produzidas. Também por este método, as plantas produzem flores após seis a sete meses, enquanto pela propagação *in vitro* e utilizando tecidos adultos, como propágulos, este período é reduzido para três a quatro meses (4).

A propagação *in vitro* é uma biotecnologia já amplamente utilizada em vasto número de espécies ornamentais, dentre elas, a gloxínia (1). Nesta planta, a propagação dá-se cultivando *in vitro* brotos apicais ou segmentos foliares, em meio de cultura MS suplementado com reguladores de crescimento (1).

A micropropagação de plantas ornamentais é a técnica de cultura de tecidos mais amplamente utilizada, sendo a maioria constituída por espécies ornamentais (1).

O meio de cultura MS (5) é o mais utilizado para a propagação de várias espécies; entretanto, a sua concentração de nutrientes é alta e pode ser modificada (9).

Os reguladores de crescimento são substâncias que atuam em baixas concentrações, em vários processos do crescimento e desenvolvimento das plantas (2). Algumas dessas substâncias são as citocininas, sendo a BAP (benzilaminopurina) a mais utilizada para estimular a formação de brotações *in vitro* (3).

Em geral, células, tecidos e órgãos vegetais cultivados *in vitro* são heterotróficos e dependem de uma fonte externa de carbono, sendo os carboidratos na forma de sacarose a mais comumente utilizada. A concentração ótima de sacarose para induzir o crescimento difere entre genótipos e afeta também a assimilação de nutrientes e o efeito de reguladores de crescimento (8).

Neste trabalho, objetivou-se estudar a influência de concentrações dos minerais nutrientes do meio MS, da sacarose e da BAP no desenvolvimento *in vitro* de gloxínia (*Sinningia speciosa* Lood. Hiern.).

MATERIAL E MÉTODOS

Plântulas de gloxínia, com seis meses de idade, germinadas e crescidas *in vitro*, foram utilizadas como fontes de segmentos nodais, os quais foram inoculados em meio de cultura contendo duas concentrações (50 e 100%) dos minerais nutrientes de MS (5), acrescido de 2 g L⁻¹ de mio-inositol, 50 mg L⁻¹ de tiamina, 50 mg L⁻¹ de ácido nicotínico e 50 mg L⁻¹ de piridoxina. A esta solução nutritiva adicionaram-se BAP (benzilaminopurina) nas concentrações de 0, 1, 2 e 4 mg L⁻¹, e sacarose, nos níveis de 0, 30, 60 e 90 g L⁻¹, em todas as combinações possíveis. O meio de cultura teve seu pH ajustado para 5,8, antes da solidificação com 6 g L⁻¹ de ágar da marca Merck®. Após o preparo, 15 mL do meio foram distribuídos em tubos de ensaio de 150 x 25 mm, fechados com tampas de polipropileno, identificados e autoclavados a 121°C por 20 minutos.

Segmentos nodais, preparados com aproximadamente 1,0 cm de comprimento, foram inoculados assepticamente em câmara de fluxo laminar. Após a inoculação, o material foi colocado em sala de crescimento, com temperatura em torno de 25 ±2°C, fotoperíodo de 16 horas e irradiância de 35 µM m⁻² s⁻¹, fornecida por tubos fluorescentes de 20 W, marca Osram®, luz do dia especial. O delineamento foi inteiramente casualizado, perfazendo um fatorial 2 x 4 x 4, com quatro repetições e três tubos por parcela.

Após 45 dias, os propágulos foram avaliados com base na altura dos brotos, número de brotos, número de folhas, peso da matéria fresca e peso da matéria seca.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em relação ao número de folhas, houve efeito significativo nas seguintes interações: diferentes concentrações dos sais do meio MS e do regulador de crescimento BAP (Figura 1), diferentes concentrações dos sais do meio MS e níveis de sacarose (Figura 2) e, finalmente, concentrações de BAP e níveis de sacarose (Figura 3). Houve um comportamento semelhante entre os fatores estudados, que apresentaram uma queda acentuada quando as concentrações de BAP foram superiores a 2 mg L^{-1} (Figura 1). O maior número de folhas (12, em média) foi verificado no meio de cultivo contendo 50% da concentração de sais de MS e $1,72 \text{ mg L}^{-1}$ de BAP.

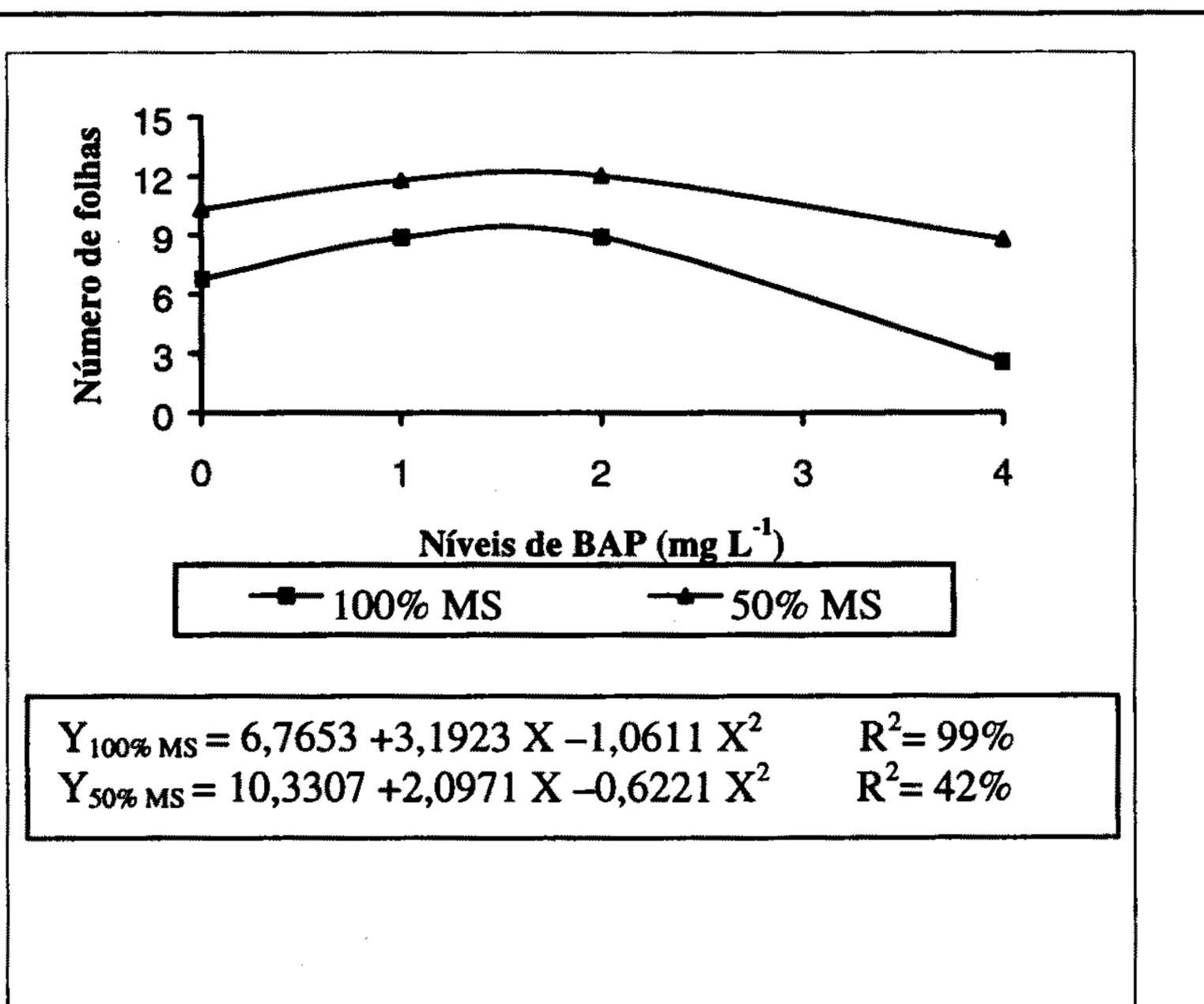
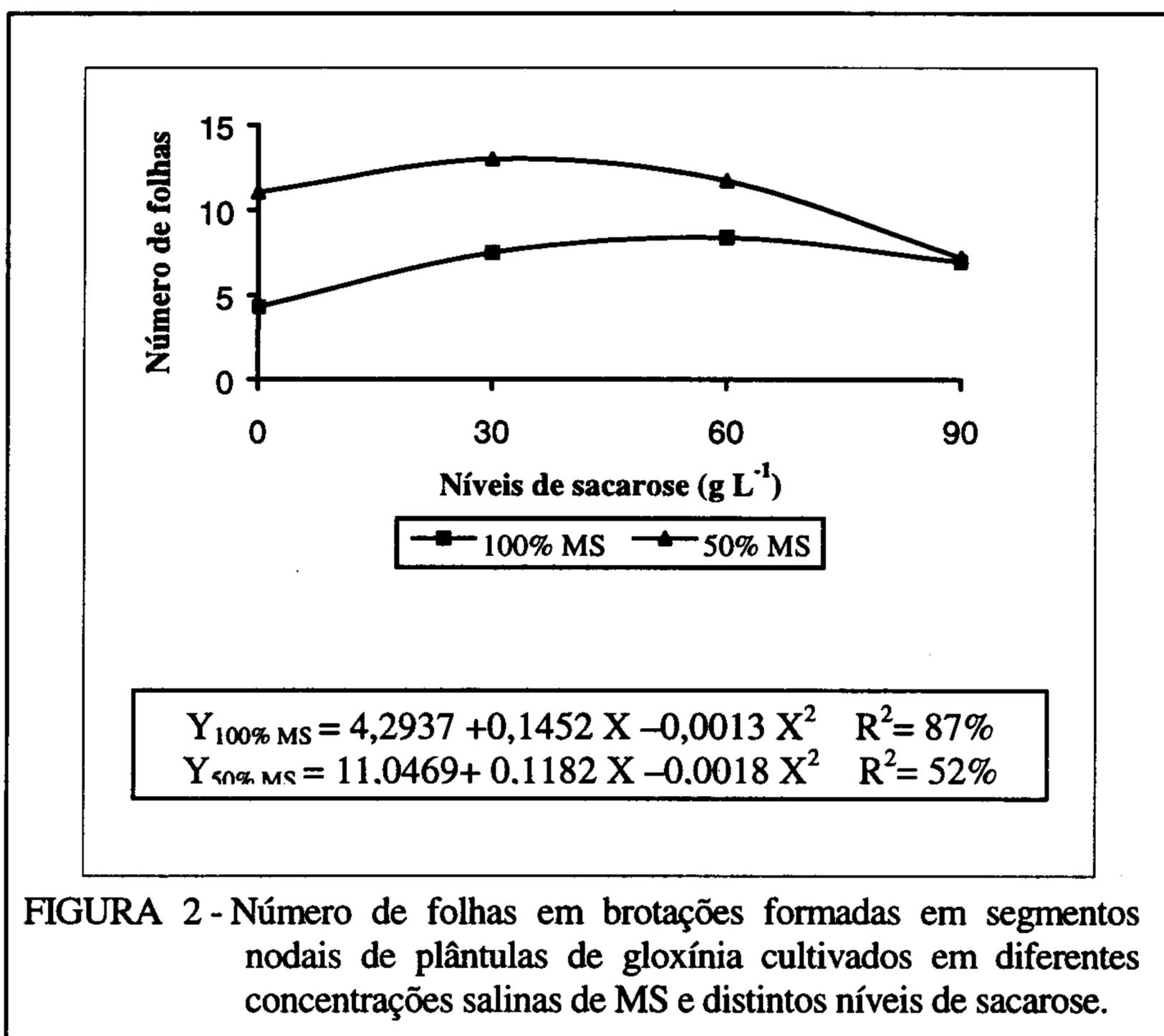


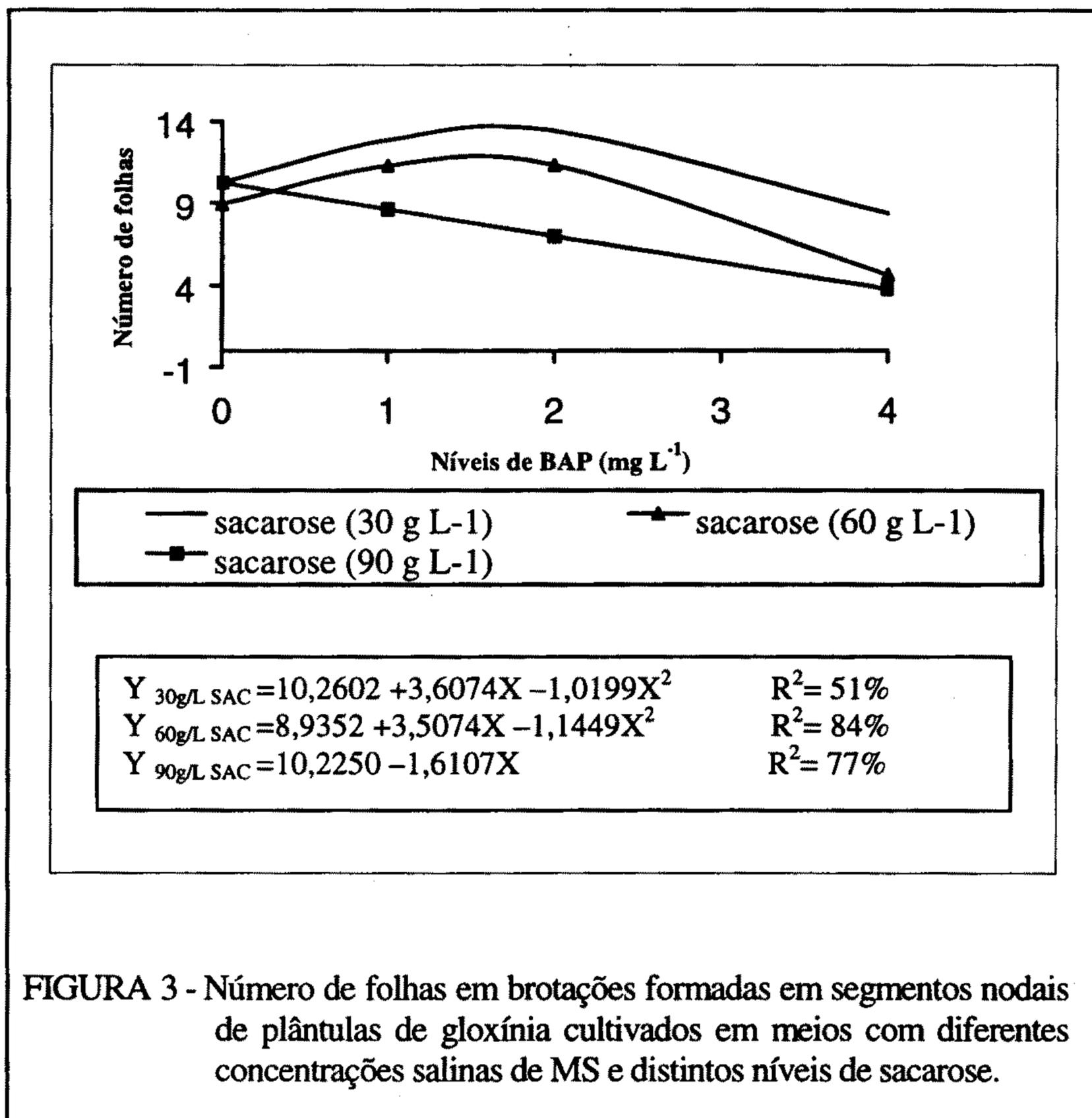
FIGURA 1 - Número de folhas em brotações formadas em segmentos nodais de plântulas de gloxínia cultivadas em meios com diferentes concentrações salinas de MS e distintos níveis de BAP.

Em trabalhos com crisântemo (6), observou-se queda no número de folhas com aumento das concentrações de BAP. Isso pode ser atribuído ao fato de o regulador de crescimento BAP estimular a formação de maior número de brotos, porém de tamanho reduzido, apresentando menor número de segmentos nodais e folhas.

Esse número médio de folhas por broto passou de 12 (Figura 1) para 13 (Figura 2) quando, ao meio de cultivo contendo 50% dos minerais de MS, adicionou-se sacarose na concentração de 32,83 g L⁻¹.



Na Figura 3, pode-se observar que, de forma semelhante à resposta obtida na interação meio de cultura e níveis de BAP, nas doses de sacarose de 30 e 60 g L⁻¹, houve tendência de aumento no número de folhas até 1,77 e 1,52 mg L⁻¹ de BAP, respectivamente, ponto a partir do qual houve queda na variável em estudo. Entretanto, quando se utilizaram 90 g L⁻¹ de sacarose, houve tendência linear negativa com o aumento das concentrações de BAP. O melhor nível de sacarose foi de 30 g L⁻¹, e BAP na concentração de 1,77 mg L⁻¹ (13 folhas por explante).



Maior número de brotos (Figuras 4 e 5) foi alcançado com o meio MS com 50% de sais, 30 g L⁻¹ de sacarose e 2,25 mg L⁻¹ de BAP, com 3,5 brotos por explante.

Paiva et al. (7) obtiveram maior número de brotos de gloxínia ao empregar 2 mg L⁻¹ de BAP. Este regulador de crescimento, além de fundamental para multiplicação *in vitro* de diversas espécies ornamentais, constitui a citocinina de mais baixo custo. Em contrapartida, Silva (10) obteve melhores resultados com a utilização de 1 mg L⁻¹ de BAP e 20 mg L⁻¹ de GA₃ em meio de cultura MS com 50% de sais, obtendo quatro brotos por explante.

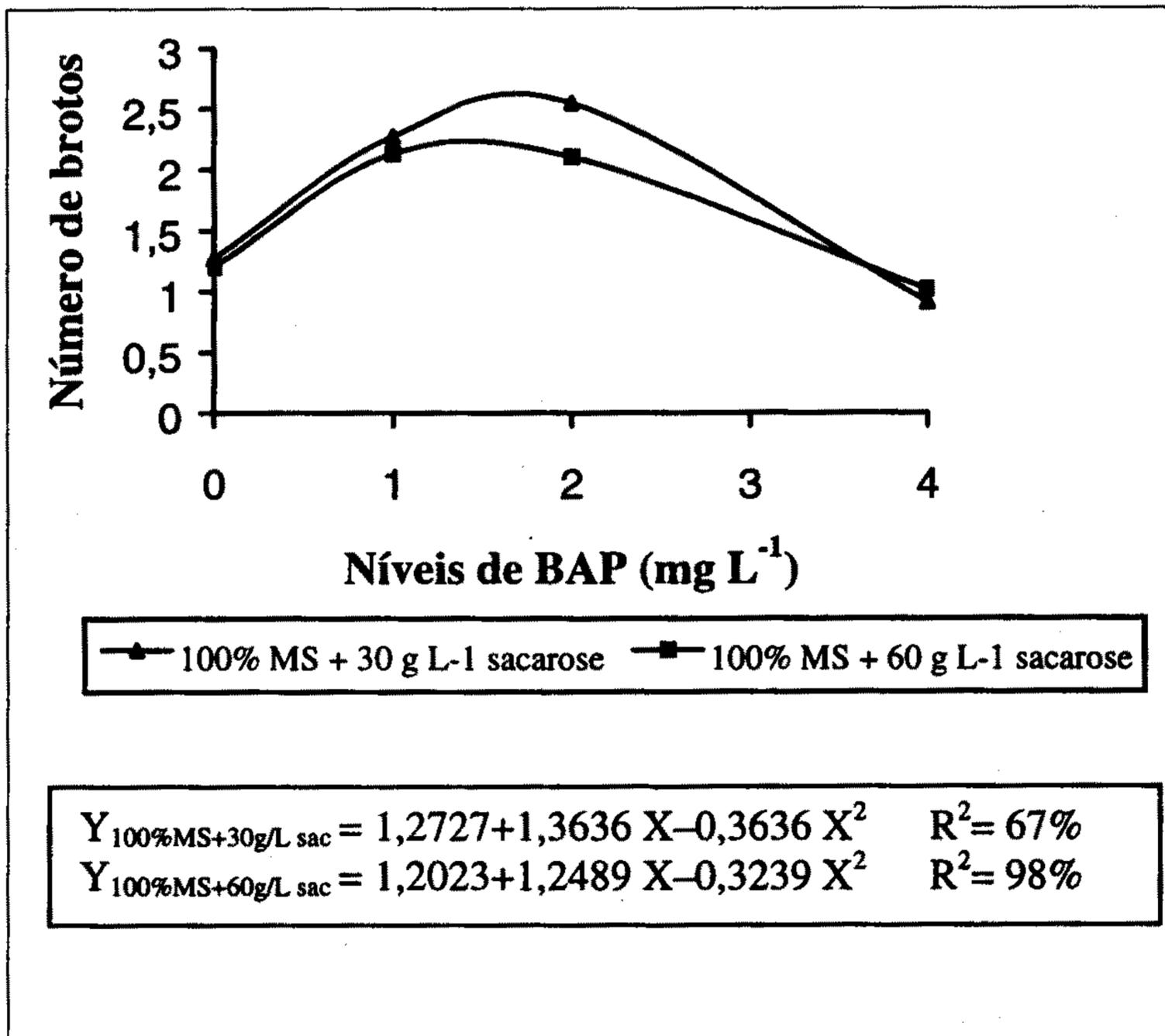


FIGURA 4 - Número de brotos em brotações formadas em segmentos nodais de plântulas de gloxínia cultivados em meios com 100% das concentrações salinas de MS e distintos níveis de BAP e sacarose.

A altura de brotos apresentou resposta linear decrescente com o aumento dos níveis de BAP (Figura 6). Estes resultados concordam com aqueles de Paiva et al. (7) e Silva (10), que, trabalhando com gloxínia, observaram também uma redução do tamanho de brotos com o aumento das concentrações de BAP. Outros autores têm observado os mesmos resultados negativos desse regulador de crescimento no alongamento das brotações em espécies como crisântemo e morangueiro (8). Maior altura de brotos foi observada na ausência de BAP (Figura 6).

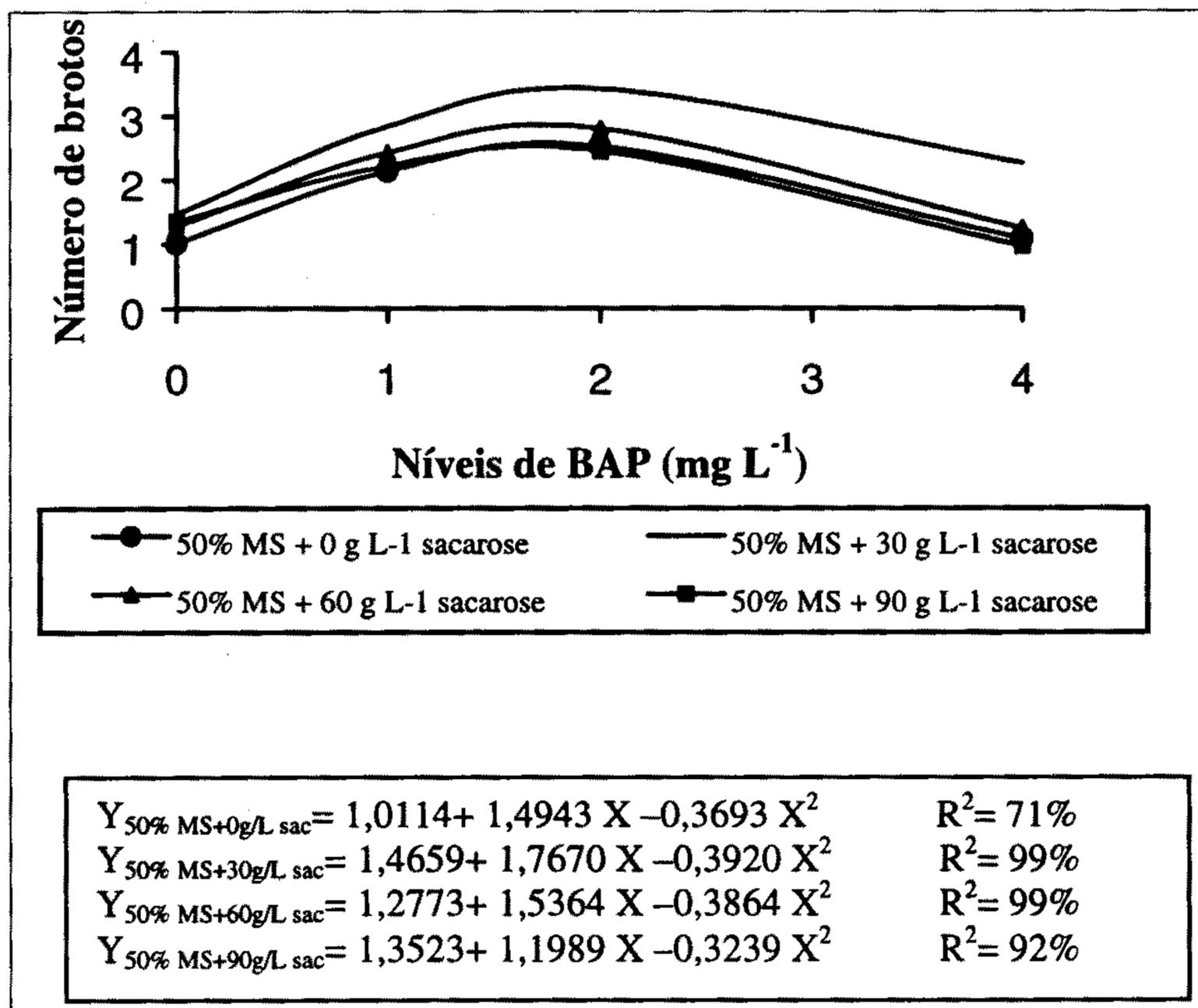
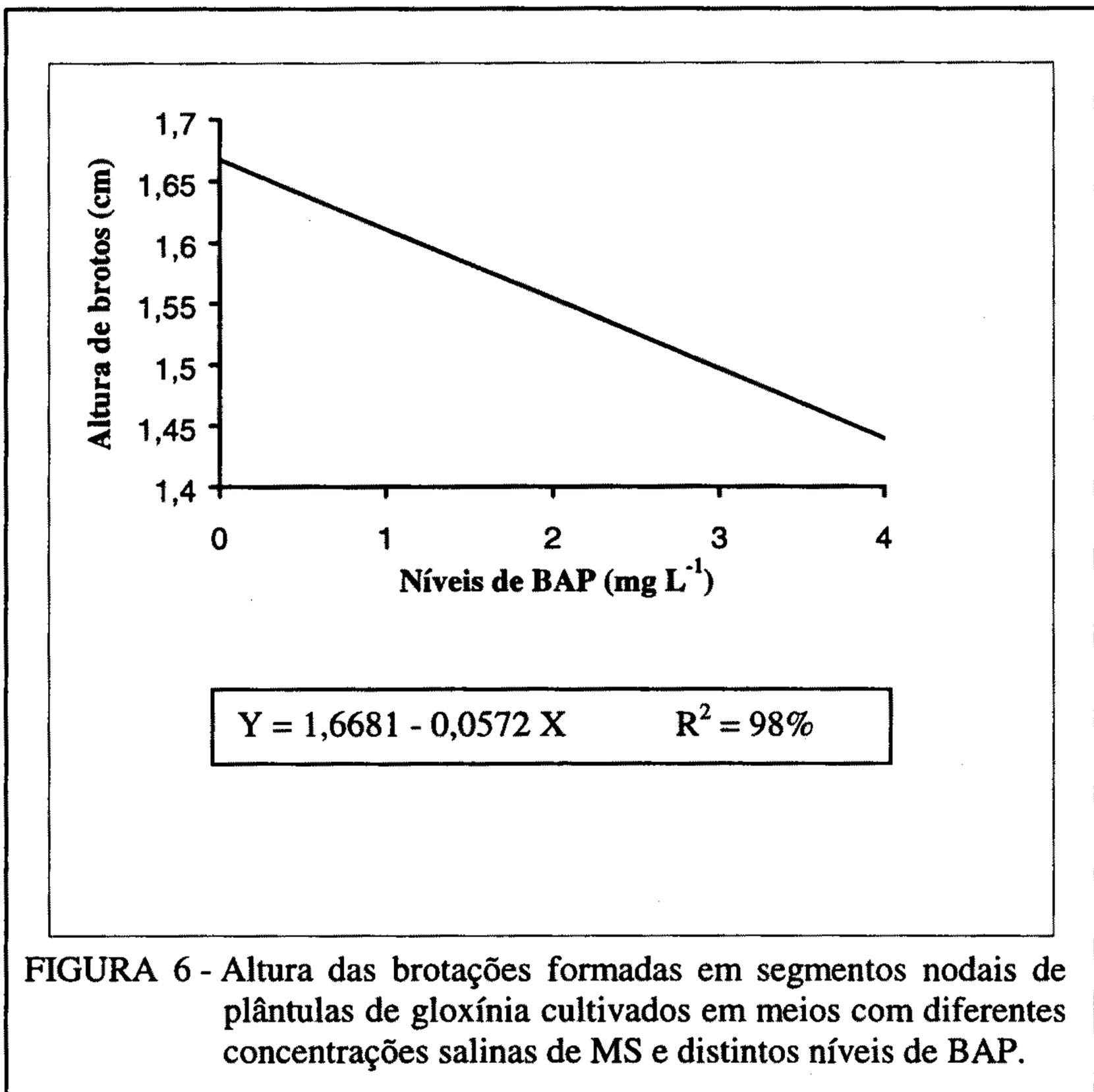


FIGURA 5 - Número de folhas em brotações formadas em segmentos nodais de plântulas de gloxínia cultivados em meio com 50% das concentrações salinas de MS e distintos níveis de sacarose.

Quanto ao peso da matéria fresca de brotos, não houve efeito significativo nos fatores estudados.

O peso da matéria seca, que é a expressão do crescimento real do explante, atingiu valor máximo com a utilização de 2,55 mg L⁻¹ de BAP (Figura 7). A partir deste ponto, esta citocinina passou a inibir o desenvolvimento das plantas *in vitro*, apresentando um decréscimo no peso da matéria seca. Melhores resultados, em relação ao peso da matéria seca de brotos (Figura 7), foram alcançados com o meio MS com 50% de sais e 60 g L⁻¹ de sacarose.



Em todas as variáveis analisadas, o meio MS com 50% de sais minerais apresentou respostas semelhantes ou superiores ao meio MS com 100% de sais. Paiva et al. (7) utilizaram 50% dos sais do meio MS, obtendo bom desenvolvimento *in vitro* de gloxínia. Vários autores têm relatado a possibilidade de reduzir a concentração de sais do meio MS em diversas espécies, visando principalmente ao melhor desenvolvimento das plantas e redução nos custos (6, 8).

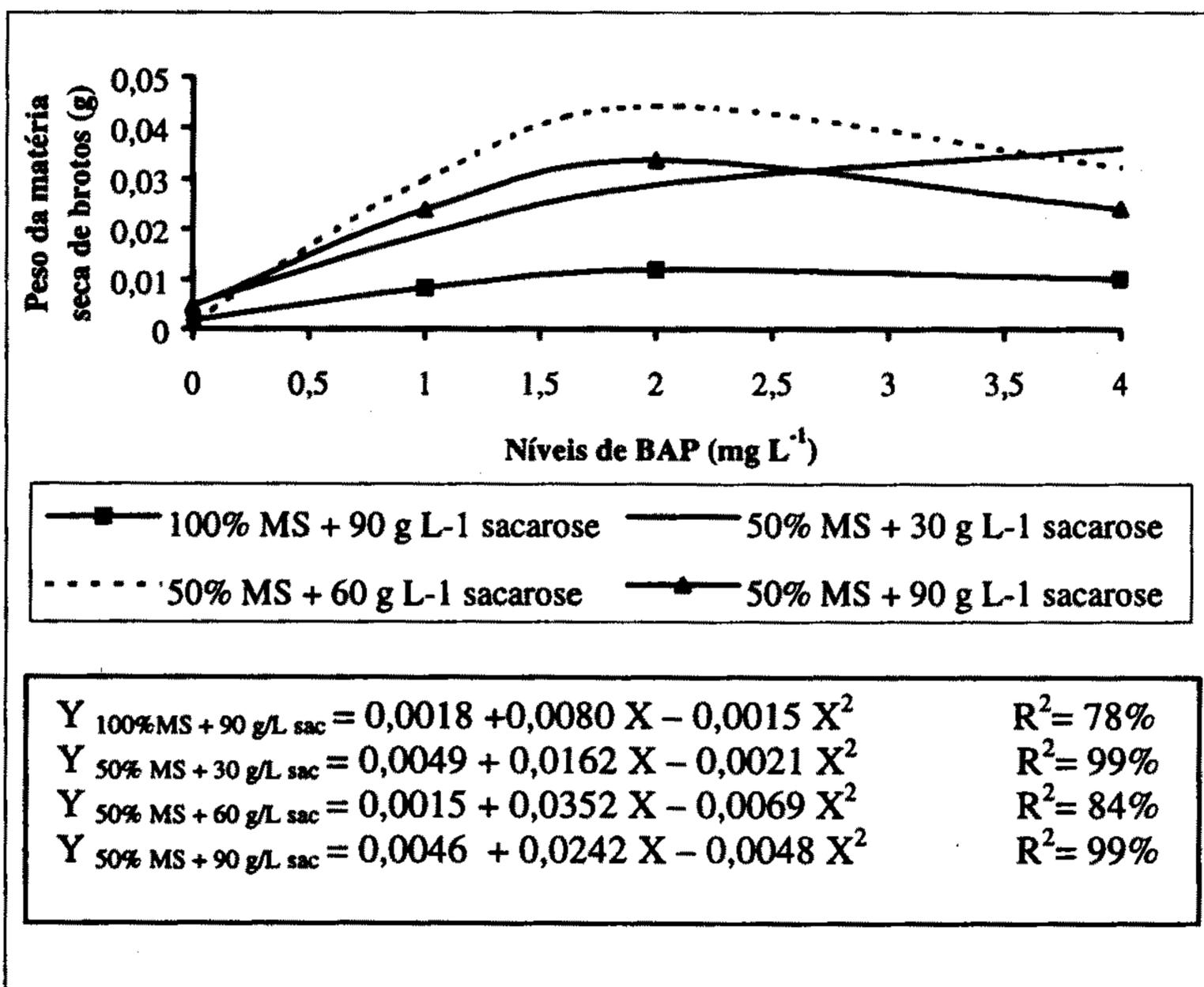


FIGURA 7 - Peso da matéria seca de brotos de brotações formadas em segmentos nodais de plântulas de gloxínia cultivados em meios com diferentes concentrações salinas de MS e distintos níveis de sacarose e BAP.

CONCLUSÕES

1) Há influência da concentração do meio MS, da sacarose e da BAP sobre o desenvolvimento *in vitro* de gloxínia.

2) Melhores resultados são obtidos em meio MS com 50% de sais minerais em todas as variáveis estudadas. A adição de 2 mg L⁻¹ de BAP proporciona maior número de folhas e brotos, e a de 2,55 mg L⁻¹, maior peso de plântulas secas. Verifica-se maior altura de brotos na ausência de BAP.

3) O nível de sacarose ideal é de 30 g L⁻¹, para número de folhas e de brotos, e de 60 g L⁻¹, para peso da matéria seca.

REFERÊNCIAS

1. DEBERGH, P. *In vitro* culture of ornamentals. In: Vasil, I.K. & Thorpe, T.A. (eds). Plant cell and tissue culture. Dordrecht, Kluwer Academic Publishers, 1994. p.561-73.

2. GEORGE, E.F. & SHERRINGTON, P.D. Plant propagation by tissue culture: handbook and directory of commercial laboratories. Eversley, Exegetics Limited, 1984. 593p.
3. HU, C.Y. & WANG, P.J. Meristem, shoot tip and bud cultures. In: Evans, D.A.; Sharp, W.R.; Ammirato, P.V. & Yamada, Y. (eds.). Handbook of plant cell culture-techniques for propagation and breeding. New York, MacMillan Publishing Company, 1983. v.1, p. 177-277.
4. KIMMINS, R.K. Gloxinias, African violets, and other gesneriads. In: Larson, R.A. (ed.). Introduction to Floriculture. San Diego, Academic Press, 1992. p. 289-303.
5. MURASHIGE, T. & SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, 15:473-97, 1962.
6. OLIVEIRA, P.D. Propagação *in vitro* de crisântemo (*Dendranthema grandiflora* Tzelev.) cv. Orange Reagen. Lavras, ESAL, 1994. 116p. (Dissertação de mestrado).
7. PAIVA, P.D.O.; MAYER, M.B.D.; CAMPOS, R.J.C.; RODRIGUES, V.A. & PASQUAL, M. Propagação *in vitro* de gloxínia. *Revista Brasileira de Horticultura Ornamental*, 3:29-41, 1997.
8. PASQUAL, M.; HOFFMANN, A. & RAMOS, J. D. Cultura de tecidos- Introdução: Fundamentos básicos. Lavras, UFLA/ FAEPE, 1998. 159 p.
9. PIERICK, R.L.M. *In vitro* culture of higher plants. Dordrecht, Martinus Nyhoff Publishers, 1987. 344p.
10. SILVA, A. B. da. Multiplicação *in vitro* e aclimatização de gloxínia (*Sinningia speciosa* Lodd. Hiern.). Lavras, UFLA, 2001. 59p. (Dissertação de mestrado).