

EFEITOS DO AIB E GA₃ NA MICROPROPAGAÇÃO DE *Zantedeschia aethiopica*

Márcia de Nazaré Oliveira Ribeiro¹
Moacir Pasqual²
Fabíola Villa³
Keline Sousa Albuquerque³

RESUMO

Com o objetivo de aprimorar técnicas de micropropagação para copo-de-leite, testaram-se diferentes concentrações de AIB e GA₃. Plântulas, com aproximadamente 1 cm de comprimento pré-estabelecidas *in vitro*, foram inoculadas em frascos com capacidade de 250 cm³, contendo 50 mL de meio MS. Os tratamentos foram constituídos de diferentes concentrações de AIB e GA₃ nas combinações possíveis. O meio foi acrescido de 30g L⁻¹ de sacarose, solidificado com 6 g L⁻¹ de ágar e o pH ajustado para 5,8 antes da autoclavagem a 121 °C e 1 atm, por 20 minutos. Posteriormente à inoculação, os frascos foram transferidos para sala de crescimento a 27 ± 1 °C, irradiância de 35 mmol.m⁻².s⁻¹ e fotoperíodo de 16 horas. Após 90 dias avaliou-se o comprimento da parte aérea, o comprimento das raízes, o número de brotos, de raízes e de folhas, o peso das raízes, o peso da biomassa fresca e seca das plântulas. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com quatro repetições de três plântulas cada, perfazendo um total de 12 plântulas por tratamento. É necessária a adição de 2 mg L⁻¹ de AIB ao meio MS para se obter maior número de brotos. Melhores resultados no comprimento e no número de raízes foram observados com 2 mg L⁻¹ de AIB associados a 1 mg L⁻¹ de GA₃.

Palavras-chave: Cultura de Tecidos, Reguladores de Crescimento, Meio de cultura MS.

ABSTRACT

EFFECT OF IBA AND GA₃ ON MICROPROPAGATION OF *ZANTEDESCHIA AETHIOPICA*

With the objective of improving micropropagation techniques for calla, different concentrations of IBA and GA₃ were tested. Seedlings with approximately 1 cm in length, pre-established *in vitro*, were inoculated in 250 cm³ bottles, containing 50 mL of MS culture medium. The treatments consisted of different concentrations of IBA and GA₃, in all possible combinations. The MS medium was supplemented with 30 g L⁻¹ of sucrose, solidified with 6 g L⁻¹ of agar, and the pH was adjusted to 5.8 before sterilization at 121 °C and 1 atm for 20 minutes. After inoculation, the bottles were transferred to a growth chamber and maintained at 27 ± 1 °C, 35 mmol.m⁻².s⁻¹ irradiance and 16 hour daylength. After 90 days, the length of the shoots and roots, the number of sprouts, roots and leaves, the fresh weight of the roots, and the dry and fresh biomass of the seedlings were evaluated. The experimental design was entirely randomized with four replications of three seedlings each, resulting in twelve plants per treatment. The highest number of sprouts was obtained with 2 mg L⁻¹ IBA. The best results for root length and number were observed with 2 mg L⁻¹ of IBA combined with 1 mg L⁻¹ of GA₃.

Key words: tissue culture, growth regulators, MS culture medium.

¹ Bolsista Capes, DAG/UFLA, Lavras, MG. E-mail: mribeiro@ufla.br

² Departamento de Agricultura (DAG)/UFLA. Cx. P. 37, Lavras, MG. E-mail: mpasqual@ufla.br

³ Bolsista Capes, DAG/UFLA, Lavras, MG. E-mail: fvilla2003@libero.it

INTRODUÇÃO

Atualmente, a floricultura é considerada um agronegócio, que se tornou visível devido à geração de um grau elevado de empregos diretos e indiretos, ao valor de sua produção e comercialização (Júnior *et al.*, 2005). É uma atividade competitiva, rentável, exigente em tecnologia e conhecimento técnico.

O cultivo de plantas ornamentais abrange, de modo geral, a floricultura, tanto flores para corte quanto para vasos, plantas envasadas, produção de sementes, bulbos e mudas de árvores. O mercado de flores e as exportações brasileiras desses produtos dobraram nos últimos 10 anos, e, no primeiro trimestre de 2005, as exportações de flores e plantas ornamentais atingiram 6,6 milhões de dólares, com tendência de aumento, podendo chegar a 28 milhões de dólares (Napoleão, 2005).

O gênero *Zantedeschia*, conhecido popularmente como 'arum ou calla lily', é nativo da África. Além da *Zantedeschia aethiopica* com flores brancas, existem seis outras espécies de *Zantedeschia* na África do Sul, com flores coloridas, cujos tons variam entre rosa, creme, amarelo e vinho (Chang *et al.*, 2003). Esta espécie pertence à família *Araceae* e é considerada como símbolo de pureza, sendo apreciada tanto como flor para corte quanto na composição de jardins; suas flores e folhagens são muito utilizadas em arranjos florais (Almeida & Paiva, 2004).

A cultura de tecidos pode ser usada para diferentes propósitos incluindo micropropagação, eliminação de viroses e doenças, isolamento e utilização de protoplasto, cultura de embrião, entre outros (Bridgen, 2003). A micropropagação tem sido aplicada, com grande sucesso e vantagem, na multiplicação de espécies que são de difícil propagação pelos métodos convencionais. Esta técnica permite a obtenção de um grande número de plantas em pequeno espaço e possibilita, ainda, a produção de mudas com alto padrão genético e fitossanitário (Pasqual, 2001).

Uma das peculiaridades da cultura de tecidos vegetais é a possibilidade de se controlar o crescimento e o desenvolvimento das plantas, o que é possível com o uso dos reguladores de crescimento adicionados ao meio de cultura, pois esses compostos direcionam o metabolismo do explante *in vitro* para o processo desejado.

Auxinas e giberelinas são classes de fitorreguladores. As auxinas estão envolvidas na regulação de vários processos fisiológicos como dominância apical, formação de raízes laterais e adventícias, abscisão foliar, desenvolvimento de gemas florais e do fruto, indução de diferenciação vascular (Taiz & Zeiger, 2004). Podem ser necessárias para complementar o teor endógeno ou suprir as necessidades de meristemas isolados, porém, em quantidades excessivas, estimulam a produção de calo. Em geral suas concentrações no meio de cultura variam de 0,01 a 10 mg L⁻¹. O ácido indolbutírico (AIB) é uma auxina muito eficaz para o enraizamento. Auxinas sozinhas ou associadas a citocininas, giberelinas, ABA e fenólicos mostram seus efeitos principalmente durante a indução e iniciação de raízes (Grattapaglia & Machado, 1998).

As giberelinas, na forma de ácido giberélico (GA₃), têm como efeitos principais o alongamento de partes aéreas e das brotações durante a multiplicação, ou, antes, do enraizamento. Porém, quando aplicado em concentrações relativamente elevadas, o GA₃ pode impedir a formação de raiz, especialmente se as auxinas forem aplicadas simultaneamente. A aplicação de ácido giberélico aumenta o número de hastes florais produzidas por tubérculos de *Zantedeschia* (Brooking & Cohen, 2002), previne a degradação de clorofila em folhas de *Zantedeschia* (Janowska & Jerzy, 2003) e afeta o crescimento e florescimento de *Philodendron* (Chen *et al.*, 2003).

Objetivou-se, neste trabalho, estudar a influência do AIB e do GA₃ no desenvolvimento *in vitro* de plântulas de copo-de-leite.

MATERIAL E METODOS

Plântulas com aproximadamente 1 cm de comprimento, pré-estabelecidas *in vitro*, foram inoculadas em frascos com capacidade de 250 cm³, contendo 50 mL de meio MS (Murashige & Skoog, 1962). Os tratamentos foram constituídos de diferentes concentrações de AIB (0; 0,5; 1; 2; e 4 mg L⁻¹) e GA₃ (0; 0,5; 1; 2; e 4 mg L⁻¹) nas combinações possíveis para as concentrações testadas. O meio foi acrescido de 30 g L⁻¹ de sacarose e solidificado com 6 g L⁻¹ de ágar; e o pH foi ajustado para 5,8 antes da autoclavagem a 121 °C e 1 atm por 20 minutos. Posteriormente à inoculação, os frascos

foram transferidos para sala de crescimento a $27 \pm 1\text{C}$, irradiância de $35 \text{ mmol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ e fotoperíodo de 16 horas diárias. Após 90 dias, avaliaram-se o comprimento da parte aérea, o comprimento das raízes, o número de brotos, de raízes e de folhas, o peso das raízes, peso da biomassa fresca e seca das plântulas.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com quatro repetições de três plântulas cada, totalizando doze plântulas por tratamento em esquema fatorial 5×5 . Os resultados foram submetidos à análise de variância, utilizando o software Sisvar (Ferreira, 2000), com regressão polinomial para concentrações de AIB e GA_3 .

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Houve interação significativa para número de folhas, maior número (1,78) foi observado em meio MS contendo 1 mg L^{-1} de AIB associado a 4 mg L^{-1} de GA_3 (Figura 1). Verificou-se também interação significativa para número de raízes, comprimento da parte aérea, das raízes, peso fresco e seco da parte aérea, a 5% de probabilidade.

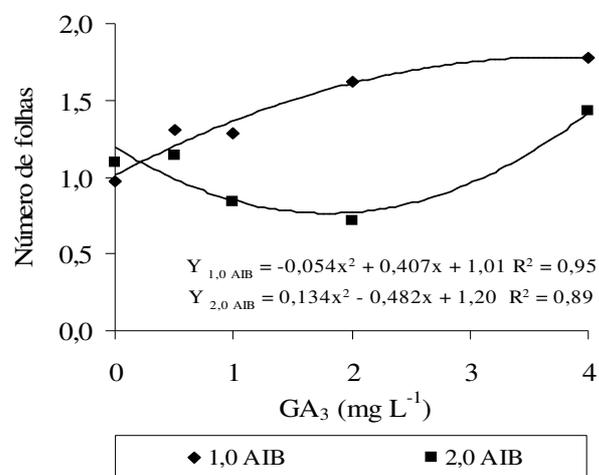


Figura 1. Número de folhas em plântulas de copo-de-leite, cultivadas em diferentes concentrações de AIB e GA_3 . UFLA, Lavras, 2005.

Com incrementos na concentração de giberelina, observou-se um aumento de forma quadrática no comprimento da parte aérea das plântulas de copo-de-leite (Figura 2). Independente das concentrações de AIB, maior crescimento em altura das plântulas foi observado quando se adicionou concentração crescente de GA_3 .

Segundo Grattapaglia & Machado (1998), o efeito mais conhecido das giberelinas *in vitro* é no alongamento das partes aéreas, quando estas não estão em condições de serem individualizadas para o enraizamento, devido ao seu pequeno tamanho, como foi o caso do copo-de-leite.

Quando foram utilizados 2 mg L^{-1} de AIB associados a 1 mg L^{-1} de GA_3 , observou-se comprimento de 3,61 cm sem, má formação de brotos. Brotações bem formadas e de maior tamanho proporcionam rápido crescimento das plântulas e diminuição no tempo de permanência no laboratório, otimizando assim a produção de mudas e reduzindo os custos.

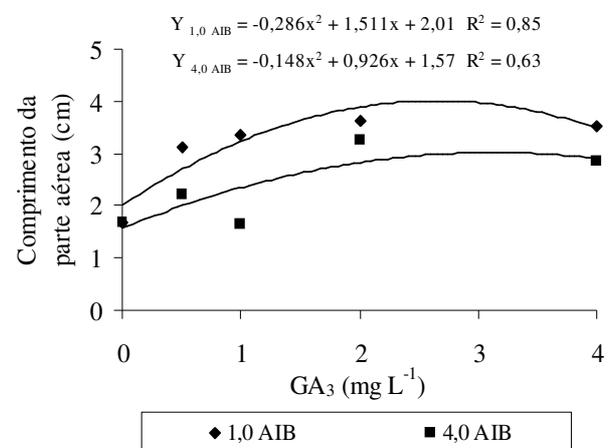


Figura 2. Comprimento da parte aérea em plântulas de copo-de-leite, cultivadas em diferentes concentrações de AIB e GA_3 . UFLA, Lavras, 2005

Mesmo na ausência do AIB, houve formação de brotos nas plântulas, porém, com o aumento das dosagens deste fitorregulador, observou-se queda no número de brotos, talvez pelo fato de altas dosagens serem tóxicas ao explante estudado. Maior número de brotos (1,43) foi obtido com 2 mg L^{-1} de AIB (Figura 3).

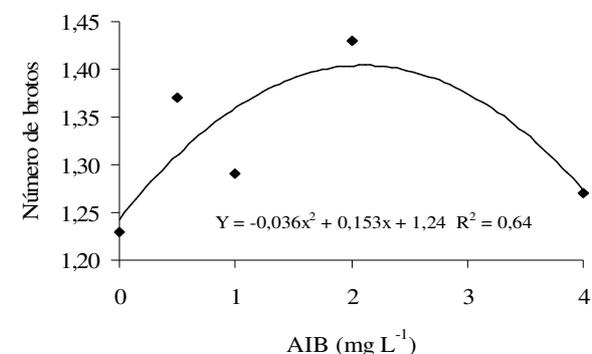


Figura 3. Número de brotos em plântulas de copo-de-leite cultivadas em diferentes concentrações de AIB. UFLA, Lavras, 2005.

Com relação ao enraizamento das plântulas, os resultados foram significativos tanto para comprimento quanto para número de raízes (Figuras 4A e 4B). Resultados antagônicos no comprimento de raízes foram observados com 1 e 2 mg L⁻¹ de AIB. Rai & Misra (2005), estudando a micropropagação de Karonda (*Carissa carandas*), observaram que o AIB sozinho, ou em todas as concentrações testadas, formou raízes finas e longas, e o melhor enraizamento aconteceu quando as auxinas foram combinadas.

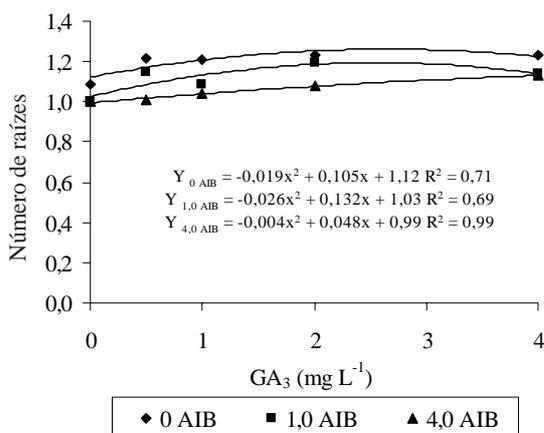


Figura 4A. Número de raízes em plântulas de copo-de-leite, cultivadas em diferentes concentrações de GA₃. UFLA, Lavras, 2005

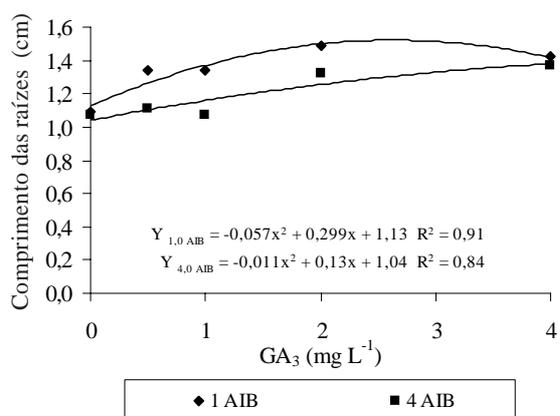


Figura 4B. Comprimento de raízes em plântulas de copo-de-leite cultivadas em diferentes concentrações de AIB. UFLA, Lavras, 2005

Na presença de altas concentrações de GA₃, não se verificou interação significativa com a auxina. Resultados antagônicos no comprimento de raízes foram observados com 1 e 2 mg L⁻¹ de AIB. Kochba *et al.* (1974) afirmam que a presença de ácido giberélico no meio de cultura proporciona a iniciação de uma zona meristemática radicular e/ou estimula o desenvolvimento da zona radicular. Todavia, quando aplicado em concentrações elevadas, impede a formação de raízes. Deccetti (2000) observou alto percentual de enraizamento e maior número de raízes em *Annona glabra* na ausência de GA₃.

Melhores resultados (4,53 cm) foram verificados com 1 mg L⁻¹ de AIB associado a 2 mg L⁻¹ de GA₃. Mello-Farias *et al.* (1996), estudando a micropropagação de porta-enxerto de pereira, obtiveram melhores resultados no enraizamento com a adição de 0,3 mg L⁻¹ de AIB ao meio de cultura MS. Entretanto, Stimart & Harbage (1989), trabalhando também com *Pyrus calleryana*, não conseguiram enraizamento com AIB, mesmo após dois anos de subculturas. Bhojwani *et al.* (1984), trabalhando com *Pyrus pyrifolia*, obtiveram cerca de 10% de brotos enraizados.

Maior peso de raízes frescas foi verificado em altas concentrações de AIB (2-4 mg L⁻¹) na ausência de GA₃ (Figura 5). Possivelmente houve um desbalanço hormonal que se intensificou com o aumento das concentrações de AIB. Na ausência deste fitorregulador, menor peso das raízes frescas (1,09 g) foi observado.

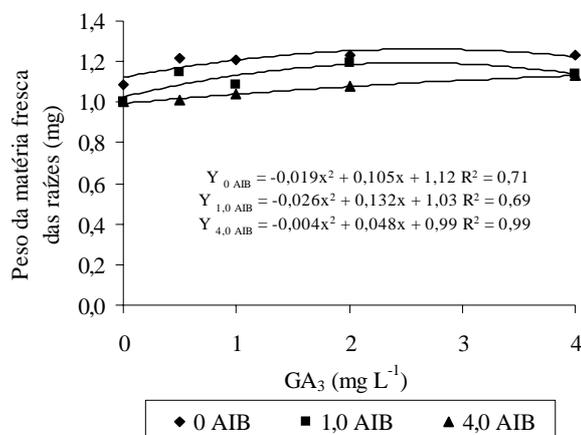


Figura 5. Peso da matéria fresca das raízes de plântulas de copo-de-leite cultivadas em diferentes concentrações de AIB e GA₃. UFLA, Lavras, 2005.

Com o aumento nas concentrações de GA_3 , foi observado um aumento, de forma quadrática, no peso da matéria fresca e seca da parte aérea (Figuras 6A e 6B). As altas dosagens deste fitoregulador foram tóxicas para o copo-de-leite.

Maior peso da matéria fresca e seca da parte aérea foi observado com as mesmas concentrações de reguladores, ou seja, 2 mg L^{-1} de AIB associados a 1 mg L^{-1} de GA_3 .

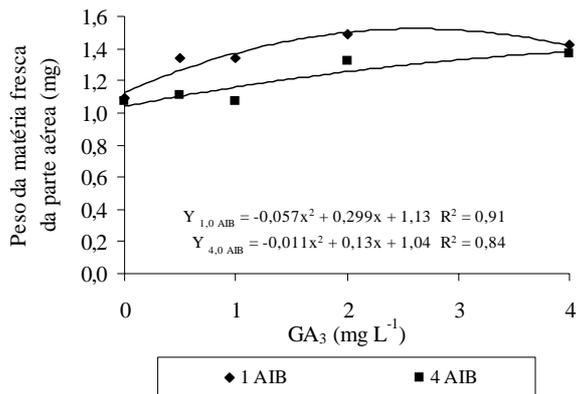


Figura 6A. Peso da matéria fresca da parte aérea de plântulas de copo-de-leite cultivadas em diferentes concentrações de AIB e GA_3 . UFLA, Lavras, 2005.

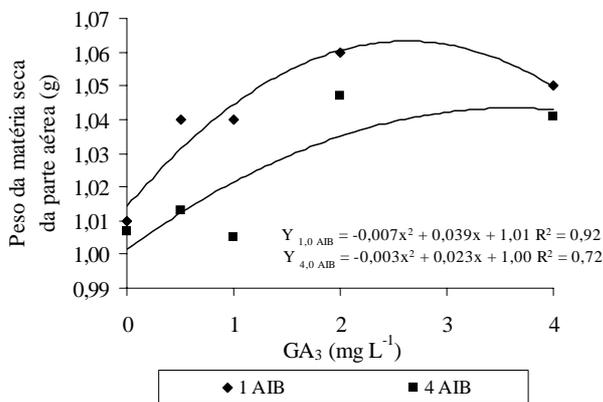


Figura 6B. Peso da matéria seca da parte aérea de plântulas de copo-de-leite cultivadas em diferentes concentrações de AIB e GA_3 . UFLA, Lavras, 2005.

CONCLUSÕES

É necessária a adição de 2 mg L^{-1} de AIB ao meio MS para se obter maior número de brotos.

Melhores resultados no comprimento e número de raízes foram observados com 2 mg L^{-1} de AIB associado a 1 mg L^{-1} de GA_3 .

REFERÊNCIAS

- Almeida EFA & Paiva PDO (2004) Floricultura 2 – Cultivo de copo-de-leite. Lavras, Editora UFLA. 28p. (Texto Acadêmico).
- Bhojwani SS, Mullins K & Cohen D (1984) *In vitro* propagation of *Pyrus pyrifolia*. Scientia Horticulturae 23:247-254.
- Bridgen M (2003) Micropropagation of ornamental plants. In: 1º Congresso Brasileiro de Cultura de Tecidos de Plantas, Lavras. Palestras, Lavras: UFLA. p. 13.
- Brooking IR & Cohen D (2002) Gibberellin-induced flowering in small tubers of *Zantedeschia Black Magic*. Scientia Horticulturae 95:63-67.
- Chang HS, Chakrabarty D, Hahn EJ & Paek KY (2003) Micropropagation of calla lily (*Zantedeschia albomaculata*) via *in vitro* shoot tip proliferation. *In vitro* cellular and development biology – plant 39:129-134.
- Chen J, Henny RJ, McConnell DB & Caldwell RD (2003) Gibberellic acid affects growth and flowering of *Philidendron*. Plant Growth Regulators 41:1-6.
- Deccetti SFC (2000) Propagação *in vitro* de *Annona glabra*. Dissertação de mestrado. Lavras, Universidade Federal de Lavras. 101p.
- Ferreira DF (2000) Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4.0. In: 45ª Reunião Anual da Região Brasileira da Sociedade Internacional de Biometria, São Carlos. Anais, São Carlos: UFSCar. p. 255-258.
- Grattapaglia D & Machado MA (1998) Micropropagação. In: Torres A, Caldas LS & Buso JA (Eds.) Cultura de tecidos e transformação genética de plantas. Brasília, EMBRAPA. p. 183-260.
- Janowska B & Jerzy M (2003) Effect of gibberellic acid on post-harvest leaf longevity of *Zantedeschia*

- elliottiana* (w. wats) engl. Journal fruit ornamental plant research 11:69-76.
- Júnior FLC, Paiva BM & Estanislau MLL (2005) Perspectivas para exportação de flores e plantas ornamentais. Informe Agropecuário 26:96-102.
- Kochba J, Button J, Spiegel-Roy P, Bornman CH. & Kochaba, M. (1974) Stimulation of rooting of citrus embryoids by gibberellic acids and adenine sulphate. Annals of Botany 38:795-802.
- Mello-Farias PC, Peters JA & Nakasu BH (1996) Micropropagação de porta-enxerto de Pereira, “Old Home” x “Farmingdale” 9. Revista Brasileira de Agrociência 2:1-8.
- Murashige T & Skoog FA (1962) A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiologia Plantarum 15:473-497.
- Napoleão BA (2005) Potencial das flores brasileiras e oportunidade para os produtores. Informe Agropecuário 26:3.
- Pasqual M (2001) Introdução: Fundamentos Básicos. Lavras, UFLA/FAEPE. 97p.
- Rai R & Misra KK (2005) Micropropagation of Karonda (*Carissa carandas*) through shoot multiplication. Scientia Horticulturae 103:227-232.
- Stimart DP & Harbage JF (1989) *In vitro* shoot proliferation of *Pyrus calleryana* from vegetative buds. HortScience 24:298-299.
- Taiz L & Zeiger E (2004) Fisiologia vegetal, 3 ed. Porto Alegre, Artmed. 719 p.