

Efeito do BAP e do GA₃ no desenvolvimento *in vitro* do híbrido *Cattleya labiata* x *C. granulosa* e *C. persivaliana*.

Paulino, Patricia Maria de Souza¹; Melo, Gemima Manço de¹; Souto, Nise de Fátima Coutinho²; Ulisses, Cláudia³; Willadino, Lília⁴; Camara, Terezinha Rangel⁵.

¹ Aluna de Licenciatura em Ciências Biológicas, Bolsista PIBIC/CNPq; Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), Rua Dom Manoel de Medeiros s/n, Bairro de Dois Irmãos, CEP 55296-190 Recife, Pernambuco, fone (81) 3320-6364, email: patriciaso_1@hotmail.com; gemimamelo81@yahoo.com.br. ² Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Botânica (UFRPE), email: nise_souto@hotmail.com; ³ Professora da Unidade Acadêmica de Garanhuns (UFRPE), Avenida Bom Pastor, s/n, CEP 55296-901, Garanhuns, Pernambuco, fone (87) 3761-0969, email: claudia@nlink.com.br; ⁴ Professora do Departamento de Biologia – Área de Botânica (UFRPE), email: lilia@truenet.com.br; ⁵ Professora do Departamento de Química – Área de Química Agrícola (UFRPE), email: tkrcamara@bol.com.br.

INTRODUÇÃO

O gênero *Cattleya* é o que mais se destaca no Brasil, na maioria das espécies, tanto pela coloração exuberante como pelo grande tamanho das flores (Palazzo Jr. e Both, 1993). No Brasil cultiva-se *Cattleya* híbridas, porque possuem flores já bem maiores que as das espécies nativas, e com as quais podemos ter flores escalonadas durante todo o ano (Silva, 1986).

As orquídeas são consideradas as mais antigas espécies ornamentais, sendo cultivadas tanto para produção de plantas de corte como de vaso (Sheehn, 1983; Farias & Illg, 1998; Fráguas *et al.*, 2003). No entanto, as plantas dessa família apresentam desenvolvimento muito lento, requerendo um maior período de cultivo antes de serem comercializadas. Isso tem contribuído para o elevado valor unitário de suas plantas no mercado. Assim sendo, existe grande interesse na diminuição do tempo de formação da muda de orquídea, principalmente, para a diminuição dos custos de produção.

A propagação dessa espécie pelo cultivo *in vitro* é uma alternativa para obtenção de um grande número de plantas, em curto espaço de tempo, garantindo uniformidade genética (Dublin, 1984) e qualidade fitossanitária do material. Esse tipo de propagação vem sendo utilizado, principalmente, para espécies de grande valor ornamental (Grattapaglia & Machado, 1998).

Um dos aspectos importantes na multiplicação *in vitro* é o tipo e a concentração do regulador de crescimento, ambos determinantes no sucesso da micropropagação (Grattapaglia & Machado, 1998).

Reguladores de crescimento em diferentes concentrações têm sido usados conforme a espécie. Podem ser necessários para a germinação de sementes, formação de calos, brotações adventícias, enraizamento, entre outros (Grattapaglia & Machado, 1998; Pasqual, 2001).

O regulador de crescimento BAP (6-benzilaminopurina) é uma citocinina largamente utilizada para estimular a indução de brotos em plantas cultivadas *in vitro*. Para a multiplicação *in vitro* do gênero *Cattleya*, a citocinina BAP, geralmente é utilizada nas concentrações que variam entre 0,05 e 10 mg L⁻¹ (Carvalho, 2002).

Enquanto que as geberelinas, dentre elas o ácido giberélico (GA₃) é um regulador de crescimento que atua nas plantas como estimulante de crescimento, promovendo um aumento de tamanho em consequência de sua ação na divisão e expansão celular. Em muitas espécies, a dominância apical das plantas acentua-se após as aplicações com o ácido giberélico (Cordeiro, 1979; Rossell, 1971; Taiz & Zeiger, 1998).

Um dos maiores entraves no processo de micropropagação de orquídeas está relacionado ao tempo necessário para a produção de mudas a partir de plantas híbridas selecionadas e a utilização do meio adequado para cada espécie. Diante disso, o presente trabalho, objetivou verificar a influência do BAP e do GA₃ no desenvolvimento *in vitro* do híbrido de orquídea *Cattleya labiata* x *C. granulosa* e *C. persivaliana*.

METODOLOGIA

O experimento foi conduzido no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais da UFRPE. Foi utilizado no experimento, híbrido de orquídeas (*Cattleya labiata* x *C. granulosa* e *C. persivaliana*). As plantas, que já se encontravam estabelecidas *in vitro*, foram selecionadas com $1\text{cm} \pm 0,5$ de comprimento e retiradas as raízes e posteriormente inoculadas. O meio utilizado foi o MS (Murashige & Skoog, 1962), adicionado de $0,1\text{ g.L}^{-1}$ de mio-inositol, 30 g.L^{-1} de sacarose e $5,8\text{ g.L}^{-1}$ de ágar. O pH do meio de cultura foi ajustado para 5,8 antes da inclusão do ágar e, posteriormente, autoclavado a 120°C e $1,5\text{atm}$ por 20 minutos. Foi adicionado ao meio diferentes concentrações de BAP (0, 1 e 2 mg.L^{-1}) combinados com diferentes concentrações GA_3 (0, 1 e 2 mg.L^{-1}) (Tabela 1). Foi distribuído em cada tubo de ensaio 10 mL de meio nutritivo. O experimento foi conduzido em sala de crescimento com temperatura de $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$, com fotoperíodo de 16 horas e intensidade luminosa de $50\text{ }\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com o fatorial de 3×3 , num total de nove tratamentos com cinco repetições por tratamento. A cada 20 dias, após a inoculação, foram realizadas as avaliações com relação à contaminação, oxidação, número de brotos e de raízes.

Tabela 1- Tratamentos relacionados com as combinações de BAP e GA_3 nas respectivas concentrações.

BAP (mg.L^{-1})			
GA_3 (mg.L^{-1})	0	1	2
0	T0	T1	T2
1	T3	T4	T5
2	T6	T7	T8

RESULTADOS E DISCUSSÃO

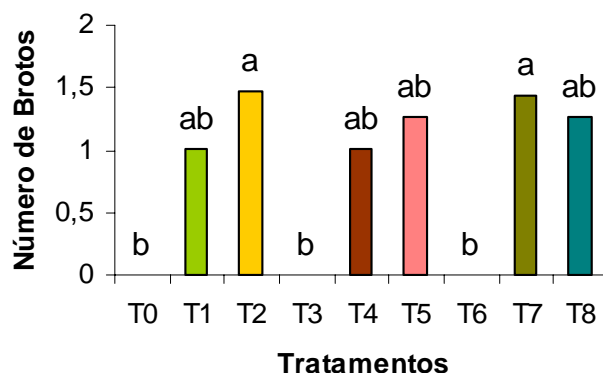
Aos 20 dias após a inoculação, todos os tratamentos apresentavam raízes e os tratamentos acrescidos de $2,0\text{ mg.L}^{-1}$ de BAP (T2, T5 e T8), independente da concentração de GA_3 , foram os que apresentavam brotos, entretanto o tratamento T2 se destacou com relação ao número de brotos, comparado com os tratamentos T5 e T8. Aos 40 dias os tratamentos T1, T4 e T7 acrescidos de $1,0\text{ mg.L}^{-1}$ de BAP mostravam a formação de alguns brotos. Nos tratamentos com ausência de BAP (T0, T3 e T6), independente da combinação com GA_3 (Figura 1) não formaram brotos, mostrando o efeito do BAP em proporcionar a brotação.

Em relação à altura das plantas foi observado aos 60 dias que as plantas cultivadas nos tratamentos com $2,0\text{ mg.L}^{-1}$ de GA_3 (T6, T7 e T8), apresentou maior comprimento, independente da presença de BAP. Segundo Grattapaglia & Machado (1998), o efeito mais conhecido das giberelinas *in vitro* é o alongamento das partes aéreas, esse efeito facilitará a individualização das plantas no transplântio para a aclimatização.

Nos tratamentos que combinavam GA_3 com BAP (T7 e T8) as plantas além de apresentarem um alongamento da parte aérea, também exibiam brotações. Pasqual *et al*, (1991) também observaram que a adição do GA_3 ao meio de cultivo, em combinação com

BAP e ANA, resultou num aumento significativo do número de brotos por gema na propagação de amoreira-preta.

As plantas do tratamento T4, aos 60 dias após a inoculação, apresentavam oxidação, necrose foliar e radicular. Decchetti (2000) relatou a ausência de brotações de *Annona glabra* quando cultivadas com GA₃, além da ocorrência de necrose apical e abscisão foliar.



Nota: Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Figura 1: Número de brotos obtidos do híbrido *Cattleya labiata* x *C. granulosa* e *C. persivaliana*, aos 40 dias de cultivo *in vitro* e submetidos aos seguintes tratamentos: T0= 0 mg.L⁻¹ de BAP+0 mg.L⁻¹ de GA₃; T1= ; 1 mg.L⁻¹ de BAP+0 mg.L⁻¹ de GA₃; T2= 2 mg.L⁻¹ de BAP+0 mg.L⁻¹ de GA₃; T3= 0 mg.L⁻¹ de BAP+1 mg.L⁻¹ de GA₃; T4= 1 mg.L⁻¹ de BAP+1 mg.L⁻¹ de GA₃; T5= 2 mg.L⁻¹ de BAP+1 mg.L⁻¹ de GA₃; T6= 0 mg.L⁻¹ de BAP+2 mg.L⁻¹ de GA₃; T7= 1 mg.L⁻¹ de BAP+2 mg.L⁻¹ de GA₃; T8= 2 mg.L⁻¹ de BAP+2 mg.L⁻¹ de GA₃.

CONCLUSÃO

O Meio MS suplementado com 2 mg.L⁻¹ de BAP proporcionou maior índice de formação de brotos, enquanto que o maior tamanho foi promovido pela adição de 2 mg.L⁻¹ de GA₃ no meio em plantas do híbrido *Cattleya labiata* x *C. granulosa* e *C. persivaliana*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CARVALHO, V. S. **Morfogêneses in vitro de orquídeas do grupo *Cattleya***. 2002. 179f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

CORDEIRO, J. A. D. **Crescimento, diferenciação e produção em plantas de sorgo granífero *Sorghum bicolor* (L.) Moench, tratadas com os ácidos giberélico-3 e a-naftalenoacético**. 1979. 50f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza.

DECCHETTI, S. F. C. **Propagação in vitro de *Annona glabra* L.** 2000. 101f. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.

FARIA, R. T.; ILLG, R. D. Orquídea: *Dendrobium nobile*. In: TOMBOLATO, A. F. C.; COSTA, M. M. **Micropropagação de plantas ornamentais**. Campinas: Instituto Agrônomo, 1998. p. 34-36. (boletim técnico, 174).

FRÁGUAS, C. B.; VILLA, F.; SOUZA, A. V.; PASQUAL, M.; DUTRA, L. F. Crescimento *in vitro* de plântulas de orquídeas oriundas da hibridação entre *Cattleya labiata* e *Laelia itambana*. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 50, n. 292, p. 719-726, 2003.

GRATTAPAGLIA, D.; MARCHADO, M. Micropropagação. In: TORRES, A. C. *et al.* **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: EMBRAPA/CNPQ, 1998. v. 1, p. 183-260.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A. A revised médium for rapid growth and bio assays with tabaco tissue cultures. **Physiologia plantarum**, Copenhagen, v. 15, n. 3, p. 473-497, 1962.

PALAZZO JR, J. T.; BOTH, M. C. **Flora ornamental brasileira**: Um guia para o paisagismo ecológico. Porto Alegre: Sacra, 1993, 183p.

PASQUAL, M. **Cultura de tecidos vegetais**: meios de cultura. Lavras: UFLA/FAEPE, 2001, 74p.

ROSSELL, C. E. V. Obtenção **de ácido giberélico por fermentação com *Gibberella fujikoro***. 1971. 127f. Dissertação (Mestrado em Ciências de Tecnologia de alimentos) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1971.

SHEEHAN, T. J. Recent advances in botany, propagation and physiology of orchids. **Horticultural Reviews**, New York, v. 5 n.1, p. 279-315, 1983.

SILVA, W. **Cultivo de orquídeas no Brasil**. São Paulo: Nobel, 1986.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Plant physiology**. 2. ed. Sunderland: Sinauer Associates, 1998. 792p.

PALAVRAS-CHAVES

Orchidaceae, regulador de crescimento, cultivo *in vitro*.