

Efeito de doses de BAP na multiplicação *in vitro* de *Zantedeschia cv Neroli* em recipientes plásticos.

Castro, Lívia Mendes ¹; Marques, Daniela Argollo²; Segeren, Monique Inês ³; Fonseca, Aline Segeren ⁴.

¹ Instituto Agronômico de Campinas (IAC), Divisão de Biologia Fitotécnica, Seção de Genética, Fazenda Santa Elisa – Campo Experimental, Recursos Genéticos Vegetais, liviamdecastro@yahoo.com.br ² Pesquisadora Científica da Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios (APTA) - Pólo Regional Centro Sul, Caixa Postal: 28 - CEP: 13400-970, e-mail: d.argollo@apta regional.sp.gov.br ³ Coordenadora Projeto PIPE – FAPESP (FASE II); ⁴ Laboratório ProClone Biotecnologia e Produção de Mudanças Matrizadas de Laboratório LTDA, Rua dos Girassóis, 70, Caixa Postal 157, CEP. 13.825-970 Holambra - SP, fone (19) 3802-1787, e-mail: proclone@proclone.com.br;

INTRODUÇÃO

A produção de flores se constitui num enorme potencial ao Agribusiness brasileiro. No entanto, para se ter acesso ao competitivo mercado de flores, é necessário vencer algumas barreiras. Uma das barreiras à expansão de algumas espécies ornamentais, como por exemplo, *Zantedeschia spp.*, é a deficiência na micropropagação de mudas saudáveis, com qualidade e produtividade, a um preço acessível.

Para o setor da Floricultura, a micropropagação ou propagação clonal *in vitro* é uma biotecnologia que vêm sendo amplamente empregada para um grande número de espécies. Isso porque este processo, principalmente quando iniciado a partir de cultura de ápices meristemáticos promove significativa limpeza de diversos patógenos, resultando em mudas de excepcional qualidade, além da uniformidade e manutenção da identidade genética dos híbridos de alto valor comercial clonados. No entanto, o alto custo do atual processo de micropropagação que vem sendo utilizado, prejudica a constância na entrega de volume de qualidade em quantidade, num determinado tempo (produtividade), impossibilitando assim, a atuação das biofábricas brasileiras em mercados maiores e mais lucrativos, inclusive no mercado de exportação. Este alto custo deve-se, principalmente, à produção por sistemas de autoclavagens artesanais, as quais demandam grandes consumos de energia elétrica e tempo e à falta de recipientes específicos (mais eficientes em trocas gasosas) em substituição aos vidros utilizados na autoclavagens.

O aumento da eficiência do processo produtivo também está relacionado à adequação do meio de cultura através da utilização de níveis ótimos de fitorreguladores vegetais para a micropropagação de uma determinada espécie ou variedade. As auxinas e as citocininas são as classes de reguladores de crescimento mais utilizadas na cultura de tecidos. A formação de raiz, parte aérea e calo em cultura de tecidos são regulados pela disponibilidade e interação destas duas classes de reguladores de crescimento (Skoog & Miller, 1957, citado por Caldas et al., 1990). Segundo Pasqual (2001), as citocininas abrangem uma classe de reguladores de crescimento que estimulam a síntese protéica. Por esta razão, elas podem promover a maturação de cloroplastos e atrasar a senescência das folhas destacadas. A aplicação de citocinina em um órgão da planta faz com que o órgão tratado se torne um centro de convergência de aminoácidos, que então migram para a região próxima. Adicionadas à cultura de brotações, estas substâncias reduzem a dominância apical e liberam gemas laterais da dormência. Possuem um efeito oposto ao da auxina endógena. As citocininas naturais 2-iP e zeatina, não são empregadas por laboratórios comerciais rotineiramente devido ao seu alto custo. Diversos análogos químicos de citocininas naturais têm sido isolados e são muito ativos como citocininas. As citocininas sintéticas mais comumente usadas em cultura de tecidos vegetais são Cinetina (6-furfurilamino-purina) e o BAP (6-benzilaminopurina). O BAP induz a formação de grandes números de brotos e alta taxa de multiplicação em sistemas de micropropagação (Hu & Wang, 1983, citado por Caldas et al, 1990). As concentrações de citocininas podem variar bastante em função da espécie e do tipo de explante. Concentrações da ordem de décimos de miligrama são mais comuns para o cultivo de ápices caulinares, enquanto que

segmentos nodais e ápices inteiros são submetidos a concentrações maiores (Grattapaglia & Machado, 1990).

O objetivo principal deste trabalho científico foi desenvolver e comparar protocolos específicos para micropropagação da cultivar comercial Neroli tolerante a bactéria *Erwinia carotovora* visando a otimização do processo produtivo para ganho de escala. Para tanto, foram utilizados dois tipos de sistemas de esterilização de meios de cultura: 1) pelo sistema tradicional usando autoclave e frascos de vidros como recipientes e 2) pelo novo sistema no qual o meio de cultura é esterilizado na máquina e distribuído em diferentes potes de plástico (“com respiro” e “sem respiro”) já esterilizados por plasma. Protocolos de esterilização dos explantes meristemáticos, método de isolamento destes explantes, composição nutricional e de fitoreguladores dos meios de cultura foram comparados visando demonstrar a eficiência de produção dentro destes dos dois sistemas propostos.

MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho foi realizado no Laboratório ProClone Biotecnologia e Produção de Mudanças Matrizadas. Os ápices meristemáticos da variedade Neroli desenvolvidos em meio MS (Murashige & Skoog, 1962) sem fitoreguladores foram transferidos para os diferentes recipientes contendo meio de multiplicação que consistiu do meio MS ¼ (Meio MS modificado para micropropagação de *Zantedeschia spp.*) acrescido das seguintes doses de BAP (0,0; 0,5; 1,0 e 1,5 mg.L⁻¹). Após 35 dias, o meio acrescido da dose ideal de BAP foi então distribuído em dois tipos de potes plásticos transparentes (PET): com filtro na tampa ou sem filtro na tampa. O respiro referido consiste em uma pequena abertura na tampa protegida por membrana millipore, a qual impede a passagem de patógenos, mas permite uma maior troca gasosa. Concomitantemente, para efeito de comparação, preparou-se, distribuiu-se e esterilizou-se o mesmo meio de cultura pelo processo de autoclavagem tradicional. Cada recipiente continha 20 explantes. Foi analisado o desenvolvimento dos explantes em cinco frascos com filtro e cinco frascos sem filtro e cinco frascos de vidro autoclavados. O desenvolvimento dos propágulos foi comparado através da análise dos seguintes parâmetros: número brotos, comprimento de brotos; número de raízes.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A dose ideal de BAP para a fase de multiplicação dos propágulos de *Zantedeschia* foi 1 mg.L⁻¹ (Tabela 1). Os brotos obtidos foram então colocados em meio MS acrescido de 1 mg.L⁻¹ de BAP distribuído nos diferentes potes PET: “com filtro na tampa” e “sem filtro na tampa”. Os propágulos mantidos nos potes “sem respiro” apresentaram estiolamento e menor taxa de multiplicação. Nos potes com respiro, a altura média dos propágulos obtidos foi de 4,0 ± 0,22 cm; o número médio de brotos obtidos foi de 2,3 ± 0,25 por explante e o número médio de raízes foi de 7,2 ± 0,31. Nos potes “sem respiro” a altura média dos propágulos obtidos foi de 6,0 ± 0,19; o número médio de brotos obtidos foi de 1,8 ± 0,23 por explante e o número médio de raízes foi de 6,1 ± 0,45. Propágulos desenvolvidos em frascos de vidro pelo sistema tradicional mostraram-se semelhantes aos propágulos mantidos em potes “sem respiro”: a altura média dos propágulos obtidos foi de 6,2 ± 0,36; o número médio de brotos obtidos foi de 1,9 ± 0,27 por explante e o número médio de raízes foi de 5,9 ± 0,23.

Tabela 1. Efeito de doses de BAP na multiplicação *in vitro* do cultivar Neroli de *Zantedeschia*: N° brotos (número de brotos por propágulo); N° raízes (Número de raízes por propágulo); N° folhas (número de folhas por broto).

BAP(mg/L)	N° brotos	N° raízes	N° folhas
0,0	1,8	6,0	4
0,5	2,1	6,1	5
1,0	2,3	6,2	5,1
1,5	2,4	5,9	5,9

CONCLUSÃO

A dose ideal de BAP para a micropropagação desta variedade de *Zantedeschia* foi de 1 mg.L⁻¹. Os potes adaptados com sistema de filtro Millipore permitiram uma maior troca de CO₂ e etileno com O₂ de dentro dos potes com o ar ambiente externo. Esta troca gasosa possibilitou às plantas um melhor desenvolvimento, melhorando assim, a produtividade do setor de micropropagação.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CALDAS,L.S.;HARIDASAN,P.; FERREIRA, M.E. Meios nutritivos. In. TORRES,A.C.;CALDAS,L.S. (eds.).**Técnicas e Aplicações da Cultura de Tecidos de Plantas**. Brasília: EMBRAPA/CNPH, 1990. 433 p.p.29-36.

GRATTAPAGLIA, D. ; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S. (eds.). **Técnicas e aplicações da cultura de tecidos de plantas**. Brasília: EMBRAPA/CNPH, p. 99 – 170. 1990. 433 p.

MURASHIGE, T. ; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth e bioassays with tobacco tissues cultures. **Physiologia Plantarum**, v.15, n.3, p.473-497, 1962.

PASQUAL, M. Meios de Cultura. In: PASQUAL, M. (ed.) **Curso de pós-graduação “lato sensu” (especialização) à distância cultura de tecidos vegetais: tecnologia e aplicações**. Lavras: UFLA/FAEPE, 2001. 74 p.

PALAVRAS-CHAVES

Zantedeschia spp.; micropropagação, fitorreguladores, Araceae.