

Eficiência da cinetina na propagação *in vitro* de *Rosa* sp.¹

Guedes, Rodrigo da Silva²; Costa, Frederico Henrique da Silva³; Maciel, Simone de Alencar⁴; Pereira, Jonny Everson Scherwinski⁵

¹Trabalho realizado com o apoio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq.

²Mestrando em Agronomia - Produção Vegetal, UFAC, Rio Branco, AC. E-mail: rodrigo78br@yahoo.com.br; ³Doutorando do Curso de Fitotecnia - UFLA, Bolsista CNPq, 37200-000 Lavras - MG; ⁴Bolsista PIBIC/CNPq do LABMOL Embrapa Acre; ⁵Pesquisador, Embrapa Acre, Laboratório de Morfogênese e Biologia Molecular – LABMOL, C.P. 321, 69.908-970 Rio Branco, AC. e-mail: jonny@cpafac.embrapa.br

INTRODUÇÃO

Conhecidas popularmente como as mais belas e populares representantes dentre as flores, as rosas são pertencentes à família Rosaceae Juss, compreendem o principal grupo de plantas hortícolas no mundo em termos de valor total de mercado (ESTABROOKS et al., 2007).

Rosas são geralmente multiplicadas vegetativamente por estaquia e gemas apicais. Porém este método de propagação convencional é muito lento, sendo um dos principais fatores limitantes, não assegurando plantas saudáveis e livres de doenças (ROY et al., 2004; PATI et al., 2006).

Os métodos de propagação *in vitro* são componentes essenciais para o manejo de recursos genéticos e estão se tornando cada vez mais importantes na conservação de espécies raras (BHATIA et al., 2002).

Diante disso, diversos estudos a respeito dos diferentes aspectos que envolvem a micropropagação de *Rosa hybrida* pela proliferação de gemas axilares têm sido abordados nos experimentos realizados por HORN, 1992; YAN et al. (1996), bem como na propagação e regeneração de plantas *in vitro* via calogênese e embriogênese somática (ROUT et al., 1999). A utilização de segmentos nodais como explante para a micropropagação é uma das maneiras de viabilizar a produção *in vitro* (OLIVEIRA, 1994).

Este trabalho objetivou avaliar a influência de diferentes concentrações de BAP e KIN conjugados com ANA nas taxas de multiplicação *in vitro* de *Rosa* sp. em épocas distintas de cultivo.

METODOLOGIA

O experimento foi desenvolvido no Laboratório de Morfogênese e Biologia Molecular - LABMOL da Embrapa Acre.

Como material vegetal utilizaram-se segmentos nodais com uma gema, de brotações de mini rosas já estabelecidas *in vitro*. O meio de cultivo foi constituído pelos sais e vitaminas de MS acrescidos de 30 g.L⁻¹ de sacarose, 100 mg.L⁻¹ de inositol, 6 g.L⁻¹ de ágar e 0,05 mg.L⁻¹ de ANA, com pH ajustado para ± 5,8 e autoclavado a 121 °C por 15 minutos em 1,3 atm de pressão. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, composto por diferentes concentrações de N⁶-benzilaminopurina (BAP) e Cinetina (KIN) (0; 4,5; 9,0; 13,5 e 18 µM) e 2 duas épocas de avaliação (40 e 90 dias). O experimento foi constituído por 4 repetições e cinco segmentos nodais por parcela, inoculados em frascos com capacidade de 250 mL, contendo 30 mL de meio de cultura MS. Os frascos foram mantidos em sala de crescimento com fotoperíodo de 16 horas, radiação luminosa de 30 µmol.m⁻².s⁻¹ e temperatura de 25 ± 2°C. Decorridos 40 e 90 dias da inoculação dos explantes, avaliaram-se os seguintes fatores: altura, taxa de multiplicação e número de folhas das brotações.

Os dados obtidos foram submetidos à análise estatística utilizando-se o programa SISVAR 5.0, sendo as médias comparadas pelo teste Scott-Knott a 5% de probabilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A indução de brotações *in vitro* ocorre pelo equilíbrio hormonal da planta ou induzido por uma concentração balanceada de reguladores de crescimento adicionada ao meio de cultura (CHAGAS et al. 2004). Neste trabalho, observaram-se diferenças significativas quando se comparou a influência das concentrações de BAP e KIN sobre a altura, taxa de multiplicação e número de folhas, sendo que a KIN proporcionou os melhores resultados (Tabela 1). De modo geral, independentemente da concentração de KIN utilizada (T5, T6, T7 e T8), constatou-se que os resultados, em média, foram significativamente superiores quando comparados às concentrações de BAP (T1, T2, T3 e T4) utilizadas, sendo o tratamento T5 foi o que proporcionou os melhores resultados.

Verificou-se que com o aumento das concentrações de BAP, houve diminuição da taxa de multiplicação e número de folhas. Porém, segundo Carelli & Echeverrigaray (2002), o número de brotações aumentou com o aumento da concentração de BAP no meio de cultura e foi mais significativo quando comparado ao uso de KIN.

Quando se avaliou o fator época, diferenças significativas foram encontradas na taxa de multiplicação e número de folhas, com 4,5 gemas e 2,6 folhas aos 40 dias e 6,2 gemas e 2,9 folhas aos 90 dias, respectivamente (Tabela 1). Resultados semelhantes foram obtidos por Chu et al., (1993) que verificaram a melhoria nas taxas de multiplicação em meio líquido com longos períodos de cultivo.

Verificou-se que além da baixa taxa de desenvolvimento dos segmentos nodais, nos tratamentos suplementados com BAP as brotações apresentaram um aspecto de hiperhidricidade, indicando, possivelmente superdosagens desta citocinina, como nos resultados alcançados por Dzazio et al. (2002), que observou sintomas de hiperhidricidade com o uso de altas concentrações de BAP em brotações do porta-enxerto de videira 420-A. Tal observação, só foi verificada nos tratamentos com BAP, provavelmente por esta citocinina ser mais ativa do que a KIN (GRAY and BENTON, 1991). A taxa de multiplicação das brotações de mini rosas em meio líquido entre 3 e 6 semanas foi maior quando se utilizou BAP nas concentrações de 17.8 e 26.6 μM . Porém, verificou-se intensa clorose nas brotações após a sexta semana de cultivo (CHU et al. 1993).

Resultados contrários foram obtidos por Hasegawa (1980) e Wulster & Sacalis (1980), onde o BAP foi essencial na multiplicação de gemas de cultivares de *Rosa hybrida*. Já nos estudos de Singh et al. (2003), uma média de 18 brotos foi obtida em meio MS contendo 1 mg.L^{-1} de BAP aos 23 dias de cultivo. Resultados divergentes foram obtidos por Kumar et al. (2001) que verificaram maior proliferação de brotações na presença de TDZ, quando comparado ao BAP.

CONCLUSÕES

A Cinetina proporciona resultados superiores na multiplicação *in vitro* de mini rosa, quando comparada ao BAP.

O cultivo prolongado de mini rosa até os 90 dias permite resultados superiores para taxa de multiplicação das gemas e no número de folhas.

Sintomas de hiperhidricidade são observados em mini rosa quando o BAP é utilizado como citocinina.

Meio de cultura desprovido de reguladores de crescimento são os mais indicados para a obtenção de plantas de mini rosa com maior altura e vigor.

TABELA 1. Influência dos reguladores de crescimento BAP e KIN sobre a altura (cm), taxa de multiplicação e número de folhas após 40 e 90 dias de cultivo.

Tratamentos*	Altura (cm)			Taxa de multiplicação			Nº de folhas		
			Médias			Médias			Médias
	40 dias	90 dias		40 dias	90 dias		40 dias	90 dias	
T0	1.0	1.4	1.2a	4.2	5.4	4.8b	2.6	2.9	2.8b
T1	0.8	1.0	0.9b	4.5	5.8	5.1b	2.7	3.2	2.9a
T2	0.7	0.9	0.8b	3.7	4.5	4.1b	2.5	2.7	2.6b
T3	1.9	0.7	1.3a	2.5	3.5	3.0c	2.0	2.4	2.2c
T4	0.5	0.6	0.5b	1.6	2.9	2.2c	1.7	2.0	1.9d
T5	1.3	1.6	1.5a	6.6	8.6	7.6a	3.1	3.2	3.2a
T6	1.3	1.7	1.5a	5.9	8.6	7.2a	3.1	3.1	3.1a
T7	1.2	1.7	1.4a	6.1	8.9	7.5a	3.1	2.8	3.0a
T8	0.9	1.4	1.1a	5.2	7.8	6.3a	2.8	2.7	2.7b
Média	1.1 A	1.2 A	1.1	4.5 B	6.2 A	5.3	2.6 B	2.9 A	2.7

Médias seguidas de letras distintas diferem entre si pelo teste de Scott-Knott (0,05).

* T0: sem regulador; T1: 4,5 µM BAP + 0,05 mg.L⁻¹ ANA; T2: 9,0 µM BAP + 0,05 mg.L⁻¹ ANA; T3: 13,5 µM BAP + 0,05 mg.L⁻¹ ANA; T4: 18,0 µM BAP + 0,05 mg.L⁻¹ ANA; T5: 4,5 µM KIN + 0,05 mg.L⁻¹ ANA; T6: 9,0 µM KIN + 0,05 mg.L⁻¹ ANA; T7: 13,5 µM KIN + 0,05 mg.L⁻¹ ANA; T8: 18,0 µM KIN + 0,05 mg.L⁻¹ ANA.

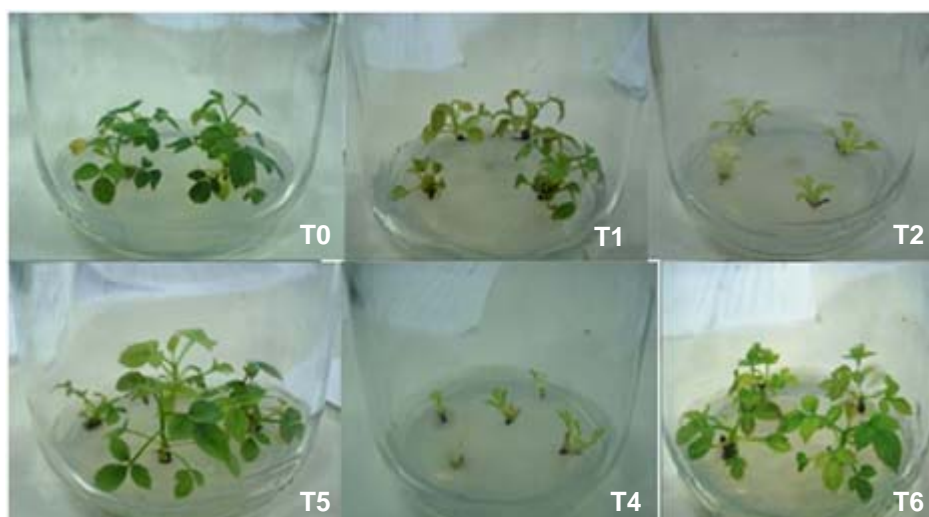


FIGURA 1. Aspecto geral da propagação *in vitro* de segmentos nodais de *Rosa* sp. Segmentos nodais cultivados sem regulador de crescimento (T0); Característica do desenvolvimento dos segmentos nodais cultivados em meio contendo 4,5, 9,0 e 18 µM de BAP (T1, T2 e T4) e KIN (T5 e T6).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BHATIA, P.; BHATIA, N. P. and ASHWATH, N. *In vitro* propagation of *Stackhousia tryonii* Bailey (Stackhousiaceae): a rare and serpentine-endemic species of central Queensland, Australia. **Biodiversity and Conservation**. 11: 1469-1477. 2002.
- CARELLI, B. P.; ECHEVERRIGARAY, S. An improved system for the in vitro propagation of rose cultivars. **Scientia Horticulturae** 92. 69-74, 2002.
- CHAGAS, E. A.; FRÁGUAS, C. B.; SILVA, E. F.; PASQUAL, M.; MENDONÇA, V. Multiplicação *in vitro* de crisântemo cv. White Polaris. **Revista Brasileira Agrociência**. V. 10, n. 1, p. 123-126, 2004.
- CHU, C. Y.; KNIGHT, S. L.; SMITH, M. A. L. Effect of liquid culture on the growth and development of miniature rose (*Rosa chinensis* Jacq. 'Minima'). **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**. V. 32, n.3. 329-334, 1993.
- DZAZIO, P. M.; BIASI, L. A.; ZANETTE, F. Micropropagação do porta-enxerto de videira 420-A. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 24, n. 3, p. 759-764, 2002.

- ESTABROOKS, T.; BROWNE, R. and DONG, Z. 2,4,5-Trichlorophenoxyacetic acid promotes somatic embryogenesis in the rose cultivar 'Livin Easy' (*Rosa sp.*) **Plant Cell Report**. 26: 153-160. 2007.
- GRAY, D.J.; BENTON, C. M. 1991. *In vitro* micropropagation and plant establishment of muscadine grape cultivars (*Vitis rotundifolia*). **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, 27(1):7-14.
- HASEGAWA, P. M. Factors affecting shoot and root initiation from cultured rose shoot tips. **J. Am. Soc. Hort. Sci.** 105, 216-220. 1980.
- HORN, W. A. H.; SCHLEGEL, G.; LERSTUHL, K. J. Micropropagation of roses (*Rosa hybrida*) **Acta Horticulturae**. 226, 623-627. 1992.
- KUMAR, A.; SOOD, A.; PALNI, U. T.; GUPTA, A. K.; PALNI, L. M. S. Micropropagation of *Rosa damascena* Mill. From mature bushes using thidiazuron. **Then Journal of Horticultural Science and Biotechnology**. Volume 76, number 1. pp. 30-34(5). 2001.
- OLIVEIRA, P.D. **Propagação "in vitro" de crisântemo (*Dendranthema grandiflora* Tzelev) cv. Orange Reagen**. Lavras, 1994. 116p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia), Universidade Federal de Lavras.
- PATI, P. K.; RATH, S. P.; SHARMA, M.; SOOD, A.; AHUJA, P. S. In vitro propagation of rose – a review. **Biotechnology Advances**. 24, 94-114. 2006.
- ROUT, G. R.; SAMANTARAY, S. MOTTLEY, J. and DAS, P. Biotechnology of the rose: a review of recent progress. **Scientia Horticulturae**, v.81, 201-228. 1999.
- ROY, K. R.; MAMUM, A. N. K. and AHMED, G. *In vitro* plantlets regeneration of rose. **Plant Tissue Culture** v.14, n. 2, 149-154, 2004.
- SINGH, A. K. and DUBEY, A. K. *In vitro* regeneration of miniature rose (*Rosa chinensis*) **Journal of Ornamental Horticulture (New Series)**, v.6., n.3., p.234-238, 2003.
- WULSTER, G. and SACALIS, L. Effects of auxins and cytokinins on ethylene evolution and growth of rose callus tissue in sealed vessels. **Horticulturae Science**, v.15, 736-737 1980.
- YAN, M.; BYRNE, D. H.; JING, C. Propagation of rose species in vitro. **In Vitro cellular and Developmental Biology – Plant**, v.32, n.2, 103-108. 1996.

PALAVRAS-CHAVE: *Rosa sp.*; citocininas; propagação clonal; hiperhidricidade.