

MULTIPLICAÇÃO IN VITRO DE CRAVO

NISCHA MAENO SILVA¹, RAÍSA LEMOS PEDROTTI¹; DAIANE BENEMANN²

¹Estagiários da empresa BioPlant Tech, incubada na Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS- nischamaeno@gmail.com; raisapedrotti@hotmail.com

²Sócia proprietária da empresa BioPlant Tech, incubada na Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS- daiane_bio@yahoo.com.br

1. INTRODUÇÃO

O cravo (*Dianthus caryophyllus* L.) é uma das espécies ornamentais mais cultivadas pela beleza de suas flores, e possui um grande valor comercial como flor de corte (PRALHAD, 2009). Os diversos tipos cultivados, são produtos de métodos avançados de melhoramento e formam um grupo de plantas de grande importância para os horticultores (PEIXOTO, 1998).

Os sistemas de produção de plantas ornamentais evoluíram muito. É uma atividade extremamente competitiva que exige tecnologias e conhecimento avançado para uma eficiente comercialização (PASQUAL et al., 2008). A produção de plantas ornamentais a partir de técnicas de cultivo in vitro é uma alternativa viável, pois resulta na obtenção de um grande número de plantas com qualidade genética em curto espaço de tempo, fornecendo aos produtores de flores e plantas ornamentais a aquisição de mudas com qualidade comprovada (PASQUAL et al., 2008).

A micropropagação é uma técnica que permite propagar um elevado número de plantas de genótipos selecionados, em área física bastante reduzida, se comparada com os métodos convencionais. Além disso, possibilita a obtenção de plantas com maior sanidade, vigor e tamanho padronizado permitindo um manejo mais adequado do cultivo (SOUZA et al., 2007). As citocininas constituem a classe de reguladores de crescimento mais utilizada na fase de multiplicação da micropropagação, pelo seu efeito na quebra da dominância apical e na indução da proliferação de gemas axilares. Das citocininas comercialmente disponíveis, o BAP (6-benzilaminopurina) é a que, em geral, apresenta melhores resultados in vitro para promover a multiplicação de diversas espécies, sendo utilizada em aproximadamente 60% dos meios de cultivo (GRATTAPAGLIA; MACHADO, 1998). De acordo com PERES (2002), o efeito diferencial dos vários tipos de citocininas, quando aplicados ao meio de cultura, pode estar relacionado ao fato de cada um deles interferir de modo particular no metabolismo hormonal endógeno.

Com o intuito de cultivar espécies de cravo in vitro, este trabalho objetivou estabelecer um sistema de multiplicação in vitro do cravo (*Dianthus caryophyllus* L.), utilizando diferentes concentrações de BAP.

2. METODOLOGIA

O presente estudo foi desenvolvido na empresa BioPlant Tech, incubada na Conectar (Incubadora de base tecnológica da Universidade Federal de Pelotas). A empresa realiza seus trabalhos no laboratório de cultura de tecidos de Plantas,

pertencente ao Departamento de Botânica, UFPEL.

Para a indução de multibrotações *in vitro*, utilizaram-se como explantes, segmentos nodais isolados de plântulas de cravo germinadas *in vitro*, com 40 dias de idade. O meio nutritivo utilizado foi o MS, suplementado com 6-benzilaminopurina (BAP) nas concentrações de 0 (tratamento A); 0,25 (tratamento B); 0,50 (tratamento C) e 1,00 (tratamento D) mg/L^{-1} . Foram adicionados também 3% (p/v) de sacarose, 0,7 (p/v) de ágar e o pH ajustado para $\pm 5,8$ antes da autoclavagem. Em seguida, os meios foram distribuídos em frascos e autoclavados durante 20 minutos a uma temperatura de 121°C. Os frascos contendo os explantes foram mantidos em sala de crescimento com temperatura controlada de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, densidade de fluxo de fôtons de $40 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, provida por lâmpadas fluorescentes branca-fria e fotoperíodo de 16 horas.

O delineamento experimental utilizado para testar o efeito do BAP, foi inteiramente casualizado, com dez repetições, sendo que cada repetição continha 5 explantes, totalizando 50 explantes por tratamento. A comparação entre as médias dos tratamentos foi realizada pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade de erro, através do programa Winstat (MACHADO; CONCEIÇÃO, 2002). Os dados analisados foram: número médio de brotos por explante, comprimento dos brotos (cm) e número médio de brotos com raiz.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Segmentos nodais de plântulas obtidas *in vitro*, foram usados como explantes para multiplicação do material. Conforme, pode ser observado na tabela 1, o regulador de crescimento BAP, na concentração de $1,0 \text{ mgL}^{-1}$ (Figura 1D), mostrou ser mais efetivo na formação de brotações com 12,26 brotos/explante, quando comparado com os demais tratamentos, diferindo estatisticamente (Figura 1).

ARAÚJO et al. (2004), em trabalho desenvolvido com gloxínia, obtiveram 3,5 brotos por explante ao utilizarem $2,25 \text{ mgL}^{-1}$ de BAP em meio MS contendo 50% de sais. Este número é menor que o obtido no presente estudo. Supõe-se que, este resultado tenha sido talvez, influenciado pela concentração dos sais minerais e pela espécie estudada.

Segundo ZAERR; MAPES (1985), o BAP é a citocinina mais potente para promover a multiplicação de partes aéreas e indução de gemas adventícias e é também economicamente mais viável por apresentar o menor custo. Segundo TORRES et al. (2001) o uso de citocininas estimula maior produção de parte aérea através do aumento da massa fresca, número de gemas e folhas, porém o contrário é obtido com a utilização de concentrações mais elevadas, acima da ótima para a multiplicação da espécie em estudo. Observou-se que com o aumento da concentração de BAP, ocorreu um aumento da média do comprimento das brotações, não ocorrendo diferença estatística entre os tratamentos C e D (9,54 e 8,53, respectivamente), porém na ausência da citocinina e na concentração de $0,25 \text{ mgL}^{-1}$, as médias foram menores, não ocorrendo diferença estatística entre si (Tabela 1).

Foi observado enraizamento das plantas em todos os tratamentos, constatando que o acréscimo de citocininas não danificaram o desenvolvimento radicular. Os tratamentos não diferiram estatisticamente entre si em relação ao número de raízes (Tabela 1). JULIANI et al. (1999), na propagação *in vitro* de

Lippia junelliana (Verbenácea) utilizando brotos apicais e segmentos nodais, constataram que o enraizamento dos brotos foi maior (100%) em meio MS completo, porém sem regulador de crescimento. Em *Notacactus magnificus*, utilizando-se o meio MS suplementado com oito concentrações de BAP e ANA, observou-se que o maior número de brotos ocorreu em meio MS suplementado de 22,2 $\mu\text{mol/L}$ de BAP (MEDEIROS *et al.*, 2006). Constatou-se, ainda, que o enraizamento dos brotos ocorreu na presença de meio MS sem a adição de reguladores e que somente as plântulas enraizadas *in vitro* apresentaram desenvolvimento normal no cultivo em casa de vegetação.

Foi observado nesse trabalho que todas as brotações apresentaram uma leve hiperidridicidade, portanto será necessário mais estudos, a fim de buscar um protocolo de meio de cultivo que não ocorra essa desordem morfológica e fisiológica. Segundo HAZARIKA, 2006, plantas hiperídricas podem não sobreviver ao transplante para o solo na aclimatização, porque possuem menor teor de massa seca que as normais e são menos lignificadas, dentre outros fatores. Sendo assim, esse fenômeno pode causar perdas significativas no processo de propagação *in vitro*, inviabilizando cultivos comerciais de produção de mudas.

Tabela 1. Efeito do BAP sobre o número médio de brotos/explante, comprimento dos brotos e número de raízes em brotações de cravo (*Dianthus caryophyllus* L.).

Tratamentos	Média de brotos/explantes	Média do comprimento dos brotos	Média do número de raízes
A	4,54 C	6,00 C	1,84 A
B	4,72 BC	6,77 BC	1,62 A
C	7,50 B	9,54 A	1,76 A
D	12,26 A	8,53 AB	1,38 A

As médias seguidas de mesma letra maiúscula, nas colunas, não diferem entre si pelo teste de Tukey, ao nível de 5%.



Figura 1. Brotações de cravo (*Dianthus caryophyllus* L.) obtidas *in vitro* nos diferentes tratamentos: A- 0 mgL^{-1} de BAP, B- 0,25 mgL^{-1} de BAP, C- 0,50 mgL^{-1} de BAP e D- 1,00 mgL^{-1} de BAP.

4. CONCLUSÕES

De acordo com os dados analisados, pode-se concluir que a citocinina BAP na concentração de 1,0 mgL^{-1} foi a mais eficiente para a multiplicação de cravo.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARAÚJO, A.G.; FIORINI, C.V.A.; PASQUAL, M.; SILVA, A.B. da.; VILLA, F. Multiplicação in vitro de gloxínia (*Sinningia speciosa* Lodd. Hiern.). **Revista Ceres**, 51 (293): 117-127, 2004.

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L.S.; BUSO, J. A. **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília, DF: Embrapa- SPI; Embrapa-CNPH, 1998. v. 1, p. 183-260.

HAZARIKA, B.N. Morpho-physiological disorders *in vitro* culture of plants. **Scientia Horticulturae**, v. 108, n. 2, p. 105-120, 2006.

JULIANI, J.R.; KOROCH, A.R.; JULIANI, H.R.; TRIPPI, V.S. Micropropagation of *Lippia junelliana* (Mold.) Tronc. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, 49:175-179, 1999.

MACHADO, A., CONCEIÇÃO, A.R. **Programa estatístico WinStat – Sistema de Análise Estatístico para Windows** - versão 2.0. Pelotas, 2002.

MEDEIROS, L.A.; RIBEIRO, C.S.; GALLO, L.A.; OLIVEIRA, E.T.; DEMATTÊ, M.E.S.P. In vitro propagation of *Notocactus magnificus*. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, 84:165-169, 2006.

PASQUAL, M.; SANTOS, F.C.; FIGUEIREDO, M.A. de.; JUNQUEIRA, K.P.; REZENDE, J.C. de.; FERREIRA, E.A. Micropropagação do abacaxizeiro ornamental. **Horticultura brasileira**, v. 26, n. 1, jan.-mar, 2008.

PEIXOTO, A.M. FERRAZ, F.; REICHARD, K.; SOUZA, J.S.I. de. **Enciclopédia agrícola brasileira**. São Paulo: Editora da Universidade de São Paulo, v 2. 1998, 630p.

PERES, L.E.P. As bases fisiológicas e genéticas da regeneração de plantas in vitro: um conhecimento útil para o desenvolvimento de protocolos biotecnológicos. **Revista Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, Brasília, n.25, p.44-48, 2002.

PRALHAD, G. **Evaluation of carnation (*Dianthus caryophyllus* L.) varieties under greenhouse condition**. 2009. M.Sc. Thesis, Dept. Horti., Univ. Agri. SCI., Dharwad.

SOUZA, F.S. de.; TOZI, T.S de.; MELIS, V.V.; ROSSOLEM, C.A. Resposta do algodoeiro submetido a reguladores de crescimento em função da lavagem por chuva simulada. In: **VI Congresso Brasileiro do Algodão**. UNESP: Botucatu, 2007.

TORRES, A.C.; BARBOSA, N.V. dos R.; WILLADINO, L.; GUERRA, M.G.; FERREIRA, C.F.; PAIVA, S.A.V. Meios e condições de incubação para a cultura de tecidos de plantas: Formulações de meios para a cultura de tecidos de plantas. **Circular Técnica** nº24. Embrapa, Brasília, p.1-20, 2001.

ZAERR, J.B.; MAPES, M.O. Action of growth regulators. In: Bonga, J.M.; Durzan, D.J. (Eds.). **Tissue culture in forestry**. Dordrecht: Martinus Nijhoff Pub. p.231-255, 1985.