

MULTIPLICAÇÃO IN VITRO DE ROSA

ALESSA ROTH DA SILVA¹, GUILHERME DA SILVA SILVEIRA²; DAIANE DE PINHO BENEMANN³

¹Estagiária da empresa BioPlant Tech, Pelotas, RS - alessaroth@hotmail.com

²Técnico de laboratório da empresa BioPlant Tech, Pelotas, RS -
guilhermesilvasilveira2015@gmail.com

³Sócia proprietária da empresa BioPlant Tech, Pelotas, RS - daiane_bio@yahoo.com.br

1. INTRODUÇÃO

A propagação *in vitro* ou micropropagação visa à rápida multiplicação e produção de plantas, em quantidade e qualidade superiores àquelas obtidas pelos métodos convencionais, e, consequentemente, com custos de produção reduzidos (STANCATO et al., 2001).

Outra vantagem do cultivo *in vitro* é a compatibilização de demandas específicas do mercado interno e do externo com atributos importantes como época de floração, coloração, tamanho e forma das flores, número de flores por planta, tamanho e vigor das plantas (KERBAUY, 1997), além da possibilidade de se amenizar problemas de dormência de rizomas no inverno, estresses ambientais, transmissão de doenças e ataque de pragas comuns em sistemas de propagação vegetativa, proporcionando a garantia da qualidade e da homogeneidade do produto final (STANCATO et al., 2001), em larga escala, em curto período e espaços reduzidos (BRAGA; SÁ, 2001).

O sucesso dos protocolos de micropropagação depende da taxa e do modo de multiplicação dos brotos. Os parâmetros como espécie, sais inorgânicos e componentes orgânicos, genótipo e composição do meio afetam a multiplicação dos brotos. Além disso, o papel de fatores físicos como temperatura e luz também são importantes (PATI et al., 2005).

As plantas ornamentais são, por excelência, o grupo de plantas em que a aplicação da micropropagação teve uma expressão significativa no mundo científico e tecnológico, com repercussão direta na economia. O incentivo para esse crescimento, fundamenta-se no alto valor agregado ao produto final (CAPELLADES-QUERALT et al., 1993). Neste contexto, inclui-se a rosa; uma flor de corte de grande importância na floricultura comercial, por ser um dos componentes principais na confecção de arranjos.

Atualmente, a propagação de rosas (*Rosaceae*) é normalmente realizada por meio de poda em nível comercial; no entanto, outros métodos, como germinação e enxertia, também podem ser usados. No entanto, todas essas abordagens são trabalhosas e demoradas, pois requer uma boa infraestrutura como casa de vegetação, assepsia no manejo do material vegetativo, além de ser um processo demorado. As baixas taxas de multiplicação, bem como a influência de fatores climáticos, são limitações significativas para a expansão convencional (PATI et al., 2006). Por outro lado, a cultura de tecidos tornou-se uma alternativa para a multiplicação dessa espécie (KHOSRAVI et al., 2007).

Portanto, o estudo atual foi planejado para desenvolver um método eficaz de multiplicação *in vitro* para rosas. O estabelecimento de um protocolo para a produção de um grande número de brotos a partir de explantes nodais de rosas em

condições controladas, se faz necessário. Esta pesquisa é de grande importância para a multiplicação comercial desta espécie.

O experimento teve como objetivo obter um protocolo de multiplicação de rosa.

2. METODOLOGIA

O presente estudo foi desenvolvido na empresa BioPlant Tech, situada na cidade de Pelotas, RS.

Para a indução de multibrotações in vitro, utilizaram-se como explantes, segmentos nodais isolados de plântulas de rosa germinadas in vitro, com 60 dias de idade. O meio nutritivo utilizado foi o MS, suplementado com 6-benzilaminopurina (BAP) nas concentrações de 0 (tratamento A); 0,5 (tratamento B); 1,0 (tratamento C) e 1,50 mg/L⁻¹ (tratamento D). 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 fótons 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 SISVAR (FERREIRA et al., 2011). Os dados analisados foram: número médio de brotos por explante, comprimento médio dos brotos (cm) e número médio de folhas e de entrenós.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram utilizados para multiplicação do material, segmentos nodais de plântulas obtidas in vitro.

Em relação ao número de brotos por explante, pode-se observar, com base na tabela 1, uma ascensão até o tratamento C (1,0 mg L⁻¹), o qual apresentou maior efetividade. Visto que, os brotos manifestaram em média 2,09 explantes, e no tratamento D (1,5 mg L⁻¹), observa-se que o número de explantes por broto decresce para 1,22. Conforme FERMINO JÚNIOR; PEREIRA (2012), o número de brotações de *Amburana acreana* apresentou-se ascendente com o aumento na concentração de BAP até atingir o ponto máximo com consecutivo decréscimo devido ao aumento da concentração da citocinina.

O tratamento com melhor resultado em relação ao comprimento dos brotos (tabela 1), foi o tratamento D (1,5 mg L⁻¹), visto que a média em centímetros dos brotos foi 0,76, enquanto o tratamento C (1,0 mg L⁻¹) apresentou média de 0,63.

De acordo com a tabela 1, a ausência do regulador de crescimento BAP em meio MS (tratamento A) difere do restante no número médio de folhas (8,90), de modo que o tratamento D apresentou a maior média (14,59).

Segundo (POZO et al., 2005), as citocininas são reguladores de crescimento que exercem importante papel na micropropagação, pois influenciam diretamente a expansão foliar, a quebra da dominância apical e a formação de gemas adventícias.

Entre as citocininas, a 6-benzilaminopurina (BAP) tem sido a mais indicada para promover a proliferação de partes aéreas e indução de gemas adventícias in vitro (GRATTAPAGLIA; MACHADO, 1998).

Observou-se que os tratamentos não diferiram estatisticamente entre si em relação ao número de entrenós. Constatando que as concentrações de BAP utilizadas, não interferem na quantidade de entrenós formados da rosa.

Tabela 1. Efeito do BAP sobre o número médio de brotos por explante, comprimento médio dos brotos (cm) e número médio de folhas e de entrenós.

Tratamentos	Número de brotos por explante	Comprimento do broto	Número de folhas	Entrenós
0 mg L ⁻¹	0,86 A	0,50 A	8,90 A	1,36 A
0,5 mg L ⁻¹	1,60 B	0,67 AB	13,40 B	1,45 A
1,0 mg L ⁻¹	2,09 C	0,63 AB	12,40 B	1,31 A
1,5 mg L ⁻¹	1,22 AB	0,76 B	14,59 B	1,71 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 rosa, obtidas in vitro nos diferentes tratamentos: A- 0 mg L⁻¹; B- 0,5 mg L⁻¹; C- 1,0 mg L⁻¹ e D- 1,5 mg L⁻¹ de BAP.

4. CONCLUSÕES

Conforme os dados obtidos, constata-se que o meio MS com adição de 1,0 mg L⁻¹ e 1,5 mg L⁻¹ BAP foram os mais eficientes para a multiplicação in vitro de rosa.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BEZERRA, R. M. F.; ALOUFA, M. A. I.; FREIRE, F. A. M.; SANTOS, D. D. Efeito de 6-benzilaminopurina sobre a propagação in vitro de *Mimosa caesalpinifolia* Benth. (Fabaceae). **Revista Árvore**, [S.L.], v. 38, n. 5, p. 771-778, 2014.

- BRAGA, M. F.; SÁ, M. E. L.; MUSTAFÁ, P. C. Avaliação de um protocolo para multiplicação in vitro de bananeira (*Musa sp.*) cv. Caipira (AAA). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 23, n. 2, p. 215-219, 2001.
- CAPELLADES-QUERALT, M.M.; BERUTO, A. VANDERSCHAEGHE, P.C. Ornamentals. In DEBERGH, P.C.; ZIMMERMAN, R.H. (Eds.) **Micropropagation: Technology and Application**. Kluwer Academic Publishers, London, 1993. p. 215-230.
- FERMINO JUNIOR, P. C. P.; PEREIRA, J. E. S. Germinação e propagação in vitro de Cerejeira (*Amburana acreana* (ducke) a.c. Smith - Fabaceae). **Ciência Florestal**, v.22, n.1, p.1-9, 2012.
- FERREIRA, A.; FURTADO, D. **Sisvar: a computer statistical analysis system**, Ciência e Agrotecnologia (UFLA), v. 35, n.6, p. 1039-1042, 2011.
- GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. (Ed.). **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: Embrapa-SPI/Embrapa CNPH, p.183-260, 1998.
- KERBAUY, G. B. Clonagem de plantas in vitro. **Revista Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento**, v. 1, n. 1, p. 30-33, 1997.
- Khosravi P, Kermani MJ, Nematzadeh GA, Bihamta MR. A protocol for mass production of *Rosa hybrida* cv. Iceberg through *in vitro* propagation. **Iranian Journal of Biotechnology**, v. 5, n. 2, p. 100- 104, 2007.
- MUNIZ, M. F. B.; SILVA, L. M.; BLUME, E. Influência da assepsia e do substrato na qualidade de sementes e mudas de espécies florestais. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 29, n.1, p. 140-146, 2007.
- PATI P.K.; RATH S. P.; SHARMA M.; SOOD A.; AHUJA P.S. *In vitro* propagation of rose. A review. **Biotechnology Advances**, v. 24, n. 1, p. 94-114, 2006.
- PATI P.K.; SHARMA M.; AHUJA P.S. Micropropagation, protoplast culture and its implications in the improvement of scented rose. **Acta Horticulture**, p. 147-158, 2005.
- POZO, J. C. D. et al. Hormonal control of the plant cell cycle. **Biologia Plantarum**, v. 123, p. 173-183, 2005.
- SINCLAIR, T. R.; GARDNER, F.P. Principles of Ecology in plant production. **CAB International**, New York, p. 1-17, 1998.
- STANCATO, G. C.; BEMELMANS, P. F.; VEGRO, C. L. R. Produção de mudas de orquídeas a partir de sementes in vitro e sua viabilidade econômica: estudo de caso. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, v. 7, n. 1, p. 25-33, 2001.