

## **Organogênese *in vitro* do híbrido de orquídea *Brassavola flagellaris* x *Cattleya harrisoniana* a partir de segmentos internodais.**

Nascimento, Márcio Gil de Andrade<sup>1</sup>; Damasceno, Candice Ferreira de Brito<sup>1</sup>; Vicente, Maria Alice Argôlo<sup>2</sup>; Costa, Maria Angélica Pereira de Carvalho<sup>3</sup>; Almeida, Weliton Antonio Bastos de<sup>3</sup>.

<sup>1</sup>Mestre em Ciências Agrárias da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia - UFRB, Caixa Postal 81, CEP 44.380-000, Cruz das Almas, Bahia, fone (75) 3621-2002, email: marciogilandrade@yahoo.com.br; candicebrito@yahoo.com.br; <sup>2</sup>Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias (UFRB-BA), Bolsista CAPES, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas, CEP 44.380-000, Cruz das Almas, Bahia, fone (75) 3621-2002, email: aliceargola@yahoo.com.br; <sup>3</sup>Professor Adjunto Dr<sup>o</sup>. do Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas - UFRB, Caixa Postal 81, CEP 44380-000, Cruz das Almas, Bahia, fone (75) 3621-1220, e-mail: mapcosta@ufba.br; weliton@ufba.br.

### **INTRODUÇÃO**

O híbrido de *B. flagellaris* x *C. harrisoniana* possui beleza extraordinária e tem ótima aceitação comercial. Esse híbrido possui uma floração antecipada e necessita de menos luminosidade que o gênero *Brassavola*.

A maior parte dos experimentos de micropropagação de orquídeas utiliza o meristema apical ou o ápice caulinar da planta mãe ou dos novos brotos. A utilização de outros explantes surgiu no intuito de diversificar as opções, tendo em vista que o número de meristemas apicais em cada planta é limitado. Desta forma, outros tipos de explantes surgem como alternativas para superar essas limitações (FRÁGUAS et al., 1999).

A adição de reguladores vegetais no meio nutritivo tem como objetivo suprir as possíveis deficiências dos teores endógenos de hormônios nos explantes que são isolados da planta matriz, bem como estimular o alongamento ou multiplicação da parte aérea. Tombolato e Costa (1998) mostraram que as dificuldades de desenvolvimento de um protocolo adequado para cada espécie vegetal está relacionada com as fontes de explantes vegetais e os meios nutritivos.

O objetivo deste trabalho foi avaliar a taxa de multiplicação e responsividade de diferentes explantes não meristemáticos a diferentes concentrações de BAP e condições de luminosidade do híbrido de orquídea *B. flagellaris* x *C. harrisoniana*.

### **MATERIAL E MÉTODOS**

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Cultura de Tecidos de Plantas, do Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia.

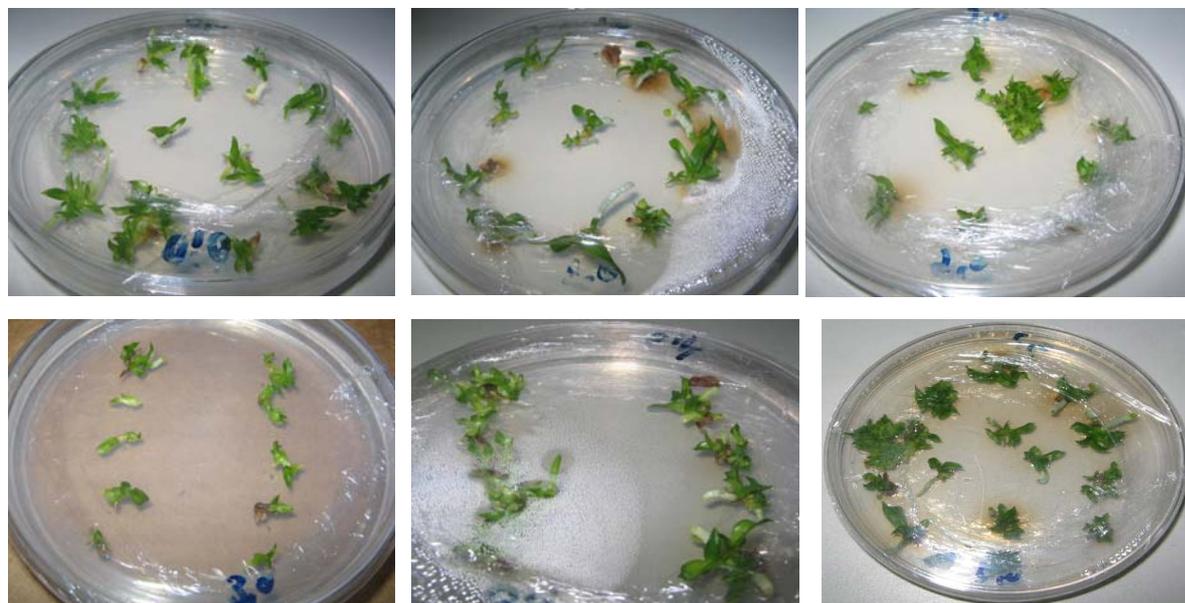
Para fonte de explantes foram utilizadas plantas do híbrido de orquídea *B. flagellaris* x *C. harrisoniana* germinadas *in vitro*. Os explantes foram cultivados em placas de petri contendo 20 mL de meio de cultura MT (Murashige & Tucker, 1969), acrescidos de 25 g L<sup>-1</sup> de sacarose, solidificado com agar (0,8%) e suplementado com concentrações de BAP. O pH foi ajustado em 5,8 antes da autoclavagem a 127 °C durante 20 minutos.

Segmentos internodais com ± 1 cm de comprimento foram introduzidos em meio MT suplementado com BAP (0; 1,0; 2,0; 3,0; 4,0; 5,0 mg L<sup>-1</sup>) e cultivados em câmara de crescimento sob condições de temperatura de 27 ±2 °C, densidade de fluxo de fótons de 22 mE.m<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup> e com fotoperíodo de 16 horas durante 60 dias. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, com 6 tratamentos, com 5 repetições, sendo cada repetição constituída de uma placa de Petri contendo 10 segmentos. Os dados obtidos foram analisados estatisticamente através da análise de variância.

### **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Os segmentos internodais promoveram o surgimento de brotações adventícias em todos os tratamentos (Figura 1). O maior número de explantes responsivos (92%) e número de brotos (2,38) ocorreu no tratamento com 4,0 mgL<sup>-1</sup> de BAP, porém nenhum dos

tratamentos diferiu estatisticamente (Tabela 1). Apesar do número de brotos ter sido maior no tratamento com 4,0 mgL<sup>-1</sup> de BAP, o tratamento sem regulador de crescimento iniciou a emissão de brotações adventícias primeiramente e obteve um melhor crescimento das mesmas. Assim, para este híbrido de orquídea o nível endógeno de citocinina mostrou-se suficiente para a formação de brotações adventícias.



**Figura 1:** Brotações adventícias a partir de segmentos internodais do híbrido de orquídea *B. flagellaris* x *C. harrisoniana* em diferentes concentrações de BAP. a) Testemunha (sem regulador vegetal); b) Brotações obtidas com 1,0 mgL<sup>-1</sup> BAP; c) Brotações obtidas com 2,0 mgL<sup>-1</sup> BAP; d) Brotações obtidas com 3,0 mgL<sup>-1</sup> BAP; e) Brotações obtidas com 4,0 mgL<sup>-1</sup> BAP; f) Brotações obtidas com 5,0 mgL<sup>-1</sup> BAP.

**Tabela 1.** Explantes responsivos e número de brotos/explantes do híbrido de orquídea *B. flagellaris* x *C. harrisoniana* em função da concentração de BAP (mgL<sup>-1</sup>)

Concentração de BAP (mgL <sup>-1</sup> )	Explantes Responsivos (%)	Nº brotos/explante
0,0	74a	1,65a
1,0	72a	1,98a
2,0	72a	2,02a
3,0	84a	2,04a
4,0	92a	2,38a
5,0	70a	1,65a

Médias seguidas da mesma letra na vertical não diferem significativamente no teste F a 5% de probabilidade.

Estes resultados concordam com os encontrados por (ARAÚJO, 2004) que, trabalhando com híbridos de orquídea *Bc* 'Pastoral' x *Lc* 'Amber Glow' obteve maior número de brotos (3,4) utilizando meio MS combinado com 4,0 mgL<sup>-1</sup> de BAP, no entanto não houve diferença significativa pelo teste F entre os tratamentos. Silva (2003), trabalhando com a mesma espécie, porém com meio Knudson C também não verificou diferença significativa no uso do BAP.

Avaliando a organogênese *in vitro* de segmentos de epicótilo de laranja 'Pêra' introduzidos em meio de cultura MT e suplementado com concentrações de BAP (0; 1,0; 2,0; 3,0; 4,0 mgL<sup>-1</sup>), verificou-se que na ausência do regulador se obteve a maior porcentagem de explantes responsivos, porém não diferiu estatisticamente dos tratamentos 1,0 e 2,0 mgL<sup>-1</sup> (MOURA et al., 2001). O efeito do BAP na organogênese *in vitro* de tangerina 'Cleópatra' foi prejudicial, já que foi observado que o maior percentual de explantes responsivos ocorreu na ausência de BAP em fotoperíodo de 16 horas e que com a adição do regulador reduzia a responsividade (SILVA et al., 2005).

Na micropropagação de gengibre utilizando como explantes gemas rizomatosas introduzidas em meio de cultura MS e combinações de BAP e/ou ANA, também verificou-se que o meio MS sem a adição de reguladores de crescimento proporcionou melhores resultados (DEBIASI et al., 2004).

Neste trabalho, pode se verificar que na concentração de 5,0 mgL<sup>-1</sup> de BAP começou a ocorrer uma redução na resposta e provavelmente doses acima delas, irão continuar causando efeito inibitório. De acordo com Guevara (1987), existe uma concentração máxima para que se tenha uma resposta satisfatória no desenvolvimento de brotos, acima da qual há um efeito inibitório, provavelmente devido à fitotoxidez causada pelo regulador vegetal. Isto já foi comprovado em alguns trabalhos por (BIASI et al., 2000) com *Passiflora edulis* f. *flavicarpa*, (SILVA et al., 2005) com *Citrus reshni* Hort. ex Tan., dentre outros. Provavelmente, altos índices exógenos de BAP, interagindo com o nível endógeno de citocinina, tenham dificultado a desdiferenciação, bem como a determinação celular, influenciando negativamente na proliferação de gemas adventícias.

O uso do BAP também apresentou efeito inibitório na multiplicação de calos e no potencial organogênico da orquídea *Gongora quinquenervis* (MARTINI, 2001).

Utilizando segmentos internodais na organogênese *in vitro* de maracujá amarelo variando concentrações de BAP, (BIASI et al., 2000) verificaram que concentrações acima de 2,0 mgL<sup>-1</sup> de BAP eram prejudiciais ao desenvolvimento das gemas.

Em alguns trabalhos de organogênese tem se verificado que a concentração ótima tem variado dentre outros fatores com a espécie, cultivar e explante utilizado e, conhecendo essa concentração, tem se averiguado que doses superiores causam diminuição na resposta organogenética.

## CONCLUSÃO

Os segmentos internodais são recomendáveis para a organogênese *in vitro* deste híbrido sem a adição do regulador de crescimento BAP.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARAÚJO, A. G. **Crescimento *in vitro* e aclimatização de plântulas de orquídea**. 2004. 73 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras-MG, 2004.

BIASI, L. A. et al. Organogenesis from internodal segments of yellow passion fruit. **Scientia Agrícola**. Piracicaba, v. 57, n. 4, p. 661-665, 2000.

DEBIASI, C.; FELTRIN, F.; MICHELUZZI, F. C. Micropropagação de gengibre (*Zingiber officinale*). **Revista Brasileira de Agrociência**. v. 10, n. 1, p. 61-65, jan.-mar., 2004.

FRÁGUAS, C. B. et al. **Propagação *in vitro* de espécies ornamentais**. Lavras: Editora UFLA, 1999. (Boletim técnico).

GUEVARA, E. B. Reguladores de crescimento. In: **II Curso de cultivo de tecidos**. [S.l.]: Turrialba, 1987. p. 58-79.

MARTINI, P. C. Propagação de *Gongora quinquenervis* via sementeira *in vitro* e organogênese indireta. **Revista ABCTP**, Recife, n. 40, p. 8, ago. 2001.

MOURA, T. L. de M. et al. Organogênese *in vitro* de cítrus em função de concentrações de BAP e seccionamento do explante. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.23, n.2, p.240-245, ago., 2001.

MURASHIGE, T.; TUCKER, D. P. H. Growth factor requirement of citrus tissue culture. In: INTERNACIONAL CITRUS SYMPOSIUM, 1, 1969, Riverside. **Proceedings** Riverside: University of California, 1969. v. 3, p. 1155-1169.

SILVA, E. F. **Multiplicação e crescimento *in vitro* de orquídea *Brassocattleya Pastoral* x *Laeliocattleya Amber Glow***. 2003. 60f. Dissertação (Mestrado em Fitotcna) – Universidade Federal de Lavras, Lavras – MG, 2003.

SILVA, R. P. et al. Otimização de protocolos para regeneração *in vitro* de tangerina 'Cleópatra' (*Citrus reshni* Hort. Ex. Tan.). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 27, n. 3, dez. 2005.

TOMBOLATO, A. F. C.; COSTA, A. M. M. **Micropropagação de plantas ornamentais**. Campinas: IAC, 1998. 72 p. (IAC. Boletim técnico, 174).

PALAVRAS-CHAVES

*Brassavola flagellaris*; *Cattleya harrisoniana*; Orquidaceae; cultivo *in vitro*; gemas adventícias.