



**MULTIPLICAÇÃO *IN VITRO* E
ACLIAMATIZAÇÃO DE GLOXÍNIA
(*Sinningia speciosa* Lodd. Hiern.)**

ADRIANO BORTOLOTTI DA SILVA

2001

52401
MFN-37185

ADRIANO BORTOLOTTI DA SILVA

**MULTIPLICAÇÃO *IN VITRO* E ACLIMATIZAÇÃO DE
GLOXÍNIA (*Sinningia speciosa* Lodd. Hiern.)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Agronomia, área de concentração em Fitotecnia, para obtenção do título de "Mestre".

Orientador
Prof. Dr. Moacir Pasqual

LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL
2001

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da
Biblioteca Central da UFLA**

Silva, Adriano Bortolotti

Multiplicação *In vitro* e aclimatização de gloxínia (*Sinningia speciosa* Lodd.
Hiern.). Lavras: UFLA, 2001.

59 p. : il.

Orientador: Moseir Pasqual.

Dissertação (Mestrado) – UFLA.

Bibliografia.

I. Planta ornamental. 2. Gloxínia. 3. Micropropagação. 4. Aclimação. I.
Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD-635.93381

ADRIANO BORTOLOTTI DA SILVA

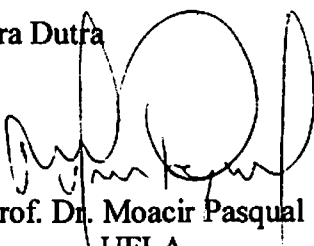
**MULTIPLICAÇÃO *IN VITRO* E ACLIMATIZAÇÃO DE
GLOXÍNIA (*Sinningea speciosa* Lodd. Hiern.)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Agronomia, área de concentração em Fitotecnia, para obtenção do título de “Mestre”.

APROVADA em 30 de julho de 2001

Profa. Dra. Patrícia Duarte de Oliveira Paiva UFLA

Pesq. Dr. Leonardo Ferreira Dutra UFLA



Prof. Dr. Moacir Pasqual
UFLA
(Orientador)

**LAVRAS
MINAS GERAIS – BRASIL**

Aos meus pais, Alaor (*In memorian*) e Maria Helena,

pelo exemplo de coragem e pelo carinho eterno,

Ao meu irmão, André Luiz,

meu melhor amigo.

DEDICO

Às minhas tias, Nair, Val, Rosa, Ninha (*In memorian*) e Biluca,

À minha avó, Maria (*In memorian*),

Aos amigos

OFEREÇO

AGRADECIMENTOS

A Deus, por guiar meus passos e iluminar meu caminho.

À Universidade Federal de Lavras - UFLA, pela oportunidade da realização deste curso de pós-graduação.

À Coordenadoria de Aperfeiçoamento e Pesquisa do Ensino Superior - CAPES, pela concessão da bolsa de estudos durante a realização do curso.

Ao professor Moacir Pasqual pela amizade, orientação e ensinamentos importantes para a minha formação profissional e pessoal.

Aos professores Nilton Nagib Chalfun, José Darlan Ramos e Márcio Ribeiro do Vale pela amizade e ensinamentos.

A Anna Lygia de Rezende Maciel, pelo convívio e amizade infinita.

Aos amigos e colegas do curso de Fitotecnia, em especial a Graziella Brum, Fábio Dias (Fabinho), Maria Aparecida (Dona Cida), Elda Bonilha, André e Marcelo Calegari, pelo companheirismo em todos os momentos.

Aos meus amigos Vantuil e Antonio Claret, Funcionários do Laboratório de Cultura de Tecidos da UFLA, pelo o convívio e ensinamentos.

À minha família.

Enfim, a todos aqueles que contribuíram de alguma forma para realização deste trabalho.

MUITO OBRIGADO!

SUMÁRIO

	Página
RESUMO.....	i
ABSTRACT.....	ii
CAPÍTULO 1	1
1 Introdução Geral.....	1
2 Referencial Teórico.....	2
2.1 Aspectos gerais da cultura.....	2
2.2 Micropropagação de plantas ornamentais.....	3
2.3 Meios de cultura e reguladores de crescimento.....	5
2.4 Aclimatização de plantas obtidas por micropropagação.....	6
3 Metodologia Geral.....	9
4 Referências Bibliográficas.....	11
CAPÍTULO 2: Efeito de diferentes concentrações de BAP e GA ₃ na multiplicação <i>in vitro</i> de gloxínia (<i>Sinningea speciosa</i> Lodd. Hiern.).....	16
1 Resumo.....	16
2 Abstract	17
3 Introdução	18
4 Material Métodos.....	20
5 Resultados e Discussão.....	20
6 Conclusões.....	29
7 Referências Bibliográficas	30
CAPÍTULO 3: Efeito de diferentes concentrações de BAP e substratos na aclimatização de plântulas de gloxínia (<i>Sinningea speciosa</i> Lodd. Hiern.) provenientes de cultura de tecidos	33
1 Resumo	33
2 Abstract	34

3 Introdução	35
4 Material Métodos	37
5 Resultados e Discussão	38
6 Conclusões.....	43
7 Referências Bibliográficas	44
CAPÍTULO 4: Influência de diferentes substratos na aclimatização de plântulas de gloxínia (<i>Sinningea speciosa</i> Lodd. Hiern.) provenientes de cultura de tecidos	46
1 Resumo	46
2 Abstract	47
3 Introdução.....	48
4 Material Métodos	49
5 Resultados e Discussão	51
6 Conclusões.....	57
7 Referências Bibliográficas.....	57

LISTA DE ABREVIATURAS

AIA: 3-ácido indolacético

ANA: Ácido naftaleno acético

BAP: 6-benzilaminopurina

Cin: 6-furfurilaminopurina (Cinetina)

2iP: N-isopentenilaminopurine

GA₃: Ácido giberélico

MS: Meio de cultura básico de Murashigue e Skoog (1962)

WPM: Meio básico de Lloyd e McCown (1980)

RESUMO

SILVA, Adriano Bortolotti. *Multiplicação in vitro e aclimatização de gloxínia (Sinningia speciosa Lodd. Hiern.)*. Lavras: UFLA, 2001. 59p. (Dissertação - Mestrado em Agronomia/Fitotecnia)*.

Objetivou-se avaliar a multiplicação *in vitro* e aclimatização da gloxínia (*Sinningia speciosa* Lood. Hiern.). Os experimentos foram realizados no Laboratório de Cultura de Tecidos do Departamento de Agricultura da Universidade Federal de Lavras (Lavras - MG, Brasil). As plantas utilizadas na montagem dos experimentos já se encontravam estabelecidas *in vitro*. O meio de cultura básico foi composto de 50% dos sais do MS, pH ajustado para $5,8 \pm 0,1$, 15 g.L^{-1} de sacarose e autoclavado a 121°C por 20 minutos. Os explantes, segmentos nodais contendo 2 gemas, foram inoculadas de maneira asséptica, em câmara de fluxo laminar. Os experimentos de aclimatização foram conduzidos em casa-de-vegetação com temperatura controlada, alta umidade relativa e ventilação forçada. Foram realizados os seguintes experimentos: 1) Concentrações de BAP (0; 0,5; 1; 2 e 4 mg.L^{-1}) associados com diferentes concentrações de GA_3 (0; 2,5; 5; 10 e 20 mg.L^{-1}); 2) Concentrações de BAP (0; 0,5; 1 e 2 mg.L^{-1}) *in vitro* associados com diferentes substratos (vermiculita, plantmax® e vermiculita + plantmax®), testados durante o processo de aclimatização; 3) Aclimatização de gloxínia em diferentes substratos: plantmax®, terra, húmus e vermiculita em todas combinações possíveis, totalizando 15 tratamentos, na proporção de 1:1 (v/v). Na multiplicação *in vitro*, melhores resultados foram obtidos com o emprego de 1 mg.L^{-1} de BAP associado com 20 mg.L^{-1} de GA_3 , promovendo o maior número de brotos. Para a aclimatização de plantas advindas de cultivo *in vitro*, deve-se dar preferência às plantas advindas de meio de cultura isento de BAP. O húmus apresentou-se como um eficiente componente na formulação de substratos para aclimatização de gloxínia.

* Orientador: Moacir Pasqual - UFLA

ABSTRACT

SILVA, Adriano Bortolotti. **Multiplication *in vitro* and acclimatization of gloxinia (*Sinningia speciosa* Lood. Hiern.).** Lavras: UFLA, 2001. 59p. (Dissertation–Máster Program in Agronomy/Crop Science)*.

Gloxinia (*Sinningia speciosa* Lood. Hiern.) micropropagation and acclimatization were studied from plantlets *in vitro* established. Half strength MS salts were used with pH 5.8 ± 0.1 , sucrose 15 g.L^{-1} and autoclaving at 121°C for 20 minutes. Nodal segments with two buds were aseptically inoculated. The following experiments were accomplished: 1) BAP concentrations (0; 0.5; 1; 2 and 4 mg.L^{-1}) associated with different GA3 concentrations (0; 2.5; 5; 10 and 20 mg.L^{-1}); 2) BAP concentrations (0; 0.5; 1 and 2 mg.L^{-1}) *in vitro* associated with different substrates (vermiculite, plantmax® and vermiculite + plantmax®), tested during the acclimatization process; 3) Acclimatization of gloxinia on different substrates plantmax®, land, humus and vermiculite in all of possible combinations. The greatest shoots number was obtained with BAP 1 mg.L^{-1} and GA₃ 20 mg.L^{-1} . Culture medium without BAP showed better acclimatization results. Humus presented itself as a important component in the formulation of substrates for gloxinia acclimatization.

* Major Professor : Moacir Pasqual - UFLA

CAPÍTULO 1

1 INTRODUÇÃO GERAL

Os sistemas de produção de plantas ornamentais evoluíram muito por constituírem uma atividade extremamente competitiva, exigente em tecnologias avançadas, conhecimentos técnicos e comercialização eficiente. Avanços técnicos, a exemplo da utilização de estufas, cultivares melhoradas e mais produtivas, manejo de adubações e irrigação, permitiram melhor controle dos fatores de produção.

Neste contexto, a produção de plantas ornamentais a partir de técnicas de cultura de tecidos pode ser uma alternativa viável para a obtenção de um grande número de plantas com alta qualidade genética e fitossanitária, em um curto espaço de tempo, suprindo, assim, a necessidade dos produtores de flores ou plantas ornamentais na aquisição de mudas com qualidade comprovada.

A propagação *in vitro* de plantas ornamentais já é uma realidade em inúmeros países, como Holanda, França, Espanha, Japão, e mais recentemente no Brasil. Dentre as principais plantas ornamentais micropropagadas, destacam-se as rosas, crisântemos, begônias, gérberras, orquídeas, bromélias, samambaias e antúrios.

A gloxínia é uma planta herbácea, ornamental, de vaso, cultivada pela beleza e exotividade de suas flores. A maioria das espécies é de origem brasileira, desenvolvendo-se naturalmente nos picos rochosos da Serra do Mar, nos Estados do Paraná, São Paulo e Rio de Janeiro (Bittencourt, Fernandes e Matos, 1977).

Objetivou-se avaliar o comportamento nas fases de multiplicação *in vitro* e aclimatização em casa-de-vegetação de gloxínia (*Sinningia speciosa* Lood. Hiern.).

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Aspectos gerais da cultura

A gloxínia (*Sinningia speciosa* Lood. Hiern.) foi estudada primeiramente por Conrad Loddiges, em 1817, um viveirista inglês que chamou a nova planta de *Gloxinia speciosa*, o que originou o nome comum de gloxínia (Kimmins, 1992).

A gloxínia é uma planta herbácea, tuberosa, perene, com 15 a 25 cm de altura, folhas carnosas e aveludadas, pertencente à família das Gesneriáceas (Longhi e Tombolato, 1995 e Lorenzi, 1995). Espécies nativas são encontradas no Brasil meridional e ocorrem, na maioria das vezes, nas florestas úmidas da Mata Atlântica, do nível do mar até 2.000 metros de altitude (Perret et al., 2001).

As flores apresentam-se nas formas simples ou dobradas, em cores de diversos tons, desde branco puro, lilás, rosa, vermelho até o púrpura-escuro, podendo ainda ser bicolores, com bordas, pintas ou faixas contrastantes (Longhi e Tombolato, 1995). As espécies produzidas comercialmente constituem uma linhagem obtida por um cruzamento com *S. crassifolia* Hort., divulgada com o nome de *S. speciosa* var. *fyfiana* Hort. (Kimmins, 1992 e Lorenzi, 1995). As cultivares mais populares e comercializadas são as de coloração vermelha.

A gloxínia é propagada comercialmente através de sementes e, por este método, as plantas produzem flores após 6 a 7 meses, em vasos de 15 a 16 cm para variedades de plantas grandes ou 10 a 12 cm para variedades de plantas pequenas (Kimmins, 1992).

O substrato utilizado pode ser uma mistura na proporção de 1:1:1 de húmus, turfa, areia grossa ou perlita (v/v) e as adubações devem ser iniciadas imediatamente após a transferência para vasos. A temperatura ideal deve ser de

18 °C noturnos a 24 °C diurnos e a umidade relativa dentro da estufa deve ficar entre 50 a 70% (Longhi e Tombolato, 1995 e Kimmins, 1992).

Hibridações e seleções geraram gloxínias que podem variar em tamanho, quantidade e disposição das flores. A planta ideal deve apresentar folhas contornando o centro do vaso, preenchido por flores e botões, de modo a formar o aspecto de buquê (Longhi e Tombolato, 1995).

2.2 Micropropagação de plantas ornamentais

A micropropagação de plantas ornamentais é a técnica de cultura de tecidos mais amplamente utilizada. Mais de 500 milhões de plantas são propagadas anualmente e a maioria é constituída por espécies ornamentais (Debergh, 1994).

As técnicas de cultura de tecidos têm sido empregadas principalmente para a produção de plantas matrizes (Debergh, 1990; Debergh e Read, 1991), mas também para a propagação em larga escala de plantas economicamente importantes (Hu e Wang, 1983).

Como vantagens dos métodos de cultura de tecidos têm-se a rápida propagação clonal de plantas ornamentais, a eliminação de patógenos e viroses das plantas (Ahmed e Andrea, 1987), ou a produção de plantas com alta qualidade comercial.

Libano e Witmer (1987), estudando as diferenças entre plantas de crisântemo (*Chrysanthemum morifolium*) propagadas *in vitro* e *ex vitro*, constataram que o material propagado *in vitro* é mais precoce e homogêneo, apresentando expressiva superioridade na produção e qualidade das flores. Trabalho semelhante foi conduzido com begônia (*Begonia hiemalis*) por Takayama e Misawa (1982), que obtiveram plantas mais homogêneas e com maior valor comercial.

Segundo Debergh (1994) e George (1996), a utilização de cultura de tecidos para fins de propagação de plantas é normalmente dividida em 5 estágios: estágio 0 (seleção e preparo da planta matriz), estágio 1 (estabelecimento de uma cultura asséptica), estágio 2 (multiplicação rápida), estágio 3 (preparação para o crescimento em meio natural) e estágio 4 (aclimatização).

No estágio 0, as plantas matrizes devem ser típicas da espécie e livres de doenças. O estágio 1 é caracterizado pelo início do esquema de micropropagação e os explantes mais utilizados são gemas, brotos e brotos apicais. Entretanto, explantes foliares ou pedúnculo floral têm sido empregados, especialmente naqueles casos em que não há necessidade de que as plantas sejam livres de viroses.

Nos estágios 1 e 2, os meios de cultura mais utilizados são os solidificados e derivados dos meios de cultura MS ou WPM. Com balanço hormonal em favor das citocininas, há a quebra da dominância apical, estimulando a emissão de brotações axilares. A alta concentração de citocininas no meio de cultura nem sempre é benéfica, podendo provocar aberrações fisiológicas durante a cultura *in vitro* e na subsequente fase de desenvolvimento da planta em casa-de-vegetação.

O estágio 3 visa o enraizamento, que pode ser obtido *in vitro* ou *in vivo*, em meio com baixa concentração de sais e suplementado com auxinas. O enraizamento pode também ser obtido em meio de cultura livre de reguladores de crescimento. Para a maioria das plantas ornamentais, ambas as técnicas são apropriadas para promover o alongamento e/ou o enraizamento.

A qualidade do material micropropagado é fundamental para o sucesso da aclimatização (estágio 4). Pode-se definir aclimatização como a transferência das mudas da condição *in vitro* para *ex vitro*, na qual fatores como hiperidricidade ou distúrbios fisiológicos podem ser extremamente limitantes.

A cultura de tecidos, além de permitir a propagação de espécies com problemas de propagação sexuada, possibilita a obtenção de plantas isentas de viroses e clones mais produtivos, a preservação e intercâmbio de germoplasma e a realização de estudos envolvendo biologia molecular (George, 1996).

2.3 Meios de cultura e reguladores de crescimento

Os meios nutritivos utilizados para cultura de células, tecidos e órgãos de plantas fornecem as substâncias essenciais para o crescimento dos tecidos e controlam, em grande parte, o padrão de desenvolvimento *in vitro* (Caldas, Haridasan e Ferreira, 1998).

Na cultura de tecidos, os meios de cultura geralmente são compostos de uma fonte de carboidratos, macro e micronutrientes e outras substâncias como vitaminas, aminoácidos, açúcares, agente solidificante e reguladores de crescimento (George e Sherrington, 1984).

Um dos primeiros meios de cultura formulados foi o White, sendo utilizado como meio de cultura básico para grande variedade de tecidos de diferentes espécies. Várias mudanças de padrão foram propostas na tentativa de otimizar o crescimento de calos *in vitro*. Essas modificações visavam principalmente o acréscimo da concentração de nitrogênio na forma de amônio e redução da concentração de sódio (Murashige e Skoog, 1962).

O meio de cultura MS (Murashige e Skoog, 1962) é o mais utilizado para a propagação de várias espécies; entretanto, a sua concentração de nutrientes é alta e pode ser diminuída (Pierick, 1987). Vários autores têm relatado a possibilidade de reduzir a concentração de sais do meio MS para diversas espécies visando, principalmente, melhor desenvolvimento das plantas e redução nos custos (George e Sherrington, 1984; Oliveira, 1994; Paiva et al., 1997).

A composição e a concentração de reguladores de crescimento no meio de cultura são fatores determinantes no crescimento e no padrão de desenvolvimento na maioria dos sistemas de cultura de tecidos (Caldas, Haridasan e Ferreira, 1998). Os reguladores de crescimento são substâncias que atuam em baixas concentrações, em vários processos do desenvolvimento das plantas (George e Sherrington, 1984).

As citocininas, substâncias sintetizadas principalmente nos pontos de crescimento do sistema radicular (Hu e Wang, 1983; Rosenblum e Basile, 1984), induzem a formação de grande número de brotos, aumentando a taxa de multiplicação (Hu e Wang, 1983; Pierick, 1987). O BAP é a citocinina mais utilizado para estimular a formação de brotações *in vitro* (Hu e Wang, 1983).

Na maioria dos casos, uma relação auxina/citocinina tendendo para uma maior concentração de citocininas é necessária para indução de brotações nos explantes (George e Sherrington, 1984; Debergh e Read, 1991).

As giberelinas estimulam o crescimento de órgãos já formados, mas podem também inibir a iniciação de outros órgãos (Murashige, 1974). A adição de giberelina no meio de cultura apresenta respostas adversas. Em algumas plantas, o GA₃ promoveu a formação de brotos, podendo ter efeito contrário em outras espécies. Este grupo de regulador de crescimento é muito sensível ao calor e, após a autoclavagem, cerca de 90% da sua atividade biológica são perdidos. Em geral, as giberelinas induzem o alongamento dos internódios e o crescimento de meristemas ou gemas cultivadas *in vitro* (Jacques, 1985).

2.4 Aclimatização de plantas obtidas por micropropagação

A aclimatização pode ser definida como a transferência da planta da condição *in vitro* para o ambiente natural ou para um ambiente intermediário,

como casa-de-vegetação ou telado (Debergh e Maene, 1981). Há controvérsias quanto ao uso do termo aclimatação e aclimatização. Segundo Preece e Sutter (1991), a palavra aclimatação denota o processo durante o qual plantas ou outros organismos ajustam-se ou acostumam-se a uma nova condição de clima ou situação como um resultado de um processo natural. George (1993) define aclimatação como um processo de adaptação regulado pela natureza e aclimatização como sendo aquele controlado pelo homem. Para Sluis e Walker (1985) e Crócomo (1988), a aclimatização é uma fase crítica na micropropagação de plantas e, em alguns casos, pode ser um fator limitante nesse processo (Grattapaglia e Machado, 1998).

Um grande número de plantas micropropagadas pode não sobreviver à transferência das condições *in vitro* para casa-de-vegetação. A maioria das espécies que crescem *in vitro* requerem um processo de aclimatização para sobreviverem e crescerem quando transferidas para solo (Preece e Sutter, 1991). Segundo Dunstan e Turner (1984), a aclimatização é constituída de duas fases: enraizamento (*in vitro* ou *ex vitro*) e transferência das mudas para condições não estéreis, com temperatura e umidade controladas.

A principal causa da baixa sobrevivência é a excessiva perda de água pelas plantas durante a aclimatização (Brainerd e Fuchigami, 1982; Sutter e Langhans, 1982). A quantidade reduzida de cêra epicuticular está diretamente relacionada com o aumento da perda de água em brotos cultivados. Taxas de transpiração foram mais altas em folhas de plantas com baixa quantidade de cêra epicuticular, quando comparadas com as plantas que cresceram em casa-de-vegetação ou que já estavam aclimatizadas (Wardle, Dobbs e Short, 1983; Sutter e Langhas, 1982). O mecanismo de abertura e fechamento dos estômatos das plantas que foram cultivadas *in vitro*, e estão em processo de aclimatização, é mais lento do que em plantas mantidas em casa-de-vegetação ou aclimatizadas, e isto pode levar à rápida perda de água, causando um colapso na

folhas e resultando em clorose. A baixa integridade da cutícula e da membrana celular também contribuem para a degradação dos estômatos (Sutter, 1988). As plantas mantidas *in vitro* também requerem baixa luminosidade relativa, e quando submetidas ao aumento de luz, sofrem um processo de destruição de clorofila, tornando-se cloróticas e queimadas (Costa, 1998).

Segundo Grattapaglia e Machado (1998), vários fatores são limitantes durante a fase de aclimatização: 1) passagem de um baixo fluxo respiratório (*in vitro*) para um ambiente que demanda incremento na taxa de respiração, podendo causar estresse hídrico; 2) a planta passa de um meio heterotrófico, com grande suprimento de energia (sacarose), para o autotrófico, necessitando realizar fotossíntese para sobreviver; 3) a planta passa a ter que incrementar a absorção de sais rapidamente e 4) a planta passa de um ambiente asséptico para outro, no qual fica sujeita ao ataque de microorganismos.

O alto custo da produção de mudas pelo processo de cultura de tecidos é devido principalmente à alta porcentagem de perdas na fase de aclimatização (Sluis e Walker, 1985). A carência de informações ou ausência de técnicas ligadas à aclimatização, como controle de umidade, luminosidade e temperatura e substratos, pode quebrar a continuidade do processo de produção (Grout e Crisp, 1977; Wardle, Quinlan e Simpkins, 1979).

Visando reduzir as perdas durante a fase de aclimatização, vários estudos vêm sendo desenvolvidos para favorecer o crescimento das mudas nesta fase limitante da cultura de tecidos. Segundo Gribaudo e Fronda (1993), a técnica convencional de aclimatização consiste basicamente no enraizamento *in vitro* em substrato com ágar, com subsequente repicagem para o substrato sob nebulização constante para manter alta a umidade relativa do ar, reduzindo-a posteriormente de forma gradativa. A utilização de sombreamento para evitar o estresse pela luz (George, 1993), inoculação de micorrizas (Corsato, 1993) e

escolha de substratos adequados (Normah, Nor-Azza e Alluidim, 1996) são importantes no processo de aclimatização.

3 METODOLOGIA GERAL

O presente trabalho foi constituído de experimentos de propagação *in vitro* e aclimatização de plantas produzidas por cultura de tecidos vegetais. Os trabalhos foram realizados no Laboratório de Cultura de Tecidos e em casa-de-vegetação do Departamento de Agricultura da Universidade Federal de Lavras, em Lavras, Minas Gerais.

Para o estabelecimento *in vitro* da cultura, foram usados segmentos foliares de gloxínia (*Sinningia speciosa* Lood. Hiern.) medindo aproximadamente 1 cm², desinfestados em solução de hipoclorito de sódio a 2% por 10 minutos e inoculados em tubos de ensaio contendo 10 ml de meio de cultura MS (Murashige e Skoog, 1962). O material vegetativo utilizado nos experimentos constava de brotos de gloxínia com aproximadamente 1cm de comprimento e 2 gemas axilares.

O meio de cultura básico utilizado (Tabela 1) foi o MS. O pH do meio foi ajustado para $5,8 \pm 0,1$ com a utilização NaOH 0,5 N ou HCl 0,1 N. Após o preparo, 10 ml de meio de cultura foram distribuídos em tubos de ensaio com as dimensões de 150 x 25 mm, os quais foram vedados com tampas de polipropileno, identificados e autoclavados a 121^o C por 20 minutos.

TABELA 1. Composição do meio de cultura MS.

Compostos	Concentração final (mg.L ⁻¹)
NH ₄ NO ₃	1650,000
KNO ₃	1900,000
H ₃ BO ₃	6,200
KH ₂ PO ₄	170,000
KI	0,830
Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	0,250
CoCl ₂ ·6H ₂ O	0,025
CaCl ₂ ·2H ₂ O	440,000
MgSO ₄ ·7H ₂ O	370,000
MnSO ₄ ·4H ₂ O	22,300
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	8,600
CuSO ₄ ·5H ₂ O	0,025
Na ₂ EDTA·2H ₂ O	37,250
FeSO ₄ ·7H ₂ O	27,850
Mio-Inositol	100,000
Tiamina – HCl	0,500
Ác. Nicotínico	0,500
Piridoxina–HCl	0,500
Glicina	2,000

Os ensaios foram instalados em condições assépticas, em câmara de fluxo laminar horizontal. As brotações ou segmentos de brotações foram obtidas uniformemente; após a inoculação, o material foi colocado em sala de crescimento, com luminosidade em torno de 35 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$, $26 \pm 1^\circ\text{C}$ e fotoperíodo de 16 horas.

A aclimatização foi realizada em casa-de-vegetação com sistema de nebulização intermitente e ventilação forçada. As plantas foram transferidas para vasos plásticos de 14 cm de diâmetro e mantidas em bancada de tela metálica sob nebulização por período variável de acordo com o experimento. Durante a condução dos experimentos, foram feitas pulverizações preventivas utilizando Benomyl (1 g.L⁻¹ do produto comercial Benlate®).

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado para todos os experimentos, sendo os dados comparados através do teste Scott-Knott para fatores qualitativos, ou de regressão polinomial para fatores quantitativos.

4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AHMED, H.A.; ANDREA, M. Effect of heat treatment on acceleration chrysanthemum multiplication by meristem tip. *Acta Horticulturae*, Skierniewice, v.212, p.99-106, 1987.
- BITTENCOURT, J.F.N.; FERNANDES, P.D.; MATOS, J.R. Efeitos da aplicação de fertilizantes comerciais, via foliar, em gloxínia (*Sinningia speciosa* Lodd. Hiern). *Anais da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"*, Piracicaba, v.34, p.121-126, 1977.
- BRAINERD, K.E.; FUCHIGAMI, L.H. Stomatal functioning of *in vitro* and greenhouse apple leaves in darkness, manitol, ABA, and CO₂. *Journal of Experimental Botany*, Oxford, v.33, p.338-392, 1982.
- CALDAS, L.S.; HARIDASAN, P.; FERREIRA, M.E. Meios nutritivos. In: TORRES, A.C.; CALDAS, L.S.; BUSO, J.A. (eds). *Cultura de tecidos e Transformação genética de plantas*. Brasília: EMBRAPA, 1998. v.1, p.87-132.
- CORSATO, C.E. Comportamento fisiológico do morangueiro (*Fragaria ananassa* Duch.) micropropagação e aclimação na presença de fungos endomicorrízicos. Piracicaba: ESALQ, 1993. 48p. (Dissertação - Mestrado em Fisiologia e Bioquímica de Plantas).
- COSTA, A.M.M. Fisiologia da aclimação. In: TOMBOLATO, A.F.C.; COSTA, A.M.M. (coord). *Micropropagação de plantas ornamentais*. Campinas: IAC, 1998. p.63-67. (IAC. Boletim técnico,174).
- CRÓCOMO, O.J. Biotecnologia de plantas: aplicação da engenharia celular. *Biotecnologia*, Madrid, n.17, p.1-2, 1988.

- DEBERGH, P. In vitro culture of ornamentals. In: VASIL, I.K.; THORPE, T.A. (eds). **Plant cell and tissue culture**. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1994. p.561-573.
- DEBERGH, P.C.; MAENE, L.J. A scheme for commercial propagation of ornamental plants by tissue culture. **Science Horticulture**, Amsterdam, v.14, p.335-345, 1981.
- DEBERGH, P.C.; READ, P.E. Micropropagation. In: Debergh, P.C.; Zimmerman, R.H. (eds). **Micropropagation: tecnology and application**. Dodrecht: Kluwer Academic Publishers, 1991. p.1-14.
- DEBERGH, P.C.A. Recent trends in the applications of tissue culture to ornamentals. In: GREEN, C.G.; SOMERS, D.A.; HACKETT, W.P.; BLESBOER, D.D. (eds). **Plant tissue and culture**. New York: A.R. Liss, 1990. p.383-393.
- DUNSTAN, D.I.; TURNER, K.E. The acclimatization of micropropagated plants. In: VASIL, I.K. **Cell culture and somatic cell genetics of plants: laboratory procedures and their applications**. Orlando: Academic Press, 1984. v.1, p.123-129.
- GEORGE, E.F. **Plant propagation by tissue cultur^o**: part 1 - the technology. 2.ed. Edington, 1993. 786p.
- GEORGE, E.F. **Plant propagation by tissue culture: part 1 - the technology**. 2.ed. Edington, 1996. 1574p.
- GEORGE, E.F.; SHERRINGTON, P.D. **Plant propagation by tissue culture: handbook and directory of commercial laboratories**. Eversley: Exegetics Limited, 1984. 593p.
- GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M.A. Micropropagação. In: TORRES, A.C.; CALDAS, L.S.; BUSO, J.A. (eds). **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: EMBRAPA, 1998. v.1, p.183-260.
- GRIBAUDO, I.; FRONDA, A. L' ambientamento delle piante frutticole micropropagate. **Rivista de Frutticoltura e di Ortofloricoltura**, Bologna, v.51, n.1, p.75-80, gen. 1993.

- GROUT, B.W.W.; CRISP, P.C. Practical aspects of the propagation of cauliflower by meristem culture. *Acta Horticulturae*, Skierniewice, v.78, p.289-295, 1977.
- HU, C.Y.; WANG, P.J. Meristem, shoot tip and bud cultures. In: EVANS, D.A.; SHARP, W.R.; AMMIRATO, P.V.; YAMADA, Y. (eds). **Handbook of plant cell culture - techniques for propagation and breeding**. New York: MacMillan Publishing Company, 1983. v.1, p.177-277.
- JACQUES, R.M. **Giberelinas** In: FERRY, G.M. **Fisiologia vegetal**. São Paulo: EPU, 1985. v.2, cap.5, p.129-162.
- KIMMINS, R.K. Gloxinias, African Violets, and other Gesneriads. In: LARSON, R.A. (ed.). **Introduction to Floriculture**. San Diego: Academic Press, 1992. p.289-303.
- LIBANO, R.A.; WITMER, A.H.M. Comparação entre plantas de crisântemo propagadas *in vitro* e *in vivo*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FLORICULTURA E PLANTAS ORNAMENTAIS, 6., **Resumos...** Campinas: Fundação Cargil, 1987. p.77.
- LONGHI, A.A.; TOMBOLATO, A.F.C. **Gloxínia**. Campinas: CATI, 1995. 5p. (CATI. Comunicado Técnico,123).
- LORENZI, H. **Plantas ornamentais no Brasil: arbustivas, herbáceas e trepadeiras**. Nova Odessa, SP: Plantarum, 1995. 720p.
- MURASHIGE, T. Plant propagation through tissue cultures. **Annual Review of Plant Physiology**, Palo Alto, v.25, p.135-166, 1974.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 15, n.3, p.473-497, Mar. 1962.
- NORMAH, M.N.; NOR-AZZA, A.B.; ALLIUDIN, R. Factors affecting *in vitro* shoot proliferation and *ex vitro* establishment of mangosteen. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Dordrecht, v.43, n.3, p.291-294, Mar. 1996.
- OLIVEIRA, P.D. **Propagação *in vitro* de crisântemo (*Dendranthema grandiflora* Tzelev.) cv. Orange Reagen**. Lavras: ESAL, 1994. 116p. (Dissertação - Mestrado em Fitotecnia).

- PAIVA, P.D.O. et al. Propagação *in vitro* de gloxínia. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, Campinas, v.3, n.2, p.29-41, 1997.
- PERRET, M.; CHAUTEMS, A.; SPICHIGER, R.; PEIXOTO, M.; SAVOLAINEN, V. Nectar Sugar Composition in Relation to Pollination Syndromes in Sinningieae (Gesneriaceae). **Annals of Botany**, London, v. 87, n.2, p.267-273, Feb. 2001.
- PIERICK, R.L.M. **In vitro culture of higher plants**. Dordrecht: Martinus Nyhoff Publishers, 1987. 344p.
- PREECE, J.E.; SUTTER, E.G. Acclimatization of micropropagated plants to the greenhouse. In: DEBERGH, P.C.; ZIMMERMAN, R.H. (eds). **Micropropagation: technology and application**. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1991. p.71-93.
- ROSEMBLUM, I.M.; BASILE, D.V. Hormonal regulation of morphogenesis in streptocarpus and its relevance to evolutionary history of the Gesneriaceae. **American Journal of Botany**, Ithaca, v.71, n.1, p.52-64, Jan. 1984.
- SLUIS, C.J.; WALKER, K.A. Commercialization of plant culture propagation. **IAPTC News**, v. 47, p.2-12, 1985.
- SUTTER, E. Stomatal and cuticular water loss from apple, cherry, and sweetgum plants after removal *in vitro* culture. **Journal of the American Society for Horticulture Science**, Alexandria, v.113, n.2, p.234-238, Mar. 1988.
- SUTTER, E.; LANGHANS, R.W. Formation of epicuticular wax and its effect on water loss in cabbage plants regenerated from shoot-tip culture. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v.60, n.12, p.2896-2902, Dec. 1982.
- TAKAYAMA, S.; MISAWA, M. Factors affecting differentiation *in vitro*, and a mass propagation scheme for *Begonia x hiemalis*. **Science Horticulturae**, Amsterdam, v.16, p.65-75, 1982.
- WARDLE, K.; DOBBS, E.B.; SHORT, K.C. *In vitro* acclimatization of aseptically culture plantlets to humidity. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v.108, n.3, p.386-389, May 1983.

WARDLE, K.; QUINLAN, A.; SIMPKINS, I. Absciscic acid and regulation of water loss in plantlets of *Brassica oleracea* L. var. Botrytis, regenerated through apical meristem culture. *Annals of Botany*, London, v.45, p.745-752, 1979.

CAPÍTULO 2

SILVA, Adriano Bortolotti. Efeito de diferentes concentrações de BAP e GA₃ na multiplicação *in vitro* de gloxínia (*Sinningia speciosa* Lodd. Hiern.). Lavras: UFLA, 2001. 17p. (Dissertação-Mestrado em Agronomia/Fitotecnia)*.

1 RESUMO

A multiplicação *in vitro* é uma técnica viável para obtenção de grande número de plantas, com qualidade genética e fitossanitária, e vem sendo utilizada para espécies de grande valor comercial, especialmente plantas ornamentais. Objetivou-se avaliar a influência do BAP (0; 0,5; 1; 2 e 4 mg.L⁻¹) e GA₃ (0; 2,5; 5; 10 e 20 mg.L⁻¹), em todas as combinações possíveis, na multiplicação *in vitro* de gloxínia (*Sinningia speciosa* Lood Hiern.). O meio de cultura básico foi o composto por 50% dos sais do MS, acrescido dos tratamentos, distribuídos em tubos de ensaio (150 x 25 mm) e autoclavados a 121^o C por 20 minutos. Segmentos nodais foram inoculados assepticamente em câmara de fluxo laminar. Após o processo de inoculação, o material foi transferido para sala de crescimento com temperatura de 26 ± 1^oC, intensidade luminosa de 35 µmol.m⁻² s⁻¹ e fotoperíodo de 16 horas, permanecendo nestas condições por 60 dias. O emprego de 1 mg.L⁻¹ de BAP e 20 mg.L⁻¹ de GA₃ promoveu a formação do maior número de brotos. Para altura e número de folhas, melhores resultados foram obtidos com o uso de 10 mg.L⁻¹ de GA₃, na ausência de BAP. Melhor resultado para peso da matéria seca total foi obtido com 1 mg.L⁻¹ de BAP combinado com 5 mg.L⁻¹ de GA₃. Para peso da matéria fresca da parte aérea e de calos e número de raízes, o uso de meio de cultura sem adição de reguladores de crescimento proporcionou melhor desenvolvimento *in vitro*.

* Orientador: Moacir Pasqual - UFLA

2 ABSTRACT

SILVA, Adriano Bortolotti. **Effects of different concentrations of BAP and GA₃ on the *in vitro* multiplication of gloxinia (*Sinningia speciosa* Lood. Hiern.).** Lavras: UFLA, 2001. 17p. (Dissertation-Máster Program in Agronomy/Crop Science)*.

BAP (0; 0.5; 1; 2 and 4 mg.L⁻¹) and GA₃ (0; 2.5; 5; 10 and 20 mg.L⁻¹) in all of possible combinations on gloxinia (*Sinningia speciosa* Lood. Hiern.). *in vitro* multiplication were studied. Half strength MS salts with growth regulator, pH 5.8±0.1, sucrose 15 g.L⁻¹ and autoclaving at 121C for 20 minutes.were used. Nodal segments were aseptically inoculated and transferred to the growth chamber with 26±1C temperature and 35 µmol.m⁻². s⁻¹ light intensity for 16 hours, during 60 days. The greatest shoots number was obtained with BAP 1 mg.L⁻¹ and GA₃ 20 mg.L⁻¹.Higher plantlets height and leaves number were obtained from GA₃ 10 mg.L⁻¹ in BAP absence. Best results for total dry matter weight was obtained from BAP 1 mg.L⁻¹ in association with GA₃ 5 mg.L⁻¹. Culture medium without growth regulators promoted the greatest shoot fresh matter weight and roots number.

* Major Professor: Moacir Pasqual - UFLA

3 INTRODUÇÃO

A propagação convencional da gloxínia é feita com o uso de sementes, gerando variações nas plantas produzidas. A propagação *in vitro* constitui uma alternativa e pode ser feita a partir de brotos apicais ou segmentos foliares, em meio de cultura MS suplementado com reguladores de crescimento.

O emprego das técnicas de cultura de tecidos tem se tornado uma alternativa bastante viável para obtenção de um grande número de plantas com qualidade fitossanitária e vem sendo utilizado para espécies de grande valor comercial, especialmente plantas ornamentais.

Vários autores têm relatado a possibilidade de reduzir a concentração de sais do meio MS para diversas espécies, visando principalmente melhor desenvolvimento das plantas e redução nos custos (George e Sherrinton, 1984; Oliveira, 1994). Lu, Nugent e Wardley (1990) utilizaram 50% do meio MS, obtendo bom enraizamento em crisântemo. Resultados similares foram obtidos por Muangkaewngam e Chato (1992) e por Paiva et al. (1997a) com a utilização de 50% dos sais do meio MS para o desenvolvimento *in vitro* de gloxínia.

O regulador de crescimento BAP (6 - benzilaminopurina) é uma citocinina largamente utilizada para estimular a indução de brotos em plantas ornamentais. Start e Cumming (1976), trabalhando com *Violeta Africana*, obtiveram ótimos resultados na multiplicação *in vitro* com o emprego de 1 mg.L⁻¹ de BAP e fizeram referência ao fato de que, possivelmente, as técnicas de cultura de tecidos poderiam produzir milhões de mudas bem formadas, através de brotações axilares e laterais, de plantas como gerbera, gloxínia e morango, em um espaço mínimo e de forma econômica. Raman (1977) obteve grande número de brotos de gloxínia utilizando meio MS suplementado com 1 mg.L⁻¹ de BAP e 1 mg.L⁻¹ de ANA. Segundo Paiva et al.(1997a), maior número

de brotos de gloxínia pode ser obtido com o emprego de 2 mg.L^{-1} de BAP na ausência de ANA.

Dentre as giberelinas, o GA_3 é um regulador de crescimento utilizado com a função do alongamento de brotos, promovendo respostas contraditórias *in vitro* e apresentando efeitos diversos que variam de acordo com a espécie. Em alguns casos, o GA_3 pode inibir o desenvolvimento ou não apresentar efeito *in vitro* (Earle e Langhans, 1974; Caldas, Haridasan e Ferreira, 1990; Taiz e Zeiger, 1991; Paiva et al., 1997b). Em plantas como camélia, a adição de 1 a 5 mg.L^{-1} de GA_3 no meio de cultura promoveu plantas maiores e com maior número de brotações do que aquelas cultivadas na ausência desse regulador de crescimento (Carlisi e Torres, 1988). Resultados semelhantes foram obtidos por Yui (1990) com a utilização de baixas concentrações de GA_3 em interação com ANA ($0,1 \text{ mg.L}^{-1}$), trabalhando com o porta-enxerto de macieira "MM - 106". Entretanto, a adição de GA_3 ao meio de cultura não proporcionou incremento no tamanho e número de brotos formados em crisântemo (Oliveira, 1994). Em gloxínias, o uso de GA_3 no meio de cultura não promoveu incremento no tamanho de brotos, quando comparado à utilização de $0,90 \text{ mg.L}^{-1}$ de TDZ e $0,1 \text{ mg.L}^{-1}$ de ANA (Paiva, 1997a).

O presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito do BAP e GA_3 na multiplicação *in vitro* de gloxínia (*S. speciosa* Lood. Hiern.), procurando definir concentrações adequadas e verificar a eficiência destes reguladores de crescimento.

4 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido utilizando brotações de gloxínia (*S. speciosa* Lood. Hiern.) já estabelecidas *in vitro*. Na transferência para os meio de cultura contendo os tratamentos, as brotações foram preparadas com cerca de 10 mm contendo 2 gemas, retirando-se as folhas e o meristema apical. O meio de cultura utilizado foi o MS (Murashige e Skoog, 1962) com 50% dos sais.

Os tratamentos consistiram de cinco concentrações de BAP (0; 0,5; 1; 2 e 4 mg.L⁻¹) e cinco de GA₃ (0; 2,5; 5; 10 e 20 mg.L⁻¹), em todas as combinações possíveis, perfazendo um fatorial simples 5 x 5 com 4 repetições e 3 tubos por parcela.

Após a inoculação, o material foi mantido por 60 dias em sala de crescimento, sendo avaliados os seguintes parâmetros: número e altura dos brotos, peso da matéria fresca da parte aérea, número de raízes, número de folhas, peso da matéria seca total e peso da matéria fresca de calos.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise de variância, com os respectivos níveis de significância, está apresentada na Tabela 1. Observa-se que para todos os parâmetros avaliados houve interação significativa entre fatores estudados, exceto para peso da matéria fresca da parte aérea, que mostrou efeito significativo apenas para BAP e GA₃.

TABELA 1. Análise de variância para número de brotos (NB), número e folhas (NF), altura média de brotos (AMB), número médio de raízes (NMR), peso da matéria fresca da parte aérea (PMFPA), peso da matéria seca total (PST) e peso da matéria fresca de calos. UFLA, Lavras - MG, 2001.

Causas de Variação	GL	QM						
		NB	NF	AMB	NMR ^{1/}	PMFPA	PMST	Calos
BAP	4	9,54**	45,63**	9,90**	1,31**	0,016**	0,00096**	0,056**
GA ₃	4	5,27**	31,30**	1,03**	3,35**	0,022**	0,00051**	0,043**
BAP x GA ₃	16	1,45**	3,91**	0,41**	0,11**	0,645ns	0,00055**	0,010**
Resíduo	75	0,19	1,78	0,10	0,03	0,004	0,00007	0,003
CV (%)		20,75	21,60	27,62	13,85	86,06	84,48	72,20

^{1/}Observações transformadas segundo $(X+1)^{0,5}$

** significativo ao nível de 1% de probabilidade.

Número total de brotos

Observa-se pela Figura 1, que melhores resultados para número de brotos foram obtidos com o emprego de 1 mgL⁻¹ de BAP em combinação com 20 mg.L⁻¹ de GA₃, atingindo a média de 4 brotos por explante. Estes dados concordam com os obtidos por Raman (1977) e Paiva (1997a), que obtiveram maior número de brotos utilizando BAP, sendo este regulador de crescimento fundamental para a multiplicação *in vitro* de diversas espécies ornamentais (George, 1996; Tagliacozzo, 1998), além de ser a citocinina de mais baixo custo (Hasegawa, 1980; Hu e Wang, 1983; Zaerr e Mapes, 1985). O emprego do GA₃, apesar de apresentar resultados contraditórios para algumas espécies, pode estimular a formação de brotos *in vitro* (Carlisi e Torres, 1988; Yui, 1990), principalmente em interação com outros reguladores de crescimento.

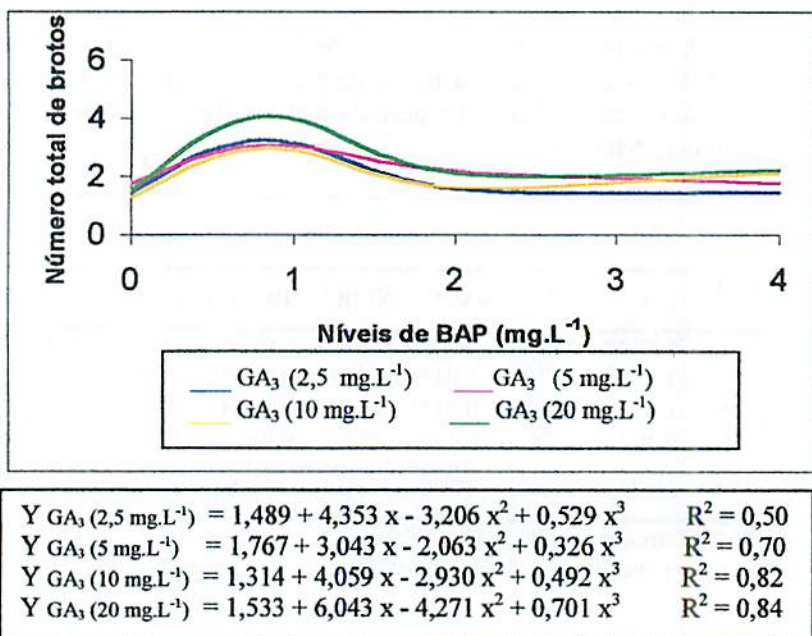


FIGURA 1. Número total de brotos por explante de gloxínia cultivados em diferentes concentrações de BAP e GA₃, UFLA, Lavras - MG, 2001.

Número de folhas

O número de folhas observadas nos brotos foi maior na ausência de BAP interagindo com 10 mg.L⁻¹ de GA₃ (Figura 2). Com o aumento dos níveis de BAP, pode-se constatar que houve decréscimo no número de folhas. Resultados semelhantes foram obtidos por Oliveira (1994), trabalhando com crisântemo, que observou queda no número de folhas com aumento das concentrações de BAP. Isto pode ser atribuído ao fato de o regulador de crescimento BAP estimular a formação de maior número brotos, porém de tamanho reduzido, apresentando menor número de segmentos nodais e folhas.

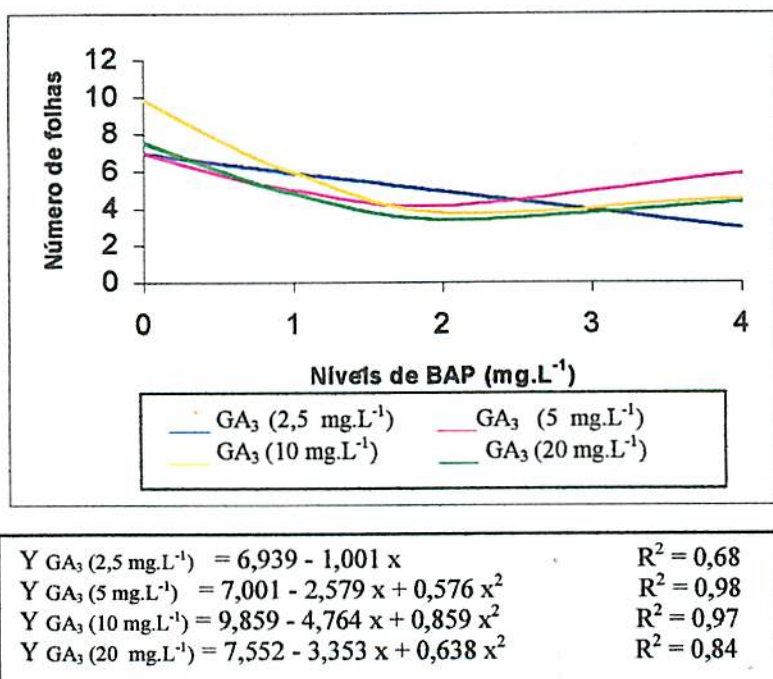


FIGURA 2. Número de folhas formadas por explante de gloxínia cultivados em diferentes concentrações de BAP e GA₃. UFLA, Lavras - MG, 2001.

Altura média de brotos

Para altura média de brotos (Figura 3), melhores resultados foram obtidos em meios de cultura com altas concentrações de GA₃ e ausência de BAP. Com o aumento das concentrações de BAP, houve diminuição no comprimento dos brotos. Estes resultados concordam com a maioria dos autores, que afirmam que o GA₃ ou giberelinas são responsáveis pelo alongamento de brotos (Earle e Langhans, 1974; Caldas Haridasn e Ferreira, 1990; Taiz e Zeiger, 1991; Paiva et al., 1997b).

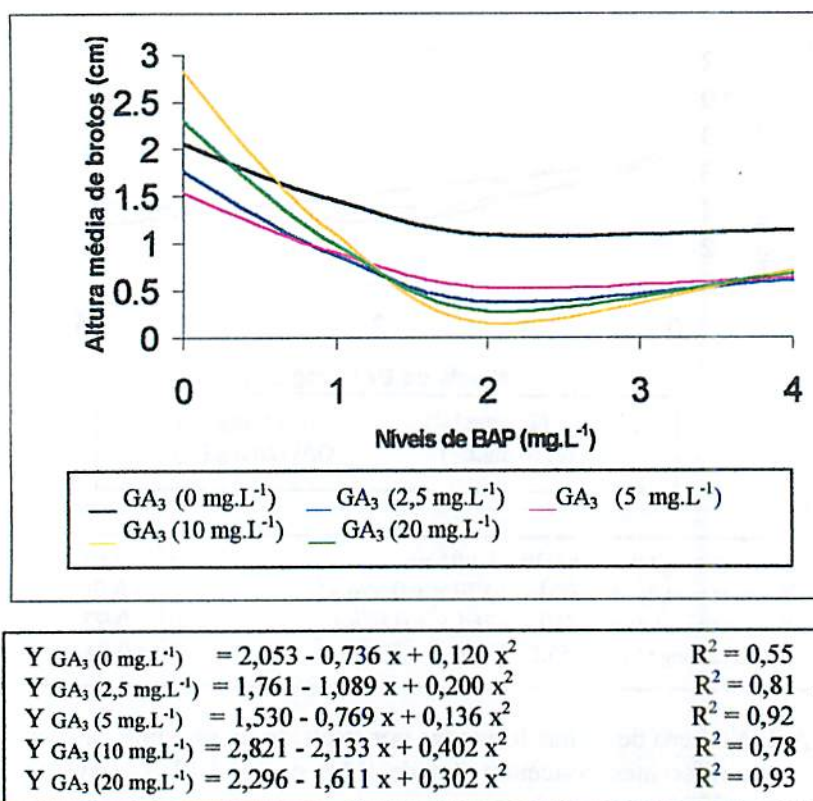
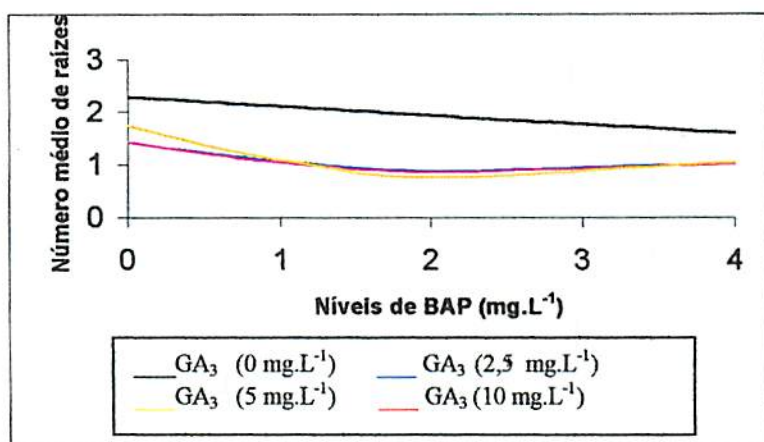


FIGURA 3. Altura média de brotos (cm) em explantes de gloxínia cultivados em diferentes concentrações de BAP e GA₃. UFLA, Lavras - MG, 2001.

Paiva et al. (1997a), trabalhando com gloxínia, observou também uma redução do tamanho de brotos com o aumento das concentrações de BAP. Outros autores têm observado os mesmos resultados negativos desse regulador de crescimento no alongamento das brotações em espécies como crisântemo e morangueiro (Oliveira, 1994; Pasqual et al., 1998).

Número médio de raízes

A ausência de fitorreguladores no meio de cultura apresentou maior número de raízes (Figura 4). O aumento das concentrações de BAP e GA₃ causou queda no fator estudado. Os resultados apresentados vêm de encontro aos resultados obtidos por Grattapaglia, Assis e Caldas (1987), em diversas espécies de *Eucalyptus*, segundo os quais existe uma correlação negativa entre o aumento das concentrações de BAP no meio de multiplicação e o número de raízes na fase de enraizamento *in vitro*. O GA₃, nas concentrações em que foi utilizado, inibiu o desenvolvimento das raízes. Esses resultados concordam com



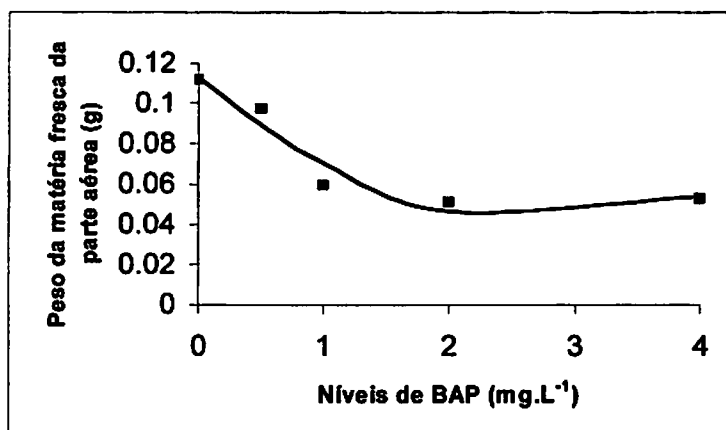
$Y_{GA_3(0\text{ mg.L}^{-1})} = 2,290 - 0,173 x$	$R^2 = 0,78$
$Y_{GA_3(2,5\text{ mg.L}^{-1})} = 1,421 - 0,438 x + 0,084 x^2$	$R^2 = 0,75$
$Y_{GA_3(5\text{ mg.L}^{-1})} = 1,419 - 0,455 x + 0,089 x^2$	$R^2 = 0,65$
$Y_{GA_3(10\text{ mg.L}^{-1})} = 1,746 - 0,810 x + 0,158 x^2$	$R^2 = 0,65$

FIGURA 4. Número médio de raízes formadas em brotos de gloxínia cultivados em diferentes níveis de BAP e GA₃. UFLA, Lavras - MG, 2001.

a maioria dos autores, que mostram que os efeitos do GA₃ podem ser contraditórios, às vezes inibindo a organogênese da parte aérea e do sistema radicular e outras vezes estimulando (Earle e Langhans, 1974; Caldas Haridasan e Ferreira, 1990; Taiz e Zeiger, 1991; Paiva et al., 1997b). Oliveira (1994) observou, em plantas de crisântemo, que o aumento das concentrações de BAP provocou diminuição do número de raízes.

Peso da matéria fresca da parte aérea

As Figuras 5 e 6 apresentam o peso da matéria fresca da parte aérea de



$$Y_{\text{BAP}} = 0,113 - 0,052x + 0,009x^2$$

$$R^2 = 0,93$$

FIGURA 5. Peso da matéria fresca da parte aérea de brotos de gloxínia cultivados em diferentes concentrações de BAP. UFLA, Lavras - MG, 2001.

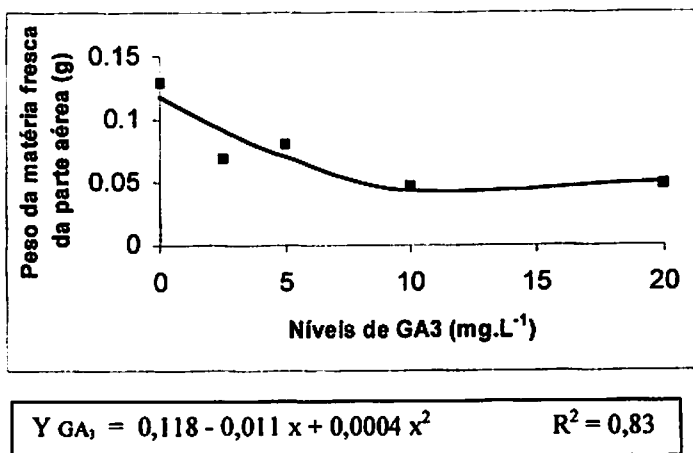


FIGURA 6. Peso da matéria fresca da parte aérea de brotos de gloxínia cultivados em diferentes concentrações de GA₃. UFLA, Lavras - MG, 2001.

broto de gloxínia. Observa-se que as curvas mostraram tendência bastante similar, ou seja, que tanto o aumento das concentrações de BAP quanto de GA₃ provocaram queda no peso da matéria fresca dos brotos. A diminuição do peso da matéria fresca da parte aérea, quando houve aumento a concentração de BAP, possivelmente ocorreu devido ao fato de que esse regulador promove a emissão de grande número de brotações, porém de menor tamanho. Já a diminuição do peso da matéria fresca da parte aérea, ocasionada pelo aumento das concentrações de GA₃, provavelmente ocorreu devido a um efeito fitotóxico desse regulador de crescimento

Peso da matéria seca total

O peso da matéria seca total (Figura 7), que é a expressão do crescimento real do sistema radicular e da parte aérea, atingiu o valor máximo com a utilização de 1 mg.L⁻¹ de BAP e 5 mg.L⁻¹ de GA₃, e a partir deste ponto o

BAP passou a inibir o desenvolvimento das plantas *in vitro*, apresentando um decréscimo no peso da matéria seca total.

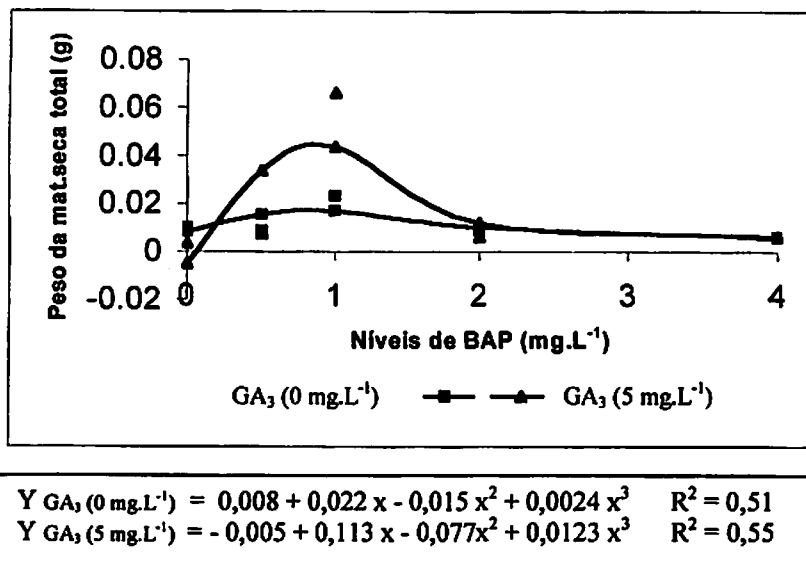
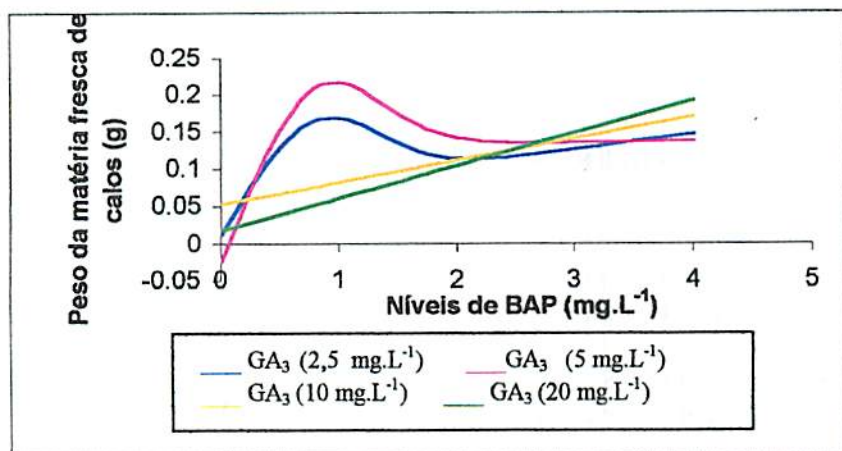


FIGURA 7. Peso da matéria seca total de brotos de gloxínia cultivados em diferentes concentrações de BAP e GA₃. UFLA, Lavras - MG, 2001.

Peso da matéria fresca de calos

A Figura 8 mostra o peso da matéria fresca de calos e pode-se observar que, com o aumento das concentrações de reguladores de crescimento, tem-se um aumento no peso de calos. Somente em meio de cultura sem os reguladores de crescimento BAP e GA₃ não houve formação de calos.



$Y_{GA_3 (2,5 \text{ mg.L}^{-1})} = 0,0133 + 0,326 x - 0,202 x^2 + 0,03236 x^3$	$R^2 = 0,82$
$Y_{GA_3 (5 \text{ mg.L}^{-1})} = -0,024 + 0,491 x - 0,295 x^2 + 0,04559 x^3$	$R^2 = 0,76$
$Y_{GA_3 (10 \text{ mg.L}^{-1})} = 0,053 + 0,029 x$	$R^2 = 0,62$
$Y_{GA_3 (20 \text{ mg.L}^{-1})} = 0,018 + 0,043 x$	$R^2 = 0,91$

FIGURA 8. Peso da matéria fresca de calos em explantes de gloxínia cultivadas em diferentes concentrações de BAP e GA₃. UFLA, Lavras - MG, 2001.

6 CONCLUSÕES

A utilização de 1 mg.L⁻¹ de BAP e 20 mg.L⁻¹ de GA₃ promove a multiplicação *in vitro* de gloxínia.

Maior número de folhas e altura média de brotos são obtidos com 10 mg.L⁻¹ de GA₃ na ausência de BAP.

Na ausência de reguladores de crescimento, o número de raízes e o peso da matéria fresca da parte aérea de brotos apresentam melhor desenvolvimento, sem a formação de calos.

O maior peso da matéria seca total é obtido na presença de 1 mg.L^{-1} de BAP e 5 mg.L^{-1} de GA_3 .

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CALDAS, L.S.; HARIDASAN, P.; FERREIRA, M.E. Meios nutritivos. In TORRES, A.C.; CALDAS, L.S. **Técnicas e aplicações da cultura de tecidos de plantas**. Brasília: EMBRAPA - CNPH ABCTP, 1990. p.37-70.
- CARLISI, J.A.; TORRES, K.T. The effects of GA_3 on Cammelias grown *in vitro*. **HortScience**, Alexandria, v.19, n.3, June 1988. (Abst., 271).
- EARLE, E.D.; LANGHANS, R.W. Propagation of Crysanthemum *in vitro* II. Production, growth and flowering of plantlets from tissue culture. **Journal of American Society for Horticulturæ Science**, Alexandria, v.99, n.4, p.352-358, July 1974.
- GEORGE, E.F. **Plant propagation by tissue culture: part 1 - the technology**. 2.ed. Edington, 1996. 1574p.
- GEORGE, E.F.; SHERRINGTON, P.D. **Plant propagation by tissue culture: handbook and directory of commercial laboratories**. Eversley: Exegetics Limited, 1984. 593p.
- GRATTAPAGLIA, D.; ASSIS, T.F.; CALDAS, L.S. Efeito residual de BAP e NAA na multiplicação e enraizamento *in vitro* de *Eucalyptus*. In: SIMPÓSIO NACIONAL DE CULTURA DE TECIDOS VEGETAIS, 2., 1987, Brasília, DF. **Resumos...**Brasília, 1987. p.10.
- HASEGAWA, P.M. Factors affecting shoot and root initiation from cultured rose tips. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v.105, p.216-220, Mar. 1980.
- HU, C.Y.; WANG, P.J. Meristem, shoot tip and bud cultures. In: EVANS, D.A.; SHARP, W.R.; AMMIRATO, P.V.; YAMADA, Y. (eds). **Handbook of plant cell culture: techniques for propagation and breeding**. New York: MacMillan Publishing Company, 1983. v.1, p.177-277.

- LU, C.Y.; NUGENT, G.; WARDLEY, T. Efficient, direct plant regeneration from stem segments of chrysanthemum (*Chrysanthemum morifolium* Ramat. Cv. Royal Purple). **Plant Cell Reports**, Berlin, v.8, n.9, p.733-736, Sept. 1990.
- MUANGKAEWNGAM, A.; CHATO, S. In vitro micropropagation of gloxinia. **Kaen Kaset Agriculture Journal**, Malmoe, v.20, n.6, p.336-342, 1992.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 15, n.3, p.473-497, Mar. 1962.
- OLIVEIRA, P.D. Propagação in vitro de crisântemo (*Dendranthema grandiflora* Tzlev.) cv. Orange Reagen. Lavras: ESAL, 1994. 116p. (Dissertação - Mestrado em Fitotecnia).
- PAIVA, P.D.O. et al. Propagação in vitro de gloxinia. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, Campinas, v.3, n.2, p.29-41, 1997a.
- PAIVA, P.D.O de; ROVERI JOSÉ, S.C.B.; PASQUAL, M.; PAIVA, R. Efeito do acido naftaleno acético e GA₃ na micropropagação de violeta. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 44, n.254, p. 92-398, jul./ago 1997b.
- PASQUAL, M.; SILVA, A.B; MACIEL, A.L.R.PEREIRA; A.B.; ALVES, J.M.C. Efeito da cianimida hidrogenada e benzilamino purina na proliferação in vitro de brotos de morangueiro (*Fragaria x ananassa* Duch.) cv. Princesa Isabel. **Revista da Universidade de Alfenas**, Alfenas, v.4, n.2, p-115-119, jul./dez. 1998.
- RAMAN, K. Rapid multiplication of Streptocarpus and Gloxinia from in vitro culture pedicel segments. **Zeitschrift fur Pflanzenphysiologie**, Stuttgart, v. 83, p.411-418, 1977.
- START, N.D.; CUMMING, B.G. In Vitro Propagation of *Saintpaulia ionantha* Wendel. **HortScience**, Alexandria, v.11, n.3, p.204-206, June 1976.
- TAGLIACOZZO, G.M.D. Fitormônios e seus efeitos biológicos in vivo e in vitro. In: TOMBOLATO, A.F.C.; COSTA, A.M.M. (coord). **Micropropagação de plantas ornamentais**. Campinas: IAC, 1998. p.58-62. (IAC. Boletim técnico, 174).

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Plant physiology**. Redwood City: The Benjamin cummings Publishing Company, 1991. 559p.

YUI, E. **Multiplicação in vitro de porta-enxertos de macieira (*Malus domestica* Borkh.)**. Lavras: ESAL, 1990. 69p. (Dissertação - Mestrado em Fitotecnia).

ZAERR, J.B; MAPES, M.O. Action of growth regulators. In: BONGA, J.M.; DURZAN, D.G. (eds.). **Tissue culture in forestry**. Dordrecht: Martinus Nijhoff, 1985. p.231-255.

CAPÍTULO 3

SILVA, Adriano Bortolotti. **Efeito de diferentes concentrações de BAP e substratos na aclimatização de plântulas de gloxínia (*Sinningia speciosa* Lood. Hiern.) provenientes de cultura de tecidos.** Lavras: UFLA, 2001. 13p. (Dissertação - Mestrado em Agronomia/Fitotecnia)*.

1 RESUMO

Objetivou-se avaliar a influência de diferentes concentrações de BAP durante a cultura *in vitro* sobre o processo de aclimatização de gloxínia (*S. speciosa* Lood. Hiern.). Utilizou-se 6-Benzilaminopurina (BAP) nas concentrações de 0; 0,5; 1 e 2 mg.L⁻¹, em condição de cultivo *in vitro*, combinados com os seguintes substratos: vermiculita, plantmax® e vermiculita + plantmax®, durante o processo de aclimatização. O meio de cultura foi composto por 50% dos sais do MS, acrescido de todas as concentrações de BAP, distribuído em frascos e autoclavado a 121^oC por 20 minutos. Segmentos nodais foram inoculados assepticamente em câmara de fluxo laminar. Após o processo de inoculação, o material foi transferido para sala de crescimento com temperatura de 26 ± 1^oC, intensidade luminosa de 35 µmol.m² s⁻¹ e fotoperíodo de 16 horas, permanecendo nestas condições por 60 dias. Após este período, as plantas obtidas foram retiradas dos frascos e em seguida transferidas para casa-de-vegetação, sendo plantadas nos diferentes substratos. As avaliações foram efetuadas após 120 dias de cultivo, em casa-de-vegetação, registrando-se o número de brotos, peso da matéria fresca do sistema radicular, peso da matéria seca da planta e número de flores. Na aclimatização, os melhores resultados foram obtidos com o cultivo das plantas em substrato plantmax® ou plantmax® + vermiculita advindas de meio de cultura *in vitro* isento de BAP.

* Orientador: Moacir Pasqual - UFLA

2 ABSTRACT

SILVA, Adriano Bortolotti. **Effects of different concentrations of BAP and acclimatization of gloxinia (*Sinningia speciosa* Lood. Hiern.) from tissue culture.** Lavras: UFLA, 2001. 13p. (Dissertation-Máster Program in Agronomy/Crop Science)*.

In vitro 6-benziloaminopurine (0; 0.5; 1 and 2 mg. L⁻¹) and vermiculite, plantmax® and vermiculite + plantmax®, on gloxinia (*Sinningia speciosa* Lood. Hiern.) acclimatization were used. Half strength MS salts were used with pH 5.8±0.1, sucrose 15 g.L⁻¹ and autoclaving at 121C for 20 minutes. Nodal segments with two buds were aseptically inoculated and transferred to the growth room with temperature of 26 ± 1C and light intensity of 35 µmol.m⁻².s⁻¹ for 16 hours, during 60 days. After that period, the plantlets were transferred to the greenhouse on the different substrates during 120 days. The best results were obtained with Plantmax® or Plantmax® + vermiculite substrate for plantlets from *in vitro* culture medium without BAP.

*Major Professor: Moacir Pasqual - UFLA

3 INTRODUÇÃO

A gloxínia (*S. speciosa* Lood. Hiern.) é uma planta ornamental da família das Gesneriáceas, comumente encontrada nas matas quentes da Serra do Mar, nos Vales do Paraná e em São Paulo, nas regiões úmidas de Santos e Ubatuba, atravessando o Rio de Janeiro até o Espírito Santo, sendo largamente comercializada pela sua exotividade e variações de coloração das flores. Na maioria dos locais, a floração acontece de setembro a maio; estas plantas são conhecidas como gloxínia de cachimbo, pito ou campainha (Winters, 1996). A propagação é feita, geralmente, através de sementes, gerando variações nas plantas produzidas (Longhi e Tombolato, 1995).

A propagação dessa espécie, através da cultura de tecidos, é uma alternativa para a obtenção de um grande número de plantas, diminuindo o tempo necessário para a obtenção de mudas, garantindo uniformidade genética do material (Dublin, 1984) e qualidade fitossanitária. Este tipo de propagação vem sendo utilizado, principalmente, para espécies de grande valor comercial, especialmente as ornamentais (Queralt et al., 1991).

As citocininas, como o BAP (6-benzilaminopurina), promovem a formação de grande número de brotos e alta taxa de multiplicação em muitos sistemas de micropropagação, enquanto CIN e 2iP permitem o crescimento normal sem brotações múltiplas (Hu e Wang, 1983). As citocininas, de forma geral, promovem maior produção de partes aéreas, mas seu excesso pode ser tóxico e levar ao encurtamento dos entrenós e a sérios problemas na fase de enraizamento (Lane, 1979; Leshem, Werker e Shaler, 1988). Outros efeitos residuais atribuídos a citocininas têm sido observados nas plantas após o transplântio, como menor capacidade de sobrevivência, quebra da dominância apical, deformação de frutos e manutenção de um hábito arbustivo (Grattapaglia e Machado, 1998).

f

A aclimatização é conceituada como a fase ou estágio da micropropagação em que ocorre a transferência das mudas produzidas *in vitro* para o ambiente natural ou um ambiente de transição, como uma casa-de-vegetação ou telado (Deberg e Maene, 1981). Um dos maiores obstáculos para a aplicação prática dos métodos de cultura de tecidos é a dificuldade de transferir com sucesso as mudas das condições *in vitro* para o solo, devido à grande diferença entre as duas condições ambientais (Read e Fellman, 1985). Segundo Dunstan e Turner (1984), a aclimatização é constituída de dois fatores: enraizamento (*in vitro* e *in vivo*) e transferência para condições não estéreis com temperatura e umidade controladas. Preece e Sutter (1991) citam que as técnicas de aclimatização podem ser efetuadas durante o cultivo *in vitro* e após a transferência das mudas. Há diversos fatores envolvidos na aclimatização: genótipo, estresse hídrico, alteração do metabolismo heterotrófico (*in vitro*) para autotrófico, infecção por patógenos e estresse pela luz, além das variações de temperatura.

Escolher o substrato correto pode ser decisivo para o sucesso na aclimatização. O substrato deve ser de baixa densidade, rico em nutrientes, deve ter composição química equilibrada e física uniforme, elevada CTC, apresentar boa aeração e drenagem, boa coesão entre as partículas e raízes, e ser preferencialmente isento de plantas daninhas e com boa flora bacteriana (Coutinho e Carvalho, 1983). Segundo Howard (1987), as mudas provenientes do cultivo *in vitro* são de pequeno tamanho (menos de 5 cm de altura) quando transplantadas, de modo que necessitam ter seu tamanho aumentado de 10 a 20 vezes para serem utilizadas. Isto é importante quando a micropropagação é apenas o primeiro estágio da produção da planta.

x

O presente trabalho teve como objetivo verificar a influência do BAP no processo de aclimatização de plantas de gloxínia produzidas *in vitro*.

4 MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi dividido em duas etapas. Na primeira, foram selecionados explantes com 10mm de comprimento e 3 gemas axilares, de plântulas mantidas *in vitro*, as quais foram transferidas para frascos contendo os tratamentos. O meio de cultivo básico utilizado foi o MS (Murashige e Skoog, 1962) com 50% dos sais. Os tratamentos desta etapa constaram da adição, ao meio de cultura, do regulador de crescimento BAP, nas seguintes concentrações: 0; 0,5; 1 e 2 mgL⁻¹. Após o preparo do meio, este foi distribuído na proporção de 40 mL por frasco de 200cm³. Em uma segunda etapa, realizada após o período de 60 dias de cultivo *in vitro*, as plântulas obtidas foram retiradas dos frascos, lavadas com água corrente com o objetivo de retirar o excesso do meio de cultura e transferidas para vasos contendo os substratos: vermiculita, plantmax® e vermiculita + plantmax®. O experimento foi conduzido em casa-de-vegetação com sistema de nebulização intermitente, garantindo alta umidade relativa, temperatura noturna de 15 °C, diurna de 30 °C e ventilação forçada. Foram realizadas pulverizações quinzenais com 50% dos sais do meio MS acrescidos de 1 g.L⁻¹ de Benomyl.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado em esquema fatorial 4x3, com quatro repetições e cinco plantas por parcela, constando de todas combinações possíveis entre os níveis de BAP *in vitro* e os diferentes substratos utilizados durante a aclimatização. Na segunda etapa do experimento, após 120 dias de cultivo em casa-de-vegetação, foram realizadas as avaliações das seguintes características: número de brotos, peso da matéria fresca do sistema radicular, peso da matéria seca da planta e número de flores.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Tabela 1 apresenta o resumo da análise de variância para os parâmetros avaliados. Observa-se que para número de brotos houve significância somente para BAP. Para as demais variáveis, houve interação significativa entre os fatores estudados.

TABELA 1. Análise de variância para número de brotos (NB), peso da matéria fresca da parte aérea (PMFPA), peso da matéria seca total (PMST), peso da matéria fresca do sistema radicular (PMFSR), número de flores (NFLOR). UFLA, Lavras - MG, 2001.

Causas de Variação	GL	QM				
		NB	PMFPA	PMST	PMFSR ^{1/}	NFLOR ^{1/}
BAP	3	0,909**	6612,54**	30,786**	2,276**	6,401**
Substrato	2	0,142ns	4554,14**	17,545**	0,679**	2,955**
BAP x Subst.	6	0,298ns	1364,52**	6,344**	0,326*	1,854**
Resíduo	36	0,205	305,07	1,529	0,116	0,251
CV (%)		47,14	76,76	72,60	24,71	34,98

^{1/}Observações transformadas segundo $(X + 1)^{0,5}$

** significativo ao nível de 1% de probabilidade.

Número de brotos

A Figura 1 mostra que durante o processo de aclimatização houve a produção de maior número de brotos em plantas advindas de meio de cultura contendo de 1 mg.L^{-1} de BAP, atingindo 1,45 brotos por planta, ponto a partir do qual o uso de BAP passou a ser prejudicial à multiplicação. Esta brotação durante a aclimatização pode ser explicada por um possível efeito residual das citocininas. Esse efeito residual pode ser positivo quando se trata, por exemplo, de um processo de rejuvenescimento *in vitro* de espécies lenhosas pelas

seguidas exposições à citocinina. Porém, pode ser um fator limitante na fase de enraizamento (Grattapaglia e Machado, 1998).

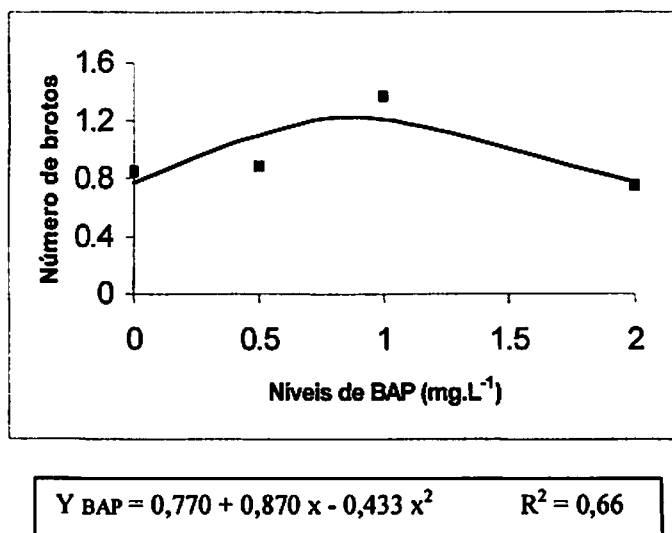


FIGURA 1. Número de brotos em plantas de gloxínia, advindas de cultivo *in vitro* em diferentes concentrações de BAP, obtidas no processo de aclimatização. UFLA, Lavras - MG, 2001.

Peso da matéria fresca da parte aérea

Para peso da matéria fresca da parte aérea (Figura 2), observa-se que melhores resultados foram obtidos de plantas cultivadas em substrato plantmax + vermiculita, oriundas do cultivo em meio de cultura isento de BAP, atingindo 89g por planta. Esses resultados demonstram os efeitos negativos do BAP no crescimento da parte aérea em plantas aclimatizadas.

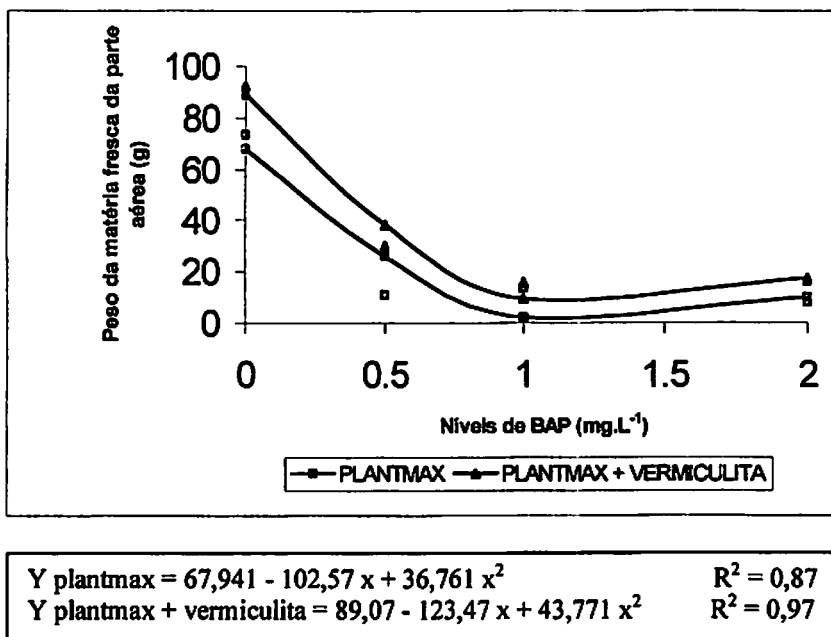


FIGURA 2. Peso da matéria fresca da parte aérea de plantas de gloxínia, advindas de cultivo *in vitro* em diferentes concentrações de BAP, obtidas no processo de aclimatização. UFLA, Lavras - MG, 2001.

Peso da matéria seca total

O peso da matéria seca da planta (Figura 3), que é a expressão do crescimento real do sistema radicular e da parte aérea, apresentou resultado superior para o substrato comercial plantmax® + vermiculita, atingindo 6g por planta quando foram utilizadas plantas advindas do cultivo *in vitro* na ausência do regulador de crescimento BAP, comportando-se de forma bastante semelhante à resposta obtida para peso da matéria fresca da parte aérea.

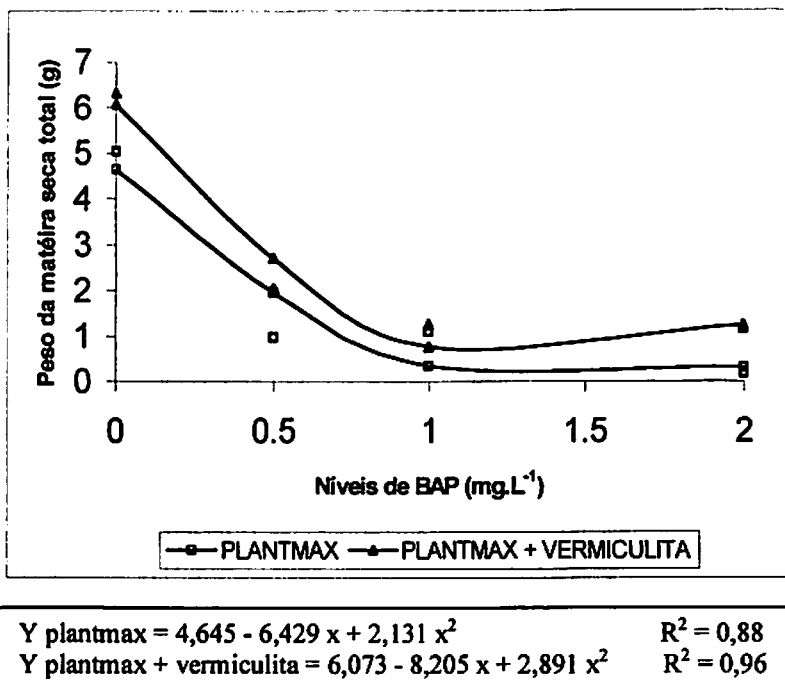
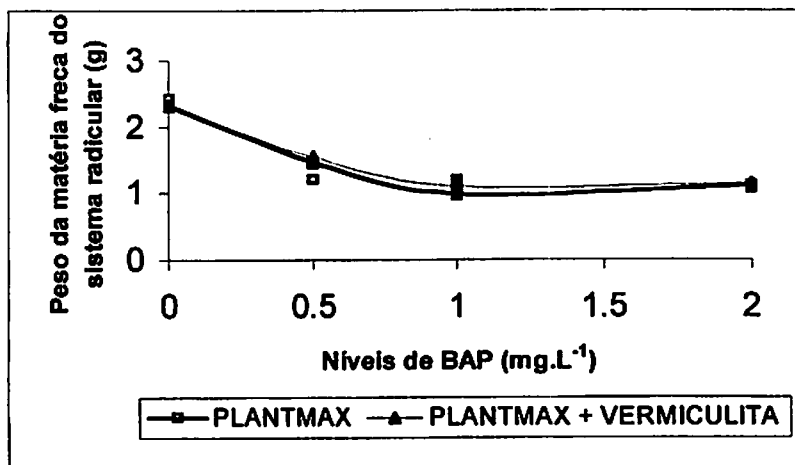


FIGURA 3. Peso da matéria seca total de plantas de gloxínia, advindas de cultivo *in vitro* em diferentes concentrações de BAP, obtidas no processo de aclimatização. UFLA, Lavras - MG, 2001.

Peso da matéria fresca do sistema radicular

Observa-se, pela Figura 4, que melhores resultados para peso da matéria fresca do sistema radicular foram obtidos com o emprego de plantmax® ou plantmax® + vermiculita, uma vez que os resultados foram praticamente similares para ambos os substratos. Da mesma forma que para peso da matéria seca de plantas, houve um decréscimo de peso quando foram aumentadas as concentrações de BAP. Estes resultados concordam com os obtidos por Lane (1979) e Leshem, Werker e Shaler (1988), segundo os quais o uso de citocininas pode trazer sérios problemas para a fase de enraizamento. Grattapaglia e Machado (1998) observaram que após o transplântio houve menor capacidade

de sobrevivência. Esses problemas poderiam ser resolvidos com uma fase intermediária de alongamento e enraizamento para reduzir possíveis efeitos residuais do BAP no processo de aclimatização.

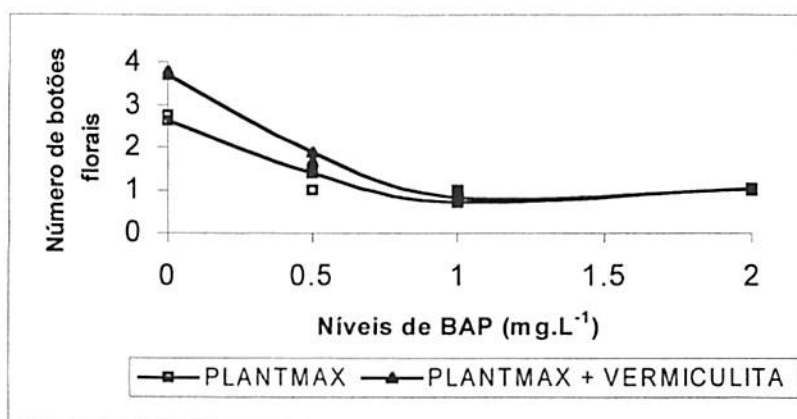


$Y_{\text{plantmax}} = 2,304 - 1,813 x + 0,619 x^2$	$R^2 = 0,99$
$Y_{\text{plantmax + vermiculita}} = 2,315 - 2,044 x + 0,772 x^2$	$R^2 = 0,89$

FIGURA 4. Peso da matéria fresca do sistema radicular de plantas gloxínia, advindas de cultivo *in vitro* em diferentes concentrações de BAP, obtidas no processo de aclimatização. UFLA, Lavras - MG, 2001.

Número de botões florais

Para a variável número de botões florais (Figura 5), o melhor resultado foi obtido com o uso de Plantmax® + Vermiculita durante a fase de aclimatização, atingindo 13,69 botões florais em média, por planta, na ausência de BAP. O aumento nas concentrações de BAP proporcionou diminuição no número de botões florais.



$Y_{\text{plantmax}} = 2,625 - 3,041 x + 1,126 x^2$	$R^2 = 0,89$
$Y_{\text{plantmax + vermiculita}} = 3,700 - 4,408 x + 1,536 x^2$	$R^2 = 0,98$

FIGURA 5. Número de botões florais em plantas de gloxínia, advindas de cultivo *in vitro* em diferentes concentrações de BAP, obtidas no processo de aclimatização. UFLA, Lavras - MG, 2001.

6 CONCLUSÕES

Para as condições em que o experimento foi conduzido, pode-se concluir que:

- Plantas de gloxínia provenientes de cultivo *in vitro* com 1 mg.L⁻¹ de BAP apresentam maior número de brotos durante o processo de aclimatização;
- A aclimatização de plantas de gloxínia produzidas *in vitro* pode ser realizada com sucesso utilizando o substrato plantmax® ou plantmax® + vermiculita;
- Pode ser obtido maior número de botões florais com o emprego de plantmax® + vermiculita;
- Para a aclimatização em casa-de-vegetação, deve-se dar preferência a plantas advindas de meio de cultura isento de BAP.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- COUTINHO, M.; CARVALHO, E.J.M. Caracterização das propriedades de alguns substratos para a propagação de mudas. **Bragantia**, Campinas, v.14, p.167-176, 1983.
- DEBERGH, P.C.; MAENE, L.V. A scheme for commercial propagation of ornamental plants by tissue culture. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 14, p.335-345, 1981.
- ✓ DUBLIN, P. Techniques de reproduction végétative "in vitro" et amelioration génétique chez les caféiers cultivés. **Café, Cacao, Thé**, Paris, v.28, n.4, p.231-44, oct./dec. 1984.
- DUNSTAN, D.I.; TURNER, K.E. The acclimatization of micropropagated plants. In: VASIL, I.K. (ed.). **Cell culture and somatic cell genetics of plants: laboratory procedures and applications**. Orlando: Academic Press, 1984. v.1, p.123-129.
- GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M.A. Micropropagação. In: TORRES, A.L.; CALDAS, L.S.; BUSO, J.S. (eds). **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: EMBRAPA-SPI/EMBRAPA-CNPq, 1998. v.1, p.183-260.
- HOWARD, B.H. Propagation. In: ROM, R.C.; CARLSON, R.F. **Rootstocks for fruit crops**. New York: Wiley InterSciences, 1987. p.29-77.
- HU, C.Y.; WANG, P.J. Meristem, shoot tip, and bud cultures. In: EVANS, D.A.; SHARP, W.R.; AMMIRATO, P.V.; YAMADA, Y. (Eds). **Handbook of plant cell culture**. New York: MacMillan, 1983. v.1, p.177-227.
- LANE, W.D. Regeneration of pear plants from shoot meristem - tips. **Plant Science Letters**, Amsterdam, v.16, n.3, p.337-342, Oct. 1979.
- LESHEM, B.; WERKER, E.; SHALER, D.P. The effect of cytokinins on vitrification in melon and carnation. **Annals of Botany**, London, v.62, p.271-276, 1988.
- LONGHI, A.A., TOMBOLATO, A.F.C. **Gloxínia**. Campinas: CATI, 1995. 5p. (CATI. Comunicado Técnico, 123).

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

PREECE, J.; SUTTER, E.G. Acclimatization of micropropagate plants to the greenhouse and field. In: DEBERGH, P.C.; ZIMMERMAN, R.H. (eds). **Micropropagation**. Dordrecht: Kluwer Academic, 1991. p.71-93.

✓ QUERALT, M.C.; BERUTO, M.; VANDERSCHAEGHE, A.; DEBERGH, P.C. Ornamentals. In: DEBERGH, M.C.; ZIMMERMAN, R.H. (eds). **Micropropagation: technology and application**. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1991. p.215-230.

READ, P.E.; FELLMAM, C.D. Accelerating acclimation of in vitro propagated woody ornamentals. **Acta Horticulturae**, Wageningen, n.166, p.15-20, 1985.

WINTERS, G. Campanha em vaso. **Natureza**, São Paulo, v.7, n.103, p.28-30, ago. 1996.

CAPÍTULO 4

SILVA, Adriano Bortolotti. **Influência de diferentes substratos na aclimatização de plântulas gloxínia (*Sinningia speciosa* Lood. Hiern.) provenientes de cultura de tecidos.** Lavras: UFLA, 2001. 14p. (Dissertação - Mestrado em Agronomia/Fitotecnia)*.

1 RESUMO

A aclimatização é uma fase limitante na micropropagação, podendo apresentar baixa sobrevivência de mudas. A escolha do substrato correto desempenha papel importante na sobrevivência e desenvolvimento de mudas em aclimatização. O objetivo do trabalho foi avaliar o desempenho de plantas de gloxínia em aclimatização, nos seguintes substratos: plantmax®, terra, húmus e vermiculita, em todas combinações possíveis, totalizando 15 tratamentos com 4 repetições e 3 vasos por parcela. As plantas utilizadas foram provenientes de cultura *in vitro*, por 30 dias, em meio de cultura com 50% dos sais do MS, sem reguladores de crescimento. Ao serem retiradas dos tubos de ensaio, as plantas foram lavadas com água destilada para retirar o excesso de meio de cultura no sistema radicular. Após este processo, foram plantadas e distribuídas nos vasos que continham os tratamentos e mantidas em casa-de-vegetação com temperatura controlada, alta umidade relativa e ventilação forçada. Foram realizadas pulverizações semanais com o adubo foliar Biofert® para todos os tratamentos. Após 75 dias em casa-de-vegetação, avaliou-se o desenvolvimento das plantas para os seguintes parâmetros: número de folhas e botões florais, comprimento do sistema radicular, peso da matéria fresca e seca da parte aérea e do sistema radicular. O húmus apresenta-se como um eficiente componente na formulação de substratos para aclimatização de plantas de gloxínia. Para maior produção de botões florais de plantas de gloxínia provenientes de cultivo *in vitro*, pode-se utilizar húmus isolado ou em mistura com terra peneirada na proporção de 1:1 (v/v).

* Orientador: Moacir Pasqual - UFLA

2 ABSTRACT

SILVA, Adriano Bortolotti. **Effect of different substrates on the acclimatization of gloxinia (*Sinningia speciosa* Lood. Hiern.) from tissue culture.** Lavras: UFLA, 2001. 14p. (Dissertation-Máster Program in Agronomy/Crop Science)*.

Influence of plantmax®, land, humus and vermiculite substrates on gloxinia acclimatization were studied. Gloxinia plantlets during 30 days *in vitro* grown in half strength MS salts, without growth regulators, were planted into pots containing the substrates. Plantlets were kept in greenhouse with 30 C day/18C night temperature and 80-90% relative humidity. Weekly sprayings with biofert® foliar fertilizer were performed. After 75 days in greenhouse, the plants were evaluated by leaves number, floral buds number, root system length, shoot and root system dry and fresh matter weight. Humus presented itself as a efficient component in the formulation of substrates for acclimatization of gloxinia. The greatest floral buds number were obtained with humus single or with land at the 1:1 ratio (v/v) mixture.

* Major Professor: Moacir Pasqual - UFLA

3 INTRODUÇÃO

A maioria dos estudos relativos à micropropagação restringe-se à resposta do enraizamento *in vitro* ou *ex vitro* ou, no máximo, à sobrevivência e crescimento das mudas em casa-de-vegetação nos primeiros dias da aclimatização. Assim, faltam informações sobre o crescimento, em fases posteriores, das mudas obtidas por micropropagação em casa-de-vegetação.

A aclimatização é uma fase limitante na micropropagação, podendo apresentar baixa sobrevivência das plantas devido, principalmente, ao estresse que sofrem na passagem da condição *in vitro* para o solo. A principal causa da baixa sobrevivência seria a excessiva perda de água (Brainerde e Fuchigami, 1982; Sutter e Langhans, 1982), podendo também ser atribuída à baixa qualidade da raiz formada em ágar (Grout e Aston, 1977 e Zimmerman, 1981)

A escolha de substratos adequados é uma das prioridades para produtores de mudas e plantas envazadas (Fitzpatrick, Duke e Klock-More, 1998). Pode-se definir o substrato como o meio físico, natural ou sintético, em que se desenvolvem as raízes das plantas que crescem em um recipiente, com volume limitado (Ballester - Olmos, 1992), desempenhando papel importante na sobrevivência e desenvolvimento das plantas em aclimatização. O substrato deve ser de baixa densidade, rico em nutrientes, deve ter composição química equilibrada e física uniforme, elevada CTC, apresentar boa aeração e drenagem, boa coesão entre as partículas e raízes, e ser preferencialmente isento de plantas daninhas e com boa flora bacteriana (Coutinho e Carvalho, 1983).

Vários autores têm tentado obter uma porosidade ideal, possibilitando o fornecimento de água e oxigênio de maneira adequada pelo ajuste da taxa de constituintes de substrato (Poole e Waters, 1972; Paul e Lee, 1976). Para isto, diversos materiais são utilizados: solo, areia, turfa, serragem, casca de arroz carbonizada, húmus, resíduos orgânicos, entre outros.

Salvador (2000) obteve ótimos resultados em cultivo convencional de gloxínia em estufa utilizando como substrato composto de vermiculita, húmus e perlita (1:2:0.5), apresentando média de 11 botões florais. Segundo Bianchini e Pantano (1974), os substratos para violeta africana devem ser porosos, ricos em matéria orgânica e com boa drenagem. Iuchi (1994), trabalhando com rainha do abismo (*Sinningia leucotricha*), obteve melhor desenvolvimento das plantas com o uso de areia mais húmus nas proporções de 2:1 ou 1:2. O húmus, em mistura com substrato comercial agromix® (1:1), apresentou resposta semelhante para abacaxi (*Ananas comusus* L.), quando utilizado como substrato para plantas vindas de cultivo *in vitro* (Silva et al., 1998). Entretanto, melhores resultados foram obtidos por Hoffmann (1999) na aclimatização do porta-enxerto de macieira Marubakaido com o uso do substrato comercial plantmax®.

O presente trabalho teve como objetivo verificar a influência de diferentes substratos no processo de aclimatização de plantas de gloxínia (*Sinningia speciosa* Lood. Hiern.) produzidas *in vitro*.

4 MATERIAL E METÓDOS

Plantas de gloxínia foram mantidas *in vitro* por 30 dias em 50 % dos sais do meio de cultura MS (Murashige e Skoog, 1962) sem reguladores de crescimento para uniformização. Estas foram classificadas por tamanho, retiradas dos tubos de ensaio e lavadas em água destilada para remover o excesso de meio de cultura no sistema radicular. Após este processo, foram plantadas e distribuídas nos vasos contendo substratos, nos seguintes tratamentos: plantmax®, húmus, vermiculita e terra, em todas as combinações possíveis, na proporção de 1:1 (v/v), totalizando 15 tratamentos (Tabela 1) com 4 repetições e 3 vasos por parcela.

TABELA 1. Combinações de substratos testados. UFLA, Lavras - MG, 2001.

LEGENDA	TRATAMENTOS
p	PLANTMAX
v	VERMICULITA
t	TERRA
h	HÚMUS
pv	PLANTMAX + VERMICULITA
ph	PLANTMAX + HÚMUS
pvh	PLANTMAX + VERMICULITA + HÚMUS
th	TERRA + HÚMUS
pth	PLANTMAX + TERRA + HÚMUS
vth	VERMICULITA + TERRA + HÚMUS
vh	VERMICULITA + HÚMUS
pt	PLANTMAX + TERRA
pvt	PLANTMAX + VERMICULITA + TERRA
pvth	PLANTMAX + VERMICULITA + TERRA + HÚMUS
vt	VERMICULITA + TERRA

Os vasos foram mantidos em casa-de-vegetação com temperatura controlada, alta umidade relativa e ventilação forçada. Foram realizadas aplicações semanais com o adubo foliar Biofert® (Tabela 2) em todos os tratamentos.

Após 75 dias em casa-de-vegetação, as plantas foram avaliadas quanto aos seguintes parâmetros: número de folhas, número de botões florais, comprimento do sistema radicular, peso da matéria fresca da parte aérea e do sistema radicular, peso da matéria seca da parte aérea e do sistema radicular.

TABELA 2 Conteúdo do adubo foliar Biofert®

Nitrogênio (N): 8%
Fósforo (P_2O_5 Solúvel em CNA + H_2O): 9%
Potássio (K_2O): 9%
Cálcio(Ca): 1000 ppm
Cloro (Cl): 1000 ppm
Enxofre (S): 1000 ppm
Ferro (Fe): 1000 ppm
Cobre (Cu): 500 ppm
Zinco (Zn): 500 ppm
Boro (B): 200 ppm
Manganês (Mn): 200 ppm
Magnésio (Mg): 100 ppm
Cobalto (Co): 5ppm
Molibdênio (Mo): 5 ppm

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Tabela 3 apresenta o resumo da análise de variância. Pode-se observar que para todos os parâmetros avaliados houve significância ao nível de 1% probabilidade.

+ C

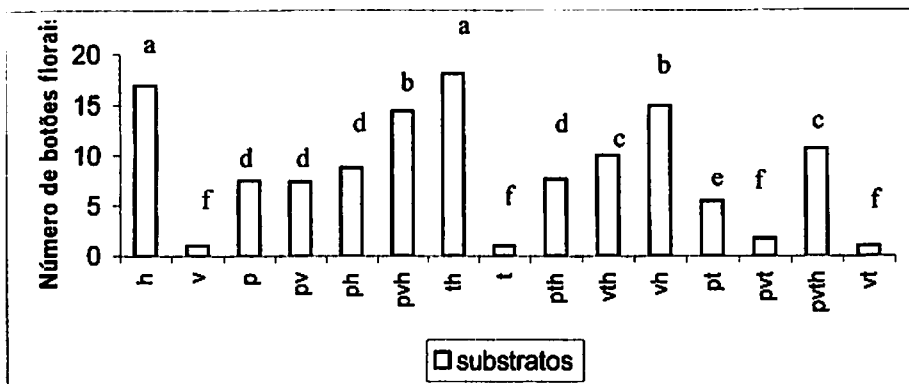
TABELA 3. Análise de variância para número de folhas (NF), comprimento do sistema radicular (CSR), peso da matéria fresca da parte aérea (PMFPA), peso da matéria fresca do sistema radicular (PMFSR), peso da matéria seca da parte aérea (PSFPA), peso da matéria seca do sistema radicular (PMSSR) e número de botões florais (NFLOR). UFLA, Lavras - MG, 2001.

Causas de Variação	GL	QM						
		NF	CSR	PMFPA	PMFSR	PMSPA	PMSSR	NFLO
Substratos	4	148,65**	18,43**	2513,08**	2,31**	5,32**	0,03**	135,76**
Erro	45	2,73	1,42	7,92	0,04	0,08	0,00	1,13
CV (%)		18,52	9,54	8,28	14,58	16,38	12,46	12,61

** significativo ao nível de 1% de probabilidade.

Número de botões florais

A Figura 1 mostra o número de botões florais por planta nos diferentes substratos testados. Pode-se observar que os melhores resultados foram obtidos com uso de terra e húmus com 18,16 botões florais em média, seguido pelo tratamento húmus isolado. Estes resultados concordam com os obtidos por Salvador (2000), que obteve melhores resultados com a combinação vermiculita, húmus e perlita (1:2:0,5). Em ambos os casos, a presença de húmus foi fundamental para boa produção de botões florais.

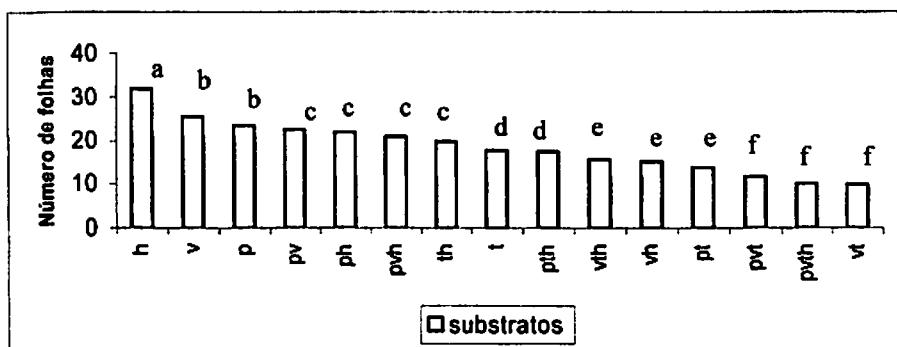


Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott 1%

FIGURA 1. Número de botões florais avaliado na aclimatização de plantas de gloxínia em diferentes substratos. UFLA, Lavras – MG, 2001.

Número de folhas

Na Figura 2 observa-se que maior número de folhas foi obtido com o emprego do substrato húmus isolado, seguido pelo substrato vermiculita. Vale ressaltar que, visualmente, as folhas apresentaram menor tamanho no tratamento vermiculita e terra isolados.

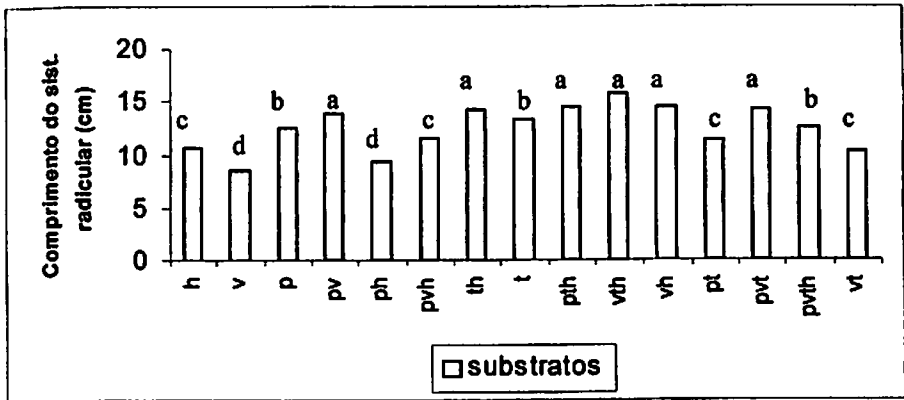


Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott 1%

FIGURA 2. Número de folhas avaliado na aclimatização de plantas de gloxínia em diferentes substratos. UFLA, Lavras – MG, 2001.

Comprimento do sistema radicular

Observa-se pela Figura 3, que melhores resultados foram obtidos na presença de húmus em mistura com vermiculita e terra; plantmax®, terra e húmus; vermiculita e húmus; terra e húmus, plantmax®, vermiculita e terra; e plantmax® e vermiculita. Estas misturas provavelmente apresentaram melhor porosidade, ou seja, boa relação entre água e ar, permitindo melhor desenvolvimento do sistema radicular.

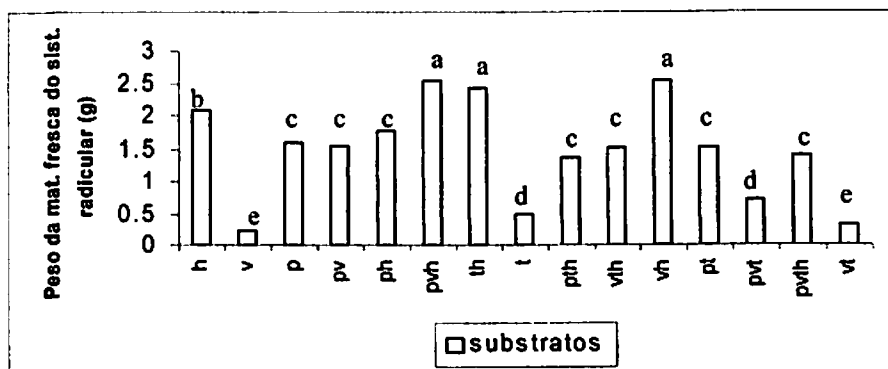


Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott 1%

FIGURA 3. Comprimento do sistema radicular (cm) avaliado na aclimatização de gloxínia em diferentes substratos. UFLA, Lavras - MG, 2001.

Peso da matéria fresca do sistema radicular

A Figura 4 mostra o peso da matéria fresca do sistema radicular. Melhores resultados foram obtidos com o emprego de plantmax®+vermiculita + húmus ou vermiculita + húmus e terra + húmus. Estes resultados concordam em termos com os obtidos por Salvador (2000), que obteve melhores resultados para peso da matéria fresca do sistema radicular utilizando a mistura de vermiculita, húmus e perlita, na proporção de 1:2:0,5.

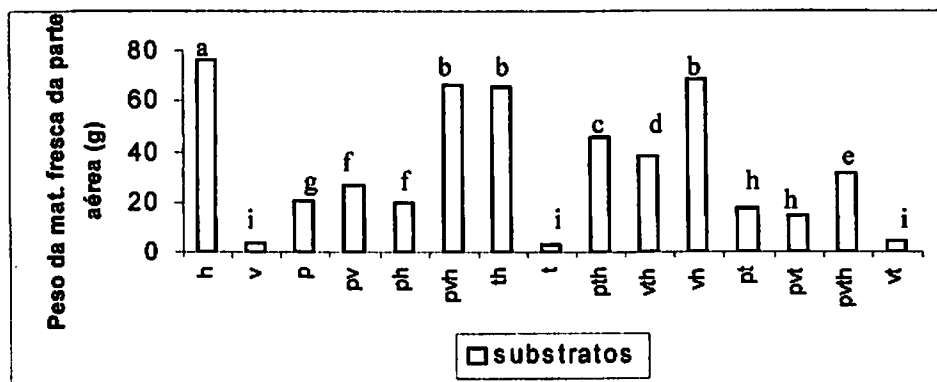


Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott 1%

FIGURA 4. Peso da matéria fresca do sistema radicular (g) avaliado na aclimatização de plantas de gloxínia em diferentes substratos. UFLA, Lavras - MG, 2001.

Peso da matéria fresca da parte aérea

Para peso da matéria fresca da parte aérea (Figura 5), o substrato húmus apresentou o melhor resultado, com peso de 76,15 gramas por planta.



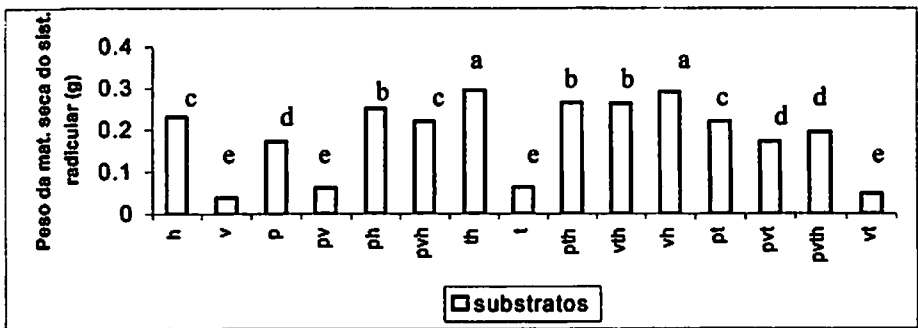
Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott 1%

FIGURA 5. Peso da matéria fresca da parte aérea (g) avaliado na aclimatização de plantas de gloxínia em diferentes substratos. UFLA, Lavras - MG, 2001.

De maneira geral, pode-se observar que húmus apresentou-se como um importante elemento na elaboração de substratos para o crescimento da parte aérea de plantas de gloxínia.

Peso da matéria seca do sistema radicular

O peso da matéria seca do sistema radicular (Figura 6) apresentou resultados similares aos obtidos no peso da matéria fresca. Os melhores resultados foram obtidos com o emprego da mistura terra + húmus ou vermiculita + húmus.

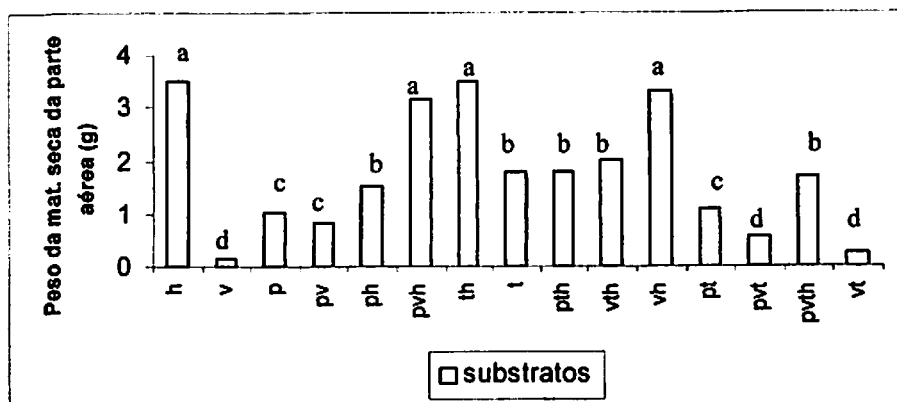


Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott 1%

FIGURA 6. Peso da matéria seca do sistema radicular (g) avaliado na aclimatização de plantas de gloxínia em diferentes substratos. UFLA, Lavras - MG, 2001.

Peso da matéria seca da parte aérea

O substrato contendo a mistura de terra + húmus (Figura 7) foi o que promoveu maior peso da matéria seca da parte aérea das plantas (3,52 g), não diferindo, entretanto, do húmus isolado e das misturas vermiculita + húmus e plantmax® + vermiculita + húmus.



Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott 1%.

FIGURA 7. Peso da matéria seca da parte aérea (g) avaliado na aclimatização de gloxínia em diferentes substratos. UFLA, Lavras - MG, 2001.

6 CONCLUSÕES

Nas condições em que o experimento foi conduzido pode-se concluir que:

O húmus é um eficiente componente na formulação de substratos para a aclimatização de plantas de gloxínia provenientes de cultura de tecidos.

Para maior produção de botões florais de plantas de gloxínia provenientes de cultivo *in vitro*, pode-se utilizar húmus isolado ou em mistura com terra na proporção de 1:1 (v/v).

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BALLESTER-OLMOS, J.F. **Substratos para el cultivo de plantas ornamentales**. Valencia: Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias, 1992. 44p. (Hojas Divulgadora, 11).

- BIANCHINI, F.; PANTANO, A.C. **Tudo verde: guia das plantas e flores.** São Paulo: Melhoramentos, 1974. 135p.
- BRAINERD, K.E.; FUCHIGAMI, L.H. Stomatal functioning of in vitro and greenhouse apple leaves in darkness, manitol, ABA, and CO₂. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v.33, p.338-392, 1982.
- COUTINHO, M.; CARVALHO, E.J.M. Caracterização das propriedades de alguns substratos para a propagação de mudas. **Bragantia**, Campinas, v.14, p.167-176, 1983.
- FITZPATRICK, G.E.; DUKE, E.R.; KLOCK-MORE, K.A. Use of compost products for ornamental crop production: research and grower experiences. **HortScience**, Alexandria, v.33, n.6, p.941-944, Oct. 1998.
- GROUT, B.; ASTON, M.J. Transplanting of cauliflower plants regenerated from mereistem culture. I. Water loss and water tranfe related to changes in leaf wax and to xylem regeneration. **Horticultural Research**, Edinburgh, v.1, n.17, p.107-112, 1977.
- HOFFMANN, A. **Enraizamento e aclimatização de mudas micropropagadas dos porta-enxertos de macieira 'Marubakaido e 'M-26'.** Lavras: UFLA, 1999. 240p. (Tese - Doutorado em Fitotecnia).
- IUCHI, V.L. **Morfologia, biologia floral, propagação e crescimento de 'Rainha do Abismo' (*Sinningia leucotricha* (Hoehne) Moore).** Viçosa: UFV, 1994. 168p. (Tese - Doutorado em Fitotecnia).
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.15, n.3, p. 473-497, Mar. 1962.
- PAUL, J.L.; LEE, C.I. Relation between growth of *Chrysantemum* and aeration of conterainer media. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v.101, p.500-503, 1976
- POOLE, R.T.; WATERS, W.E. Evaluation of various pottings media for growth of foliage plants. **Proceedings Florida State Horticultural Society**, Delan, v.85, p.395-398, 1972.

- SALVADOR, E.D. **Caracterização física e formulação de substratos para o cultivo de algumas plantas ornamentais.** Piracicaba: ESALQ, 2000, 148p. (Tese - Doutorado em Produção Vegetal).
- SILVA, A.B. et al. Aclimação de brotações de abacaxi (*Ananas comosis* L.) produzidas in vitro: ação de Agromix, húmus e Kelpak. **Revista da Universidade de Alfenas**, Alfenas, v.4, n.2, p.107-110, jul./dez. 1998.
- SUTTER, E.; LANGHANS, R.W. Formation of epicuticular wax and its effect on water loss in cabbage plants regenerated from shoot-tip culture. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v.60, n.12, p. 2896-2902, Dec. 1982.
- ZIMMERMAN, R.H. Micropropagation of fruit plants. **Acta Horticulturae**, Wageningen, n.120, p.217-222, 1981.