



EFEITO DE ANA E BAP NA PROPAGAÇÃO *IN VITRO* DE AÇUCENA.

PATRÍCIA SILVA FLORES¹; ENIO LUIS PEDROTTI²; DANIELLA BEZERRA SOUSA³;
1,3.EMBRAPA, RIO BRANCO, AC, BRASIL; 2.UFSC, FLORIANÓPOLIS, SC, BRASIL;
manihotembrapa@yahoo.com.br

Resumo: As açucenas ou *Hippeastrum* produzem poucos propágulos vegetativos durante o crescimento, sendo a micropropagação uma alternativa para produção de mudas uma vez que através da técnica é possível a obtenção de plantas em larga escala em curto espaço de tempo, a partir de um mínimo de material vegetal. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de ANA e de BAP na propagação *in vitro* de *H. aulicum*. Explantes de segmentos de bulbo foram inoculados em meio de cultura MS suplementado com 0,00; 0,20; ou 1,00 μM de ANA, combinados com 0,20; 1,00 ou 4,00 μM de BAP. Após 60 dias, as brotações formadas foram transferidas para MS suplementado com 1,00 μM ANA e 10,00; 15,00 ou 30,00 μM de BAP. O meio com 1,00 μM de ANA e 4,00 μM de BAP foi o mais adequado para indução de brotações foliares e de bulbos por explante, em termos de número e vigor das mudas produzidas. Na fase de multiplicação, não foram observadas diferenças nas respostas com as doses de BAP testadas.

Palavras-chave: *Hippeastrum aulicum*, regulador de crescimento, micropropagação

Introdução

Hippeastrum aulicum (Ker-Gawler) Herb, popularmente conhecida como açucena, é uma espécie bulbosa nativa do Brasil com alto potencial ornamental e de uso medicinal, pois produz alcalóides biologicamente ativos e clinicamente benéficos (ANDRADE, 2007).

As açucenas apresentam baixa produção de propágulos vegetativos durante o ciclo de crescimento (TOMBOLATO et al., 2001). Para estas plantas, a micropropagação pode ser vantajosa por proporcionar a obtenção de plantas em larga escala e em curto espaço de tempo. No entanto, as respostas aos reguladores de crescimento variam em função da espécie estudada, sendo necessários estudos para avaliar o tipo e concentração de reguladores de crescimento para que seja obtido um protocolo de propagação *in vitro* eficiente. Não foi encontrado na literatura nenhum estudo sobre os efeitos de reguladores de crescimento na micropropagação de *H. aulicum*, mas de acordo com estudos realizados com outras espécies de *Hippeastrum*, a suplementação do meio de cultura com ANA e BAP tem sido efetivo para a produção de propágulos, em doses variáveis em função da espécie (GEORGE,



1996). Neste sentido, o objetivo deste trabalho foi estudar o efeito de diferentes níveis de ANA e BAP na propagação *in vitro* de *Hippeastrum aulicum*, a partir de explantes de segmentos de bulbos.

Material e Métodos

Bulbos de *H. aulicum*, pesando 200 ± 20 g foram coletados de uma população natural, no município de Florianópolis, Santa Catarina. Após a limpeza superficial e retirada das camadas mais secas, em câmara de fluxo laminar os bulbos foram imersos em etanol 70,0% por 30 segundos e em uma solução de hipoclorito de sódio (1,0% de cloro ativo) por 20 minutos. Posteriormente, os bulbos foram seccionados em explantes constituídos por uma dupla camada aderida em uma porção do prato basal (caule), os quais foram imersos em solução de hipoclorito de sódio (1,00 % de cloro ativo) durante 15 minutos e lavados em água destilada deionizada e autoclavada. Os explantes foram inoculados em meio Murashige & Skoog (1962) (MS) e mantidos no escuro à 25 ± 2 °C, durante 30 dias. Após, os explantes foram transferidos para meio de cultura para indução de gemas vegetativas. Este meio foi composto de sais MS, 1231,97 μM de fosfato de sódio monohidratado, 84,0 μM de adenina sulfato, ANA (0,00; 0,20 e 1,00 μM) e BAP (0,20; 1,00 e 4,00 μM). As culturas foram incubadas em ambiente com fotoperíodo de 16 horas de luz e irradiância de $40 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$, à 25 ± 2 °C. Após 60 dias, as brotações foram individualizadas e transferidas para o meio de cultura MS suplementado com ANA (1,00 μM) e BAP (10,00, 14,00 e 30,00 μM). As culturas foram incubadas nas mesmas condições descritas anteriormente. A cada 30 dias, foi realizada a renovação do meio. Foram utilizadas nove repetições constituídas por dois frascos com dois explantes cada. O delineamento experimental utilizado foi completamente casualizado. Foram avaliados o número de brotações foliares, de bulbos e de raízes produzidos nos explantes primários e sobre os brotos na fase de multiplicação. Os dados foram transformados em $\log(Y+1)$ e a análise dos resultados foi efetuada com auxílio do software estatístico SAEG 9.1. Os dados foram submetidos à análise da variância e quando detectados efeitos significativos, a comparação de médias foi realizada pelo teste DMS.

Resultados e Discussão

A produção de brotações sobre os explantes de segmentos de bulbo de *H. aulicum* variaram conforme o balanço entre auxina e citocinina utilizado, sendo que com 1,0 μM de ANA e 0,20 μM de BAP foi observada a maior produção de brotações foliares e de bulbos (Tabela 1). Apenas nos explantes inoculados no meio suplementado com 0,20 μM de BAP, sem adição de auxina, não foi observada a formação de bulbos (Tabela 1). Estes resultados estão de acordo com George (1996),



quanto à necessidade de adicionar auxinas e citocininas ao meio de cultura para organogênese em explantes de bulbos em *Hippeastrum*.

Tabela 1 Número de brotações foliares, bulbos e raízes produzidas por explante de segmentos de bulbo de *Hippeastrum aulicum*, aos 60 dias em meio MS suplementado com ANA e BAP.

ANA (μM)	BAP (μM)	Número de brotações foliares	Número de bulbos	Número de raízes
0,00	0,20	1,50de	0,00	1,50c
	1,00	1,24e	0,50e	3,00b
	4,00	2,83c	1,24cd	3,01b
0,20	0,20	1,49de	0,50e	3,00b
	1,00	1,99d	1,09d	2,64b
	4,00	5,58b	2,39b	7,03a
1,00	0,20	11,45a	11,06a	7,00a
	1,00	1,50de	1,50c	2,50b
	4,00	5,00b	1,50c	0,00

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste DMS a 5% de probabilidade

Apesar de o meio de cultura contendo 1,0 μM de ANA e 0,20 μM de BAP resultar nos maiores valores de produção de brotações foliares e de bulbos, o balanço de 1,0 μM de ANA e 4,00 μM de BAP resultou em brotações mais vigorosas (dados não mensurados) sendo por isto, considerado o melhor meio de cultura para a fase de indução de brotações.

Aos 90 dias da transferência dos brotos para os meios de cultura utilizados na fase de multiplicação, não foram verificadas diferenças na produção de brotações foliares e de bulbos nos meios testados, sendo observadas diferenças apenas sobre o número de raízes produzidas (Tabela 2).

Tabela 2 Número de brotações foliares, bulbos e raízes por explante de segmentos de bulbo de *Hippeastrum aulicum*, após 30, 60 e 90 dias em meio de cultura MS suplementado com 1,0 μM de ANA e diferentes concentrações de BAP.

BAP (μM)	Número de brotações foliares			Número de bulbos			Número de raízes		
	30	60	90	30	60	90	30	60	90
10	B 2,90a	A 3,56a	A 4,42a	A 1,00a	A 1,30a	A 1,33a	-	B 3,55a	A 4,80a
15	B 3,00a	B 3,57a	A 4,83a	A 1,07a	A 1,33a	A 1,42a	-	A 3,33a	A 4,00b
30	B 2,40a	A 3,73a	A 4,10a	A 1,09a	A 1,30a	A 1,40a	-	A 3,07b	A 3,56c

Médias precedidas e seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste DMS a 5% de probabilidade, quando comparados os períodos de avaliação e os efeitos dos tratamentos, respectivamente

A dormência dos bulbos e a forte dominância apical da gema principal são frequentemente associadas a diminuição na produção de brotações *in vitro* (GEORGE, 1996). Assim sendo, é possível



que estes fatores tenham alguma relação com a ausência na resposta às concentrações de BAP utilizadas, quanto ao número de brotações foliares e de bulbos. No entanto, os meios testados proporcionaram uma elevada produção de propágulos quando comparados com resultados de outros autores. Tombolato et al. (2001) obtiveram o maior número de bulbos (0,92 a 1,60 bulbos) em explantes de bainha foliar de *H. hybridum* com a utilização de BAP nas concentrações entre 44,00 e 88,00 μM com ou sem a suplementação de AIA ao meio de cultura. No presente trabalho, a utilização de 30,00 μM de BAP mostrou uma tendência em reduzir o número de brotações e de bulbos por explante (Tabela 2). Isto pode indicar a aproximação de uma concentração limite de BAP para indução de brotações nesta espécie.

Conclusão

Conclui-se que a micropropagação a partir de segmentos de bulbo é uma técnica viável para a propagação de *H. aulicum*, sendo que o meio de cultura mais adequado para indução de brotações foi o MS suplementado com 1,00 μM de ANA e 4,00 μM de BAP. Na fase de multiplicação, o número de brotações foliares e de bulbos não diferiu com os tratamentos utilizados.

Agradecimentos

A CAPES e ao CNPq pelo apoio financeiro.

Referências Bibliográficas

- ANDRADE, J.P. de. **Análise química e biológica em alcalóides do gênero *Hippeastrum* (Amaryllidaceae)**. 2007. 102p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.
- GEORGE, E.F. **Plant Propagation by tissue culture: In Practice**. 2.ed. England: Exergetics, 1996. 1361p.
- MURASHIGE, T; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, v.15, p.473-497, 1962.
- TOMBOLATO, A.F.C.; COSTA, A.M.M.; EGLIT, A.C. Micropropagação de *Hippeastrum hybridum* ‘Apple Blossom’ mediante escamas duplas. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, v.7, n.1, p.35-40, 2001.