



ÁCIDO NAFTALENOACÉTICO NO ENRAIZAMENTO *IN VITRO* DE *Dendrobium phalaenopsis* FITZGERALD

José Carlos Sorgato¹, Camila Soares Rosa Lemes¹, Walquíria Bigatão Ramos¹,
Jackeline Schultz Soares², Yara Brito Chaim Jardim Rosa³

1. Discentes do Programa de Pós Graduação em Agronomia da Faculdade de Ciências Agrárias/FCA da Universidade Federal da Grande Dourados/UFGD (jc_sorgato@hotmail.com).
2. Discente do Programa de Pós Graduação em Recursos Naturais da Universidade Estadual do Mato Grosso do Sul/ UEMS.
3. Docente da FCA da UFGD. Caixa Postal 533, 79804-970 Dourados-MS, Brasil.

Recebido em: 12/04/2014 – Aprovado em: 27/05/2014 – Publicado em: 01/07/2014

RESUMO

As técnicas de cultivo *in vitro* são utilizadas para a multiplicação de várias espécies vegetais, sendo que a adição de reguladores de crescimento aos meios nutritivos pode favorecer seu sucesso. Objetivou-se estudar o efeito do ácido naftalenoacético no enraizamento *in vitro* de *Dendrobium phalaenopsis* Fitzgerald. Utilizou-se delineamento experimental inteiramente casualizado, com 5 tratamentos constituídos pelas concentrações 0,0; 0,5; 1,0; 2,0 e 4,0 mg L⁻¹ de ANA, com 4 repetições. Após 60 dias de cultivo, cada planta foi avaliada quanto à sobrevivência, número de brotações, de folhas emitidas e de raízes, comprimento da maior raiz, comprimento da parte aérea, massa fresca da planta, da parte aérea e das raízes, massa seca da planta, da parte aérea e das raízes. Todas as plantas utilizadas no experimento sobreviveram e a presença de ANA no meio de cultivo influenciou o enraizamento *in vitro* de *Dendrobium phalaenopsis*, sendo a melhor concentração a de 3,2 mg L⁻¹.

PALAVRAS-CHAVE: Cultivo *in vitro*, Orchidaceae, regulador de crescimento.

NAPHTHALENEACETIC ACID ON *IN VITRO* ROOTING OF *Dendrobium phalaenopsis* FITZGERALD

ABSTRACT

Cultivation techniques are used for *in vitro* multiplication of various plant species and the addition of growth regulators to nutrient media can promote their success. Aimed to study the effect of naphthaleneacetic acid on *in vitro* rooting of *Dendrobium phalaenopsis* Fitzgerald. The experimental design was randomized with 5 treatments consisted of concentrations 0.0; 0.5; 1.0; 2.0 and 4.0 mg L⁻¹ NAA, with 4 replications. After 60 days of culture, each plant was evaluated for survival, number of shoots, the leaves and roots emitted, longest root length, shoot length, fresh weight of the plant, the shoots and roots dry mass of plant, the shoots and roots. All plants used in the experiment survived and the presence of ANA in the culture medium affected the rooting of *Dendrobium phalaenopsis*, being the optimal concentration 3.2 mg L⁻¹.

KEYWORDS: Orchidaceae, growth regulator, *in vitro* cultivation

INTRODUÇÃO

Há séculos, as plantas da família Orchidaceae vêm sendo cultivadas pelo homem principalmente pelo seu potencial ornamental. Segundo JUNQUEIRA & PEETZ (2014), em 2013, houve um aumento de 21,05% na importação de mudas de orquídeas em relação ao ano anterior, o que demonstra o aumento do consumo dessas flores no mercado doméstico. No Brasil, dentre as orquídeas mais comercializadas estão as do gênero, *Cattleya*, *Cymbidium*, *Dendrobium*, *Phalaenopsis* e *Vanda* (MATTIUZ et al., 2006; FARIA, 2012; JUNQUEIRA & PEETZ, 2014).

A espécie de orquídea *Dendrobium phalaenopsis* Fitzgerald é exótica e adaptada ao estado do Mato Grosso do Sul e está entre as mais populares plantas de corte do comércio mundial de flores (MEN et al., 2003). As técnicas de cultivo *in vitro* são utilizadas como instrumento para a multiplicação de várias espécies vegetais, incluindo as orquidáceas, sendo uma ferramenta biotecnológica importante na obtenção de plantas, tanto para obtenção de mudas destinadas a pesquisa e preservação das espécies quanto para a produção em escala comercial. Essas técnicas permitem a rápida multiplicação das plantas, obtendo mudas em maior quantidade e qualidade fitossanitária, sendo produzidas em curto espaço de tempo e em pequena área cultivada (BOSA et al., 2003).

A adição de reguladores de crescimento aos meios nutritivos pode favorecer o sucesso da propagação *in vitro*, pois estes suprem as deficiências dos teores endógenos de fitorreguladores (GEORGE & SHERRINGTON, 1984). O ácido naftalenoacético (ANA) compõe o grupo de auxinas sintéticas que apresentam considerável importância agrícola, sendo utilizado em diversas técnicas para enraizamento de plantas, possuindo importante papel em protocolos de cultivo *in vitro* (CID & TEIXEIRA, 2010; MERCIER, 2012).

Para a maioria das espécies de orquídeas, o meio de cultivo suplementado com auxina pode promover o enraizamento e, a qualidade das raízes formadas é de suma importância, pois um sistema radicular saudável é vital para a sobrevivência e adaptação de plantas cultivadas *in vitro* quando submetidas às condições *ex vitro* (COSTA et al., 2009; LIU et al., 2013).

Diversos trabalhos foram realizados com espécies de orquídeas, elucidando a importância das auxinas sobre o enraizamento das plantas cultivadas *in vitro*. XIANG et al. (2003) observaram que houve maior taxa de sobrevivência de plantas de *Cymbidium sinensis* quando estas foram aclimatizadas após a indução do enraizamento *in vitro* obtido com 1 mg L⁻¹ de ANA. SOUTO et al. (2010) observaram que a adição de 0,5 e 1,0 mg L⁻¹ de ANA ao meio Knudson C possibilitou aumento significativo na formação de raízes e folhas de *Cattleya bicolor*, e a ausência de ANA mostrou-se significativamente inibitória ao desenvolvimento radicular. NASIRUDDIN et al. (2003) em estudo com plantas de *Dendrobium formosum*, cultivadas em meio MS, observaram que o ANA na dose 2 mg L⁻¹ apresentou valores de crescimento e número de raízes por planta significativamente maiores que os apresentados pelo tratamento sem adição do regulador. Em plantas de *Vanda helvola* cultivadas em meio Knudson C, a adição de ANA nas doses de 0,5; 1,0 e 2,0 mg L⁻¹ propiciou a formação de folhas e raízes em protocormos, após 120 dias de cultivo (DAVID et al., 2008). SILVA et al. (2013) obtiveram aumento no número de raízes e brotos de *Cyrtopodium saintlegerianum* quando utilizaram 2,0 mg L⁻¹ de ANA ou AIB adicionado ao meio de cultivo.

Diante do exposto, objetivou-se com este trabalho estudar o efeito de diferentes concentrações de ácido naftalenoacético no enraizamento *in vitro* de *Dendrobium phalaenopsis* Fitzgerald.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Laboratório de cultivo *in vitro* da Faculdade de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Grande Dourados; plantas de *Dendrobium phalaenopsis* Fitzgerald, com 1,0 cm de altura e providas de duas folhas, oriundas de semeadura *in vitro*, com 120 dias de cultivo em meio MS ½ foram utilizadas como material de estudo. As raízes, quando existentes, foram extraídas para facilitar a quantificação de raízes neoformadas.

Foi utilizado como meio de cultura o MS ½ acrescido de ANA nas concentrações de 0,0; 0,5; 1,0; 2,0 e 4,0 mg L⁻¹ e suplementado com 30 g L⁻¹ de sacarose, 5,5 g L⁻¹ de ágar bacteriológico. O pH foi ajustado para 5,8 ± 0,1 com KOH (1 M). Foram utilizados como frascos de cultivo, recipientes de polipropileno transparente, providos de tampa rosqueável, com capacidade para 50 mL, que após receberem 20 mL de um dos meios nutritivos, foram esterilizados em autoclave a 120°C e à pressão de 1,05 kg cm⁻² por 20 minutos.

Após o resfriamento dos meios de cultura, os frascos foram transferidos para ambiente asséptico, e cada um deles recebeu uma planta. Na sequência, os frascos foram tampados e as culturas foram acondicionadas em sala de crescimento, com temperatura média 25 ± 2 °C e fotoperíodo de 12 h produzido por luz fluorescente branca produzida por duas lâmpadas de 40 W (19 μmol m⁻² s⁻¹).

Cada tratamento foi composto por quatro repetições constituídas de 10 frascos de cultivo, totalizando 40 plantas por tratamento. Aos 60 dias de cultivo, as plantas foram retiradas dos frascos de cultivo, lavadas em água corrente até total remoção do meio de cultura. A seguir cada planta foi avaliada quanto às características: sobrevivência, número de brotações, de folhas emitidas e de raízes, comprimento da maior raiz, comprimento da parte aérea, massa fresca da planta, da parte aérea e das raízes, massa seca da planta, da parte aérea e das raízes.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com cinco tratamentos e quatro repetições. Todas as características foram avaliadas por meio de análise de variância até o nível de 5 % de probabilidade e submetidas à análise de regressão com a utilização do aplicativo computacional SISVAR 5.1 (FERREIRA, 2010).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Todas as plantas utilizadas no experimento sobreviveram aos tratamentos a que foram submetidas. Houve efeito significativo ($p < 0,05$) das concentrações de ANA adicionadas ao meio nutritivo sobre o número de folhas emitidas (NFE), número de bulbos (NB), número de raízes (NR), comprimento da parte aérea (CPA) (Figura 1), massa fresca das raízes (MFR), massa seca da parte aérea (MSPA) e massa seca da planta (MSP) (Figura 2).

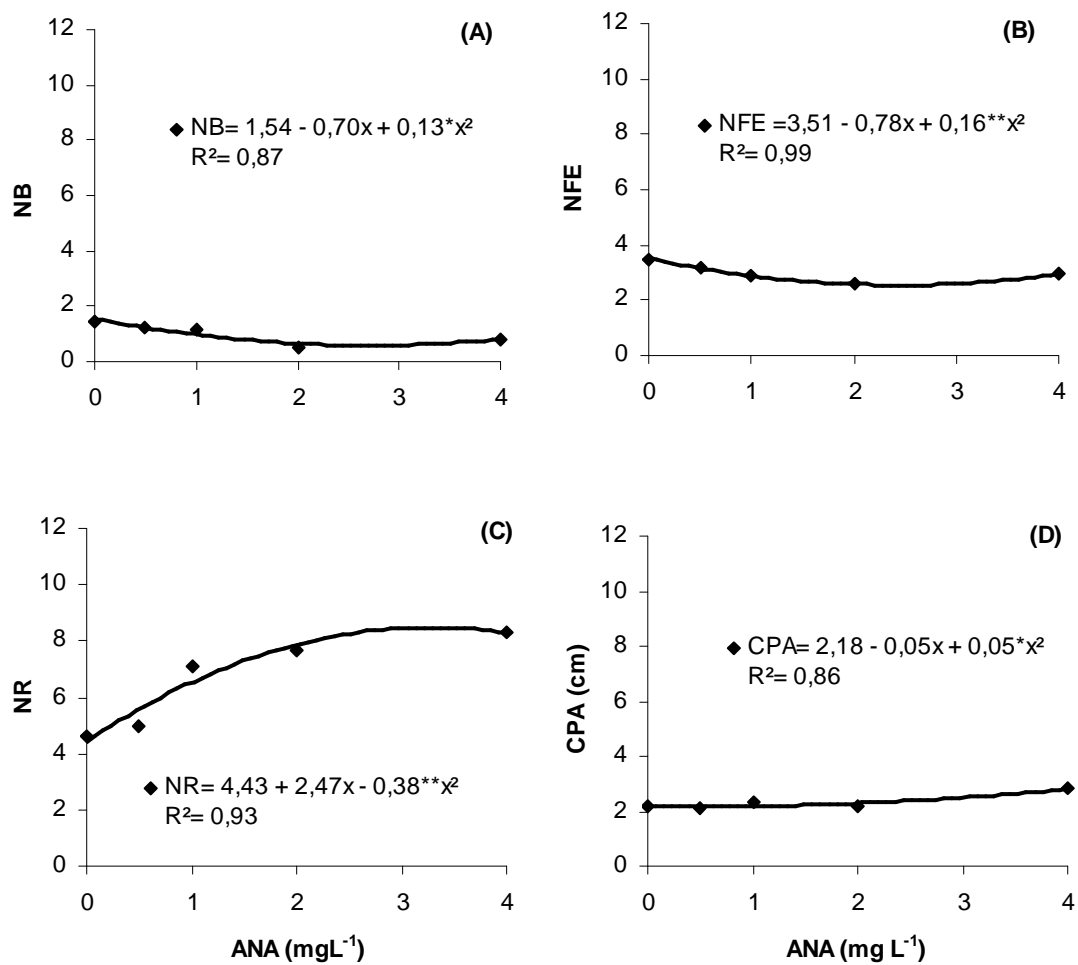
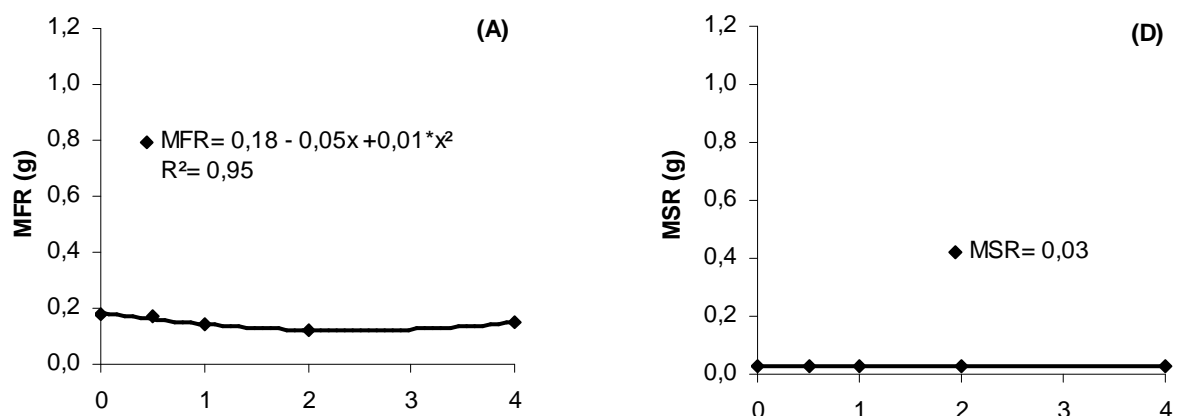


FIGURA 1. Número de bulbos (NB), de folhas emitidas (NFE), de raízes (NR) e comprimento da parte aérea (CPA) de *Dendrobium phalaenopsis* após 60 dias de cultivo *in vitro*, submetidas a diferentes concentrações de ANA. Dourados, UFGD, 2014.



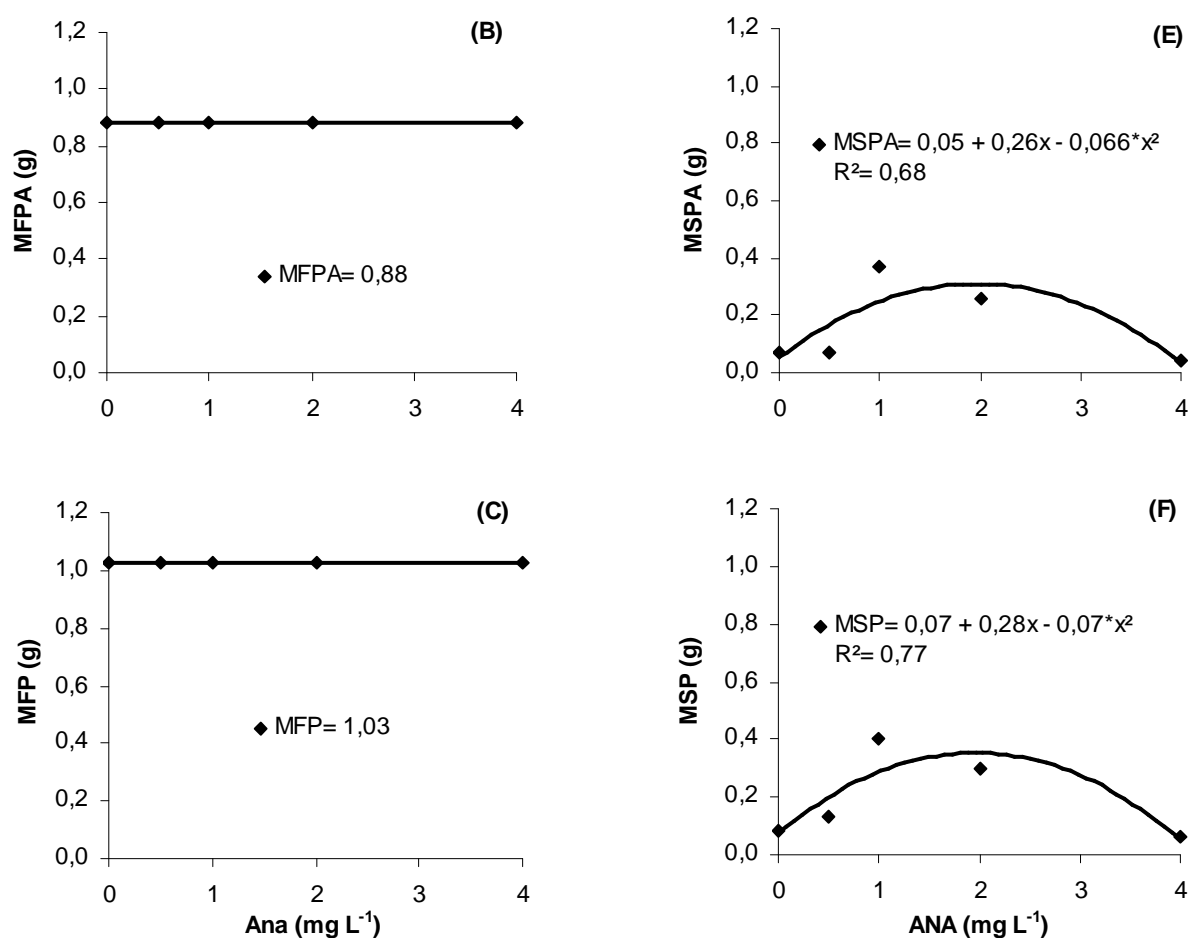


FIGURA 2. Massa fresca da raiz (MFR), da parte aérea (MFWPA) e da planta (MFP), massa seca da raiz (MSR), da parte aérea (MSPA) e da planta (MSP) de *Dendrobium phalaenopsis* após 60 dias de cultivo *in vitro*, submetidas a diferentes concentrações de ANA. Dourados, UFGD, 2014.

Para as demais variáveis não houve efeito dos tratamentos ($p > 0,05$), sendo observados os seguintes valores médios: comprimento da maior raiz (CMR) de 0,99 cm; massa fresca parte aérea (MFWPA) de 0,88 g; massa seca da raiz (MSR) de 0,03 g e massa fresca da planta (MFP) de 0,20 g.

Houve aumento no número de raízes por planta com o aumento das doses do regulador de crescimento, sendo o maior número (8,4) obtido com a dose de 3,2 mg L⁻¹ de ANA. Doses de 2,5 e 2,7 mg L⁻¹ propiciaram o menor número de folhas emitidas (2,6) e o menor número de brotos (0,6), respectivamente, enquanto que a utilização de 4,0 mg L⁻¹ de ANA propiciou o maior comprimento da parte aérea (2,8 cm).

Estes resultados permitem inferir que doses em torno de 3,0 mg L⁻¹ propiciam a formação de raízes em *D. phalaenopsis* em detrimento da formação de novos brotos e folhas. Entretanto as plantas cultivadas nessa concentração apresentaram maior comprimento de parte aérea. Plantas com maior número de raízes e maior comprimento de parte aérea respondem melhor ao processo de aclimatização *ex vitro*, já que a formação de maior quantidade de raízes possibilitaria aumento da absorção de água, compensando a perda de água devido à pequena espessura da cutícula no início do processo de aclimatização (DEWIR et al., 2005)

Embora as auxinas estejam mais relacionadas à indução e formação de raízes (HAISSIG, 1972), seus efeitos sobre as plantas variam em função da espécie e das concentrações estudadas. Em algumas espécies, o aumento da sua concentração propicia a indução de brotos em detrimento das raízes, como relatado por ORI (2006) *Phalaenopsis amabilis* (Orchidaceae) apresentou maior brotação e menor emissão de raízes quando cultivada na presença 5 mg L⁻¹ de ANA. Em contrapartida SOUTO et al. (2010), relataram que plantas de *Cattleya bicolor* cultivadas *in vitro* apresentaram maior número de raízes e de folhas na presença de 1,0 mg L⁻¹ de ANA.

As diferenças nas respostas de crescimento podem estar, segundo SOUTO et al. (2010), relacionadas com o estágio fisiológico da espécie que responde diferentemente às concentrações utilizadas dos reguladores de crescimento e da aptidão dos tecidos ou células a receberem este estímulo.

Em relação à massa fresca e seca das plantas (Figura 2), a massa fresca das raízes foi menor com a utilização de 2,5 mg L⁻¹, dose esta bastante próxima àquela que propiciou o maior número de raízes. Esses resultados permitem inferir que a atuação do regulador de crescimento em concentrações entre 2,5 e 3,2 mg L⁻¹ está mais ligada à formação de novas raízes do que ao acréscimo de massa das mesmas.

Aliado a este fator a massa seca da parte aérea e das plantas (Figura 2 E e F) apresentaram seus maiores resultados com a utilização de 2,0 mg L⁻¹ de ANA, o que permite inferir que doses de 2,0 a 3,2 mg L⁻¹ estimulam a formação de raízes, mas estas destinam-se mais à absorção de água e sais minerais que após serem metabolizados irão promover o aumento em massa da parte aérea da planta e não do sistema radicular.

A ação de ANA como promotor de aumento em massa do sistema radicular também é contraditória. Enquanto nesse trabalho doses em torno de 2,5 mg L⁻¹ promoveram menor massa fresca de raízes, ORI (2006) obtiveram maior massa fresca e seca de raízes de *P. amabilis* com a utilização de 0,2 mg L⁻¹ de ANA e a menor com 5,0.

No processo de aclimação, o número de raízes bem como a altura da planta e o número de brotações são fatores decisivos para a sobrevivência das plântulas. As raízes além dos processos de absorção de água e nutrientes são também responsáveis pela fixação das plantas nos substratos e na maioria das espécies são órgãos armazenadores de água assim como os pseudocaulos (brotações). Quanto maiores e mais desenvolvidos maior a chance de sobrevivência das plantas *ex vitro*.

CONCLUSÃO

O enraizamento *in vitro* de *Dendrobium phalaenopsis* é influenciado pela presença de ácido naftalenoacético no meio MS ½, sendo a melhor concentração a de 3,2 mg L⁻¹.

REFERÊNCIAS

BOSA, N.; CALVETE, E. O.; NIENOW, A. A.; SUZIN, M. 2003. Enraizamento e aclimatização de plantas micropropagadas de gipsofila. **Horticultura Brasileira**, v. 21, p.207-210.

CID, L. P. B.; TEIXEIRA, J. B. 2010. **Explante, meio nutritivo, luz e temperatura**. In: CID, L. P. B. (Ed.). Cultivo in vitro de Plantas. Brasília: Embrapa. p. 15-49.

COSTA, M. A. P. C.; PEREIRA, M. J.; ROCHA, M. A.; HANSEN, D. S.; ALVES, R. M. O.; SOUZA, E. H.; GARCIA, F. R. 2009. **Micropropagação de Orquídea**. In: JUNGHANS, T. G.; SOUZA, A. S. Aspectos Práticos da Micropropagação de Plantas. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical. p.351-370.

DAVID, D.; GANSAU, J. A. & ABDULLAH, J. O. 2008. Effect of NAA and BAP on protocorm proliferation of Borneo Scented Orchid, *Vanda helvola*. **As. Pac J. Mol. Biol. Biotchnol**, n.16, v.3, p.221-224.

DEWIR, Y. H.; CHAKRABARTY, D.; ALI, M. B.; HAHN, E. J; PAEK, K. Y. 2005. Effects of hydroponic solution EC, substrates, PPF and nutrient scheduling on growth and photosynthetic competence nutrient scheduling on growth and photosynthetic competence during acclimatization of micropropagated *Spathiphyllum plantlets*. **Plant Growth Regulation**, v.46, p.241-251.

FARIA, R. T. **Produção de orquídeas em laboratório**. 2012. Londrina: Mecenaz, 124p.

FERREIRA, D. F. 2010. **Programa de análises estatísticas (Statistical Analysis Software) e planejamento de experimentos – SISVAR 5.3**. Universidade Federal de Lavras.

GEORGE, E. F.; SHERRINGTON, P.D. 1984. **Plant propagation by Tissue Culture**. Eastern Press. England.

HAISSIG, B. E. 1972. Meristematic activity during adventitious root primordium development: influences of endogenous auxin and applied gibberellic acid. **Plant Physiology**, v.49, p.886-892.1972.

JUNQUEIRA, A.H.; PEETZ, M. da S. 2014. **Balço do comércio exterior da floricultura brasileira**. Hórtica - Contexto & Perspectivas. Disponível em http://www.hortica.com.br/artigos/2014/2013_Comercio_Exterior_Floricultura.pdf. Acesso em: 21 de março de 2014.

Liu, H.; Luo, Y-B.; Liu, Z-J. 2013. Using guided commercialized cultivation models to promote species conservation and sustainable utilization: an example from the Chinese medicinal orchids. **Biodivers Sci**, v.21, p.132–135. 2013.

MATTIUZ, C. F. M.; RODRIGUES, T. J. D.; MATTIUZ, B. 2006. Aspectos fisiológicos de orquídeas cortadas. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, Campinas, v.12, p.21-30.2006.

MERCIER, H. 2012. Auxinas. In: KERBAUY, G.B. (ed.) **Fisiologia Vegetal**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 431p.

MEN, S; MING, X; WANG, Y; LIU, R; WEI, C; LI, Y. 2003. Genetic transformation of two species of orchid by biolistic bombardment. **Plant Cell Reports**, v.21, p.592-598.2003.

NASIRUDDIN, K. M.; BEGUM, R.; YASMIN, S. 2003. Protocorm like Bodies and Plantlet Regeneration from *Dendrobium formosum* Leaf Callus. **Asian J. Plant Science**, v.2, n.13, p. 955-957.2003.

ORI, S. S. **Influência das auxinas no desenvolvimento e no teor de carboidratos solúveis, amido e proteína total solúvel em *Phalaenopsis amabilis* (Lineu) Blume (Orchidaceae) cultivada *in vitro***. 2006. Dissertação (Mestrado em Biodiversidade Vegetal) – Instituto de Botânica do Estado de São Paulo, São Paulo.

SILVA, D. M.; CARNEIRO, L. L.; MENDES, D. J.; SIBOV, S. T. Efeito das auxinas ácido naftaleno acético e ácido indol butírico no desenvolvimento *in vitro* de plântulas de *Cyrtopodium saintlegerianum* Rchb. f. (orchidaceae). **Enciclopédia biosfera**, Centro Científico Saber. Goiânia, v.9, n.16,2013.852 p.

SOUTO, J. S.; MORIMOTO, J. M.; FERREIRA, W. M.; NAKABASHI, M.; SUZUKI, M. Efeitos do ácido naftalenoacético no desenvolvimento in vitro de *Cattleya bicolor* Lindl. (Orchidaceae). **Revista Brasileira de Biociências**, v. 8, p.179-185.2010.

XIANG, Y.; YU, F.; PENG, Z. **Tissue culture of *Cymbidium sinensis***. Forest Research, v.16, p.434-438.2003.

WETZSTEIN, H. Y.; SOMMER, H. E. Leaf anatomy of tissue-cultured *Hiquidambar stryaciflua* (Hamamelidaceae) during acclimatization. **American Journal of Botany**, v.69, p.1579-1586. 1982.