



COINTER PDVAgro 2020

V CONGRESSO INTERNACIONAL DAS CIÊNCIAS AGRÁRIAS

Edição 100% virtual | 02 a 05 de dezembro

ISSN:2526-7701 | PREFIXO DOI:10.31692/2526-7701

CRESCIMENTO E DESENVOLVIMENTO *IN VITRO* DE PLÂNTULAS DE DUAS ORQUÍDEAS BRASILEIRAS SOB INFLUÊNCIA DE PACLOBUTRAZOL

CRECIMIENTO Y DESARROLLO *IN VITRO* DE PLANTALLAS DE DOS ORQUÍDEAS BRASILEÑAS BAJO LA INFLUENCIA DE PACLOBUTRAZOL

IN VITRO GROWTH AND DEVELOPMENT OF SEEDLINGS OF TWO BRAZILIAN ORCHIDS UNDER THE INFLUENCE OF PACLOBUTRAZOL

Apresentação: Pôster

Larissa Benetasso Chioda¹; Guilherme Rodrigues Vieira²; Suzana Targanski Sajovic Pereira³; Marina Romano Nogueira⁴; Kathia Fernandes Lopes Pivetta⁵

INTRODUÇÃO

Comercialmente e em larga escala, as orquídeas são multiplicadas por meio de micropropagação ou sementeira *in vitro*. Após serem cultivadas *in vitro*, as plântulas são levadas para a fase *ex vitro*, onde as condições não são controladas, podendo gerar estresse; assim, a taxa de sobrevivência é baixa e por isso faz-se o uso de algumas substâncias, como o paclobutrazol, para minimizar esses efeitos.

O paclobutrazol (PBZ) é um regulador de crescimento da classe dos triazóis, cujo mecanismo de ação causa alterações no equilíbrio hormonal das plantas (FLETCHER et al., 2000) gerando alterações morfofisiológicas benéficas que reduzem o estresse e auxiliam na sobrevivência de plântulas produzidas *in vitro* quando transferidas para a fase *ex vitro*.

Esta pesquisa teve como objetivo avaliar os efeitos da suplementação do meio de cultivo com paclobutrazol, no crescimento e desenvolvimento *in vitro* de plântulas de *Myrmecophila tibicinis* e *Epidendrum difforme*, orquídeas brasileiras com grande potencial ornamental.

¹ Graduação em Engenharia Agrônoma, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, larissabchioda@hotmail.com

² Pós graduação em Produção Vegetal, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, claumargui@gmail.com

³ Doutora em Produção Vegetal, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, suzana_tsp@hotmail.com

⁴ Pós graduação, Universidade Federal de Lavras, marinaromanonogueira@hotmail.com

⁵ Profa. Dra., Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, kathia@fcav.unesp.br

FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

Dentre as formas de multiplicação das orquídeas, a semeadura *in vitro* e a micropropagação são as mais utilizadas comercialmente; neste processo, as plântulas se desenvolvem em um meio nutritivo artificial, em condições assépticas e com controle dos fatores do ambiente, posteriormente são transferidas para condições *ex vitro*, fase denominada de aclimatização, onde as condições ambientais para o crescimento são bastante diferentes, havendo uma alta taxa de mortalidade de plântulas (HAZARIKA, 2006; DEB e IMCHEN, 2010).

O uso do paclobutrazol (PBZ) no cultivo *in vitro* pode ser uma alternativa para maior sucesso na aclimatização de mudas, contribuindo para adaptação rápida e altas taxas de sobrevivência (KOZAK, 2006; THAKUR et al., 2006) e para retardar o crescimento das plântulas e aumentar a resistência ao estresse hídrico (WEN et al., 2013).

A utilização de diferentes concentrações de PBZ em meio de cultura resultou em plântulas de orquídea *Dendrobium* sp. com internódios mais curtos e caules mais grossos, demonstrando caules mais fortes (TE-CHATO et al., 2009).

METODOLOGIA

Foi realizada pesquisa de caráter quantitativo. O experimento foi conduzido pelo método de cultivo *in vitro* no Laboratório de Cultura de Tecidos de Plantas Ornamentais da Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV), Jaboticabal, São Paulo, a partir de sementes de *Myrmecophila tibicinis* e *Epidendrum difforme* cujos frutos foram coletados na coleção de orquídeas da UNESP/FCAV.

Para ambas as espécies, o delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado; foram cinco tratamentos (quatro concentrações de PBZ: 0,5; 1,0; 1,5 e 2,0 mg L⁻¹ e ausência de PBZ - controle) e cinco repetições com 5 plântulas/parcela.

As sementes das duas espécies foram semeadas em meio de cultura MS ½ (na metade de seus macronutrientes), contendo 30 g L⁻¹ de sacarose, 6 g L⁻¹ de ágar e pH ajustado para 5,8. Os frascos de vidro com as sementes permaneceram em sala de crescimento por seis meses, em intensidade luminosa incidente de 40 µmol m⁻² s⁻¹ utilizando lâmpadas fluorescentes de 20 w; fotoperíodo de 16 horas e temperatura controlada de 25 ± 2,0 °C. Após este período, foram selecionadas plântulas de 1,0 ± 0,2 cm para serem colocadas em meio MS ½, 6 g L⁻¹ de ágar e 30 g L⁻¹ de sacarose, por um mês.

Ao final de 30 dias, as plântulas foram transferidas para os respectivos tratamentos. O meio de cultura MS foi renovado a cada 30 dias durante três meses, contendo as devidas

concentrações de PBZ, 30 g L⁻¹ de sacarose e 6 g L⁻¹ de ágar.

Após 90 dias de cultivo *in vitro* nos meios contendo diferentes concentrações de PBZ, foram avaliadas em cinco plântulas/parcela as seguintes características: comprimento da parte aérea (mm); número de brotos; número de folhas; área foliar (cm²); número, comprimento médio e diâmetro médio das raízes (mm) e massa seca da parte aérea e das raízes (g), onde as plantas foram retiradas dos frascos (*in vitro*) e separadas em sistema radicular e parte aérea, embaladas em sacos de papel e colocadas em estufa a 65 °C, até atingirem peso constante.

Os dados foram submetidos à análise de regressão polinomial a fim de verificar o comportamento das variáveis em função do aumento da concentração de PBZ, empregando o software estatístico AgroEstat® (BARBOSA e MALDONADO JÚNIOR, 2015). Para *Epidendrum difforme* foi feita avaliação até 1,5 mg L⁻¹ de PBZ devido a perdas por contaminação na concentração de 2,0 mg L⁻¹.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

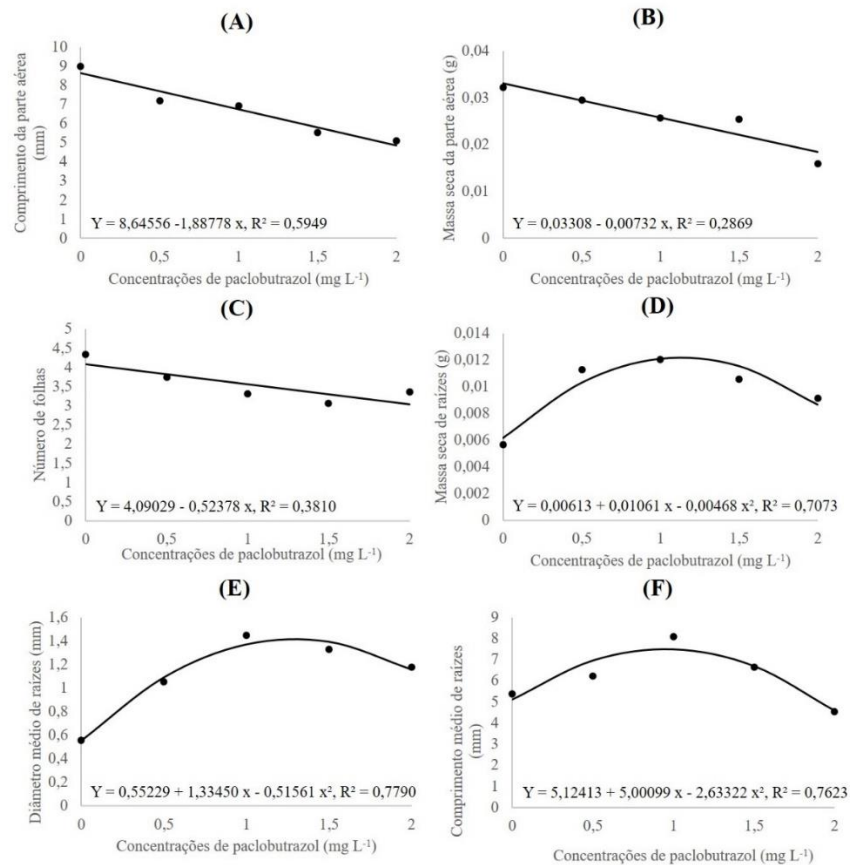
Para a orquídea *Myrmecophila tibicinis*, houve ajuste de regressão linear negativa para comprimento da parte aérea (Figura 1A), massa seca da parte aérea (Figura 1B) e número de folhas (Figura 1C). Houve ajuste de regressão quadrática para massa seca de raízes (Figura 1D), diâmetro médio de raízes (Figura 1E) e comprimento médio de raízes (Figura 1F) sendo observado, para as três características, maior média na concentração de 1,0 mg L⁻¹. Não houve ajuste de regressão para número de brotos, área foliar e número médio de raízes.

Os resultados obtidos para *Epidendrum difforme* mostram que houve ajuste de regressão linear negativa para comprimento da parte aérea (Figura 2A) e área foliar (Figura 2C); regressão quadrática para e massa seca de parte aérea (Figura 2B) e número de brotos (Figura 2D), onde observa-se maiores médias na ausência de PBZ. Já para diâmetro médio das raízes (Figura 2E) houve ajuste de regressão cúbica sendo maior média observada na concentração de 0,5 mg L⁻¹. Não houve ajuste de regressão para número de folhas e de raízes, comprimento médio e massa seca de raízes.

As menores médias observadas, com uso de PBZ, nos parâmetros relacionados à parte aérea, para ambas as espécies pode ser explicada pela inibição da biossíntese de giberelina (KERBAUY, 2004), que, conseqüentemente reduz o nível de divisão celular (HAZARIKA, 2006), o que leva ao retardo do crescimento e à diminuição da altura da planta, gerando assim, plantas compactas (PICHARDO-RUIZ et al, 2003; BELLO-BELLO et al., 2014), que apresentam melhores chances de sobrevivência (DÍAZ et al., 2010). Rezazadeh et al. (2016), verificaram que a redução da área foliar e da massa seca da planta devido ao uso do PBZ

ajudaram na indução de tolerância à seca em *Odontonema strictum*.

Figura 01: Comprimento da parte aérea (A), número de folhas (B), massa seca da parte aérea (C), comprimento médio de raízes (D), diâmetro médio de raízes (E) e massa seca de raízes (F) de plântulas de *Myrmecophila tibicinis* após 90 dias de cultivo *in vitro* em meio com diferentes concentrações de paclobutrazol.



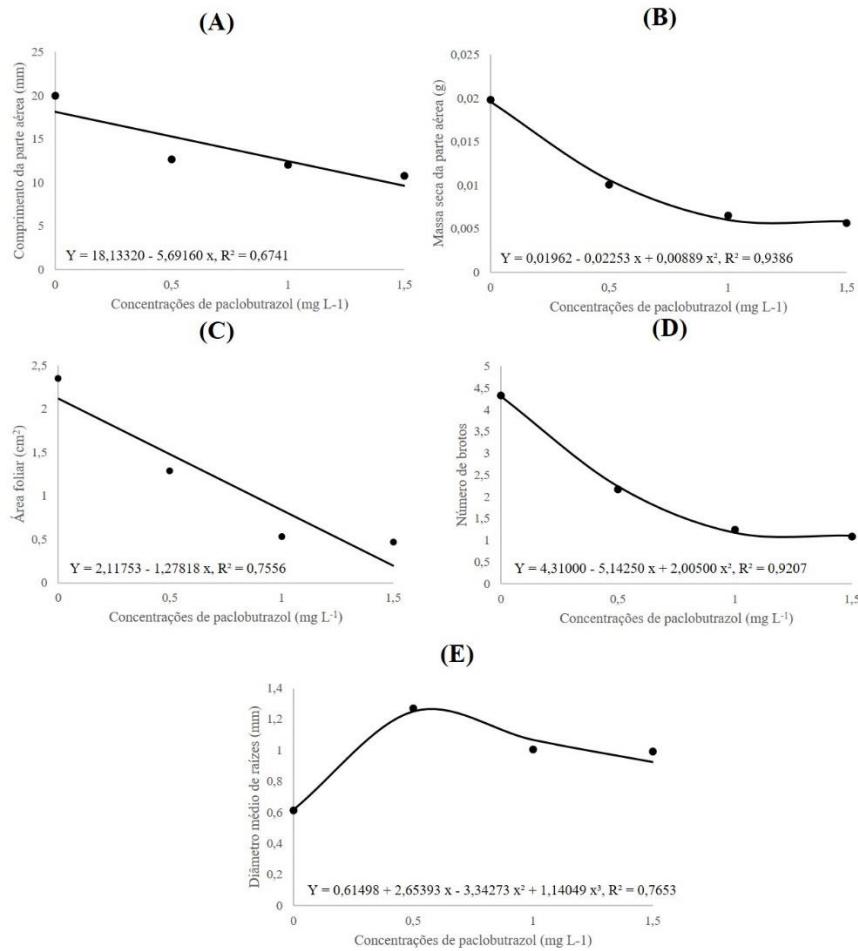
Fonte: Própria (2020).

Já o engrossamento das raízes, observado para na concentração de 1,0 e 0,5 mg L⁻¹, respectivamente para *Myrmecophila tibicinis* e *Epidendrum difforme*, é uma característica muito importante para favorecer o processo de aclimatização das mudas (CANTO et al., 2004).

Semelhante ao encontrado neste estudo, maiores médias de diâmetro de raízes também foram verificados para outras orquídeas, igualmente cultivadas *in vitro* e submetidas a concentrações crescentes de PBZ, como *Dendrobium* sp. (TE-CHATO et al., 2009), *Dendrobium nobile* (WEN et al., 2013) e *Zygopetalum crinitum* (GIMENES et al., 2018).

Ramírez-Mosqueda et al. (2018) notaram que alterações morfofisiológicas nas plântulas de *Laelia anceps* representadas pelo engrossamento do diâmetro das raízes e diminuição dos parâmetros relacionados à parte aérea (comprimento da parte aérea, massa seca da parte aérea, número e brotos, número de folhas e área foliar), por ocasião da suplementação do meio de cultivo com paclobutrazol resultou em maiores taxas de sobrevivência, concordando com o preconizado por Kozak (2006) e Thakur et al. (2006).

Figura 02: Comprimento da parte aérea (A), massa seca da parte aérea (B), área foliar (C), número de brotos (D) e diâmetro médio de raízes (E) de plântulas de *Epidendrum difforme* após 90 dias de cultivo *in vitro* em meio com diferentes concentrações de paclobutrazol.



Fonte: Própria (2020).

CONCLUSÕES

O retardador de crescimento paclobutrazol promoveu alterações morfofisiológicas em plântulas de *Myrmecophila tibicinis* e de *Epidendrum difforme*, respectivamente nas concentrações de 1,0 e 0,5 mg L⁻¹, que podem proporcionar maiores taxas sobrevivência durante a fase de aclimatização.

REFERÊNCIAS

BARBOSA, J. C.; MALDONADO JÚNIOR, R.W. **AgroEstat** - sistema para análises estatísticas de ensaios agrônômicos. Jaboticabal: Unesp, 2015. 396p.

BELLO-BELLO, J. et al. Comparación del efecto de osmorreguladores e inhibidores del crecimiento en la conservación *in Vitro* de caña de azúcar. **Agrociencia**, v.48, p.439-446, 2014.

CRESCIMENTO E DESENVOLVIMENTO *IN VITRO* DE ORQUÍDEAS SOB PACLOBUTRAZOL

CANTO, A. M. M. E.; SOUZA, F. V. D.; COSTA, M. A. C.; SOUZA, A. S.; LEDO, C. A. S.; CABRAL, J. R. S. Conservação *in vitro* de germoplasma de abacaxi tratado com paclobutrazol. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v. 39, n. 7, p. 717-720, 2004.

DEB, C.R.; IMCHEN, T. An efficient *in vitro* hardening technique of tissue culture raised plants. **Biotechnology**, v.9, n.1, p. 79-83, 2010. Disponível em: <<https://scialert.net/abstract/?doi=biotech.2010.79.83>> Acesso em: 02 de set. 2019.

DÍAZ, L.P.; NAMUR, J.J.; BOLLATI, S.A.; ARCE, O.E.A. Acclimatization of *Phalaenopsis* and *Cattleya* Obtained by Micropropagation. **Revista Colombiana de Biotecnología**, v.12, p.27-40, 2010.

FLETCHER, R.A. et al. Triazoles as plant growth regulators and stress protectants. **Horticultural Reviews**. v.24, p. 55–138, 2000.

GIMENES, R. et al. Efeitos do paclobutrazol no crescimento e desenvolvimento *in vitro* e na aclimatização de plântulas de *Zygopetalum crinitum*. **American Journal of Plant Sciences**, v.9, p.1029-1036, 2018.

HAZARIKA, B.N. Morpho-physiological disorders in *in vitro* culture of plants. **Scientia Horticulturae**. v. 108, p.105–120, 2006.

KERBAUY, G. B.; **Fisiologia Vegetal**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004, 452p.

KOZAK, D. The effect of growth retardants applied *in vitro* on the acclimatization and growth of *Tibouchina urvilleana* Cogn. *in vivo*. **Acta Scientiarum Polonorum**, v. 5, p. 65–70, 2006.

PICHARDO-RUIZ, F.D. et al. Cambios morfológicos en plantas De dalia (*Dahlia pinnata* Cav.) Tratadas con Paclobutrazol. **Revista Chapingo Serie Horticultura**, v.9, p.151-161, 2003.

RAMÍREZ-MOSQUEDA, M.A. et al. *In vitro* conservation and regeneration of *Laelia anceps* Lindl. **South African Journal of Botany**, v.121, p.219-223, 2018. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0254629918314091>>. Acesso em: 23 de ago. 2019.

REZAZADEH, A. et al. Effects of Paclobutrazol and Flurprimidol on Water Stress Amelioration in Potted Red Firespike. **HortTechnology**, v.26, n.1, p.26-29, 2016.

TE-CHATO, S. et al. Paclobutrazol enhance budbreak and flowering of Frederick's *Dendrobium* orchid *in vitro*. **Journal of Agricultural Technology**, v. 5, n. 1, p. 157-165, 2009.

THAKUR, R. et al. Regulation of growth of *Lilium* plantlets in liquid medium by application of paclobutrazol or ancymidol, for its amenability in a bioreactor system: growth parameters. **Plant Cell Rep.**, v. 25, n. 5, p. 382–391, 2006.

WEN, Z.Z. et al. Effects of paclobutrazol *in vitro* on transplanting efficiency and root tip development of *Dendrobium nobile*. **Biologia Plantarum**, v.57, n.3, p.576-580, 2013.