

MULTIPLICAÇÃO *IN VITRO* DE PALMA FORRAGEIRA ORELHA DE ELEFANTE

Maria de Fátima Batista Dutra; Magdi Ahmed Ibrahim Aloufa

Universidade Federal do Rio Grande do Norte, mfbdutra@hotmail.com

Introdução

Na região semiárida a estiagem causa sérios prejuízos ao setor agropecuário, a economia regional e ao meio ambiente. Os ecossistemas dessa região são frequentemente fragilizados pela ação do homem, e dependem do manejo sustentável dos sistemas agrícolas, tendo como princípio o uso de plantas adaptadas às condições ambientais (OLIVEIRA *et al.* 2010).

As cactáceas apresentam extrema importância para a sustentabilidade do bioma Caatinga, servindo como fonte de forragem e alimento, especialmente nas épocas de seca prolongada, além de possuírem características de interesse medicinal e ornamental (COELHO *et al.*, 2015).

As principais ameaças relatadas para a cactáceas estão relacionadas à fragmentação do hábitat, principalmente ocasionado pelo desmatamento, desenvolvimento agrícola e diversos tipos de distúrbios ambientais, como o trânsito de pessoas, expansão urbana e pisoteio por animais (BÁRBARA, 2015).

A palma forrageira – *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. – cactácea exótica originária do México (HOFFMANN, 1995), está presente em todos os continentes com diversas finalidades, destacando-se sua utilização na alimentação animal. É um recurso alimentar estratégico para as regiões áridas e semiáridas do Nordeste brasileiro, já que é uma cultura que apresenta aspecto fisiológico especial, suportando prolongados períodos de estiagem (NEVES *et al.*, 2010).

O cultivo da palma forrageira no semiárido brasileiro é uma importante ferramenta na sustentabilidade da pecuária regional. A diversificação de uso desta planta representa uma opção de renda para os habitantes das regiões áridas e semiáridas (OLIVEIRA *et al.*, 2010).

Segundo Lopes (2012), a pecuária é uma atividade que encontra dificuldades tecnológicas na produção de forragens para os rebanhos, tendo como limitações a deficiência hídrica do solo, em associação às altas temperaturas e elevada evapotranspiração.

O cultivo *in vitro* envolve um conjunto de técnicas, mediante as quais células, tecidos, órgãos e plantas inteiras são cultivados de forma asséptica em um meio nutritivo, sob condições controladas (CARVALHO *et al.*, 2011). Entre as suas principais técnicas, podemos citar a micropropagação e a limpeza clonal, utilizadas para produção de plantas livres de patógenos (GEORGE *et al.*, 2008).

Tendo em vista a dificuldade de se conseguir material sadio para propagar a palma, a micropropagação tenta minimizar este problema, utilizando a técnica que consiste em fracionar o cladódio em pequenos segmentos retangulares que, com o devido manejo, podem formar novos indivíduos. Cada cladódio pode chegar a formar, em média, 25 mudas. Essa técnica fora descoberta graças a observação de pedaços cortados para dar aos animais, podiam apresentar, em ambiente à sombra e úmidos, a formação de brotações (LOPES *et al.*, 2012).

Este trabalho tem por objetivo avaliar a eficiência da desinfestação de explantes de palma forrageira orelha de elefante com o uso de diferentes concentrações de cloro ativo (hipoclorito de sódio NaOCl) e testar diversas concentrações de BAP, visando produzir mudas em larga escala de palma forrageira através da micropropagação.

Metodologia

O Trabalho foi conduzido na Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Laboratório de Biotecnologia de conservação de espécies nativas do RN (LABCEN), localizado em Natal, no período de janeiro de 2017 até o momento presente. Foram ministrados estudos preliminares visando ajustar protocolos para o estabelecimento *in vitro* de palma forrageira utilizando-se a variedade 'orelha de elefante'. Cladódios jovens foram selecionados na unidade demonstrativa do banco de raquetes sementes localizados na Estação Experimental da EMPARN, em Terras secas, no município de Pedro Avelino/RN.

Para a limpeza e assepsia das raquetes pré-selecionadas, foram necessários alguns procedimentos tais como lavagem em água corrente com esponja macia e detergente neutro, após esta etapa inicial as raquetes foram levadas para câmara de fluxo laminar, e os cladódios foram fragmentados em pedaços entre 5 a 7 cm. Estes explantes ficaram então imersos em álcool 70% por 1 minuto, em hipoclorito de sódio acrescido de 5 gotas de tween 20 nas concentrações previstas para cada tratamento durante 30 min., e por último mergulhados em água destilada estéril por 3 vezes 10 minutos cada (Vasconcelos *et al.*, 2007).

Os tratamentos que constituíram o experimento na fase de limpeza clonal com utilização de hipoclorito de sódio foram: T0 (controle); T1 (0,5% de cloro ativo); T2 (1% de cloro Ativo); T3 (1,5% de cloro ativo) e T4 (2% de

cloro ativo). Para esta etapa do processo o delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, a unidade experimental se constituiu de um tubo de ensaio contendo um explante com 10 repetições para cada concentração; os dados foram analisados a partir das médias (MILONE & ANGELINI, 1995).

Para o estabelecimento da cultura as gemas foram inoculadas em meio MS (MURASHIGE & SKOOG, 1962) contendo 3% de sacarose e solidificado com 1,5 g de phytigel, sem adição de hormônios, decorridos 30 dias foram efetuadas as repicagens dos explantes que não contaminaram para meio de multiplicação (MURASHIGE & SKOOG, 1962) acrescido de reguladores de crescimento, com variações nas concentrações de 6-benzilaminopurina nos seguintes tratamentos: T0 (controle), T1 - 0,5 mg/L⁻¹, T2 - 1,5 mg/L⁻¹ e T3 - 2,0 mg/L⁻¹ as culturas foram mantidas em sala de crescimento com temperatura de 25 ± 2° C e fotoperíodo de 16 horas, sob condições controladas de temperatura, luminosidade e umidade relativa com 16 horas/fotoperíodo.

Resultados e discussão

Com relação à porcentagem de explantes contaminados, percebe-se que o tratamento com hipoclorito de sódio com maior eficiência, foi o tratamento T5 com 2,0% de cloro ativo, no experimento T4 (1,5), obteve-se 20% de contaminação, em T3 (1,0%) houve contaminação em 50% dos fragmentos, em T2 (0,5%) observou-se 70% de contaminação e em o T1(controle) com 100% de contaminação, indicando que o uso de cloro ativo na concentração de 2,0% ocorreu limpeza clonal para a variedade de palma orelha de elefante (Figura 1).

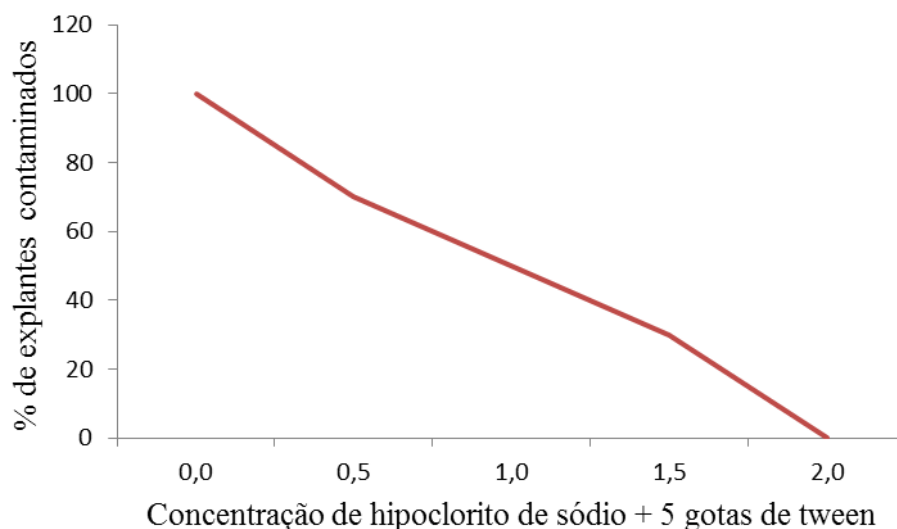


Figura 1. Ação do hipoclorito de sódio sobre contaminação dos explantes de palma.

Nietsche *et al.* (2006) afirmaram que o hipoclorito de sódio é mais tóxico do que o hipoclorito

de cálcio, e dependendo do tempo de imersão, pode ocorrer desidratação dos explantes, porém as concentrações utilizadas para palma forrageira orelha de elefante, foram eficientes para assepsia e não tóxicas, havendo necessidade de desenvolver testes preliminares para se determinar protocolos para outras variedades de palma.

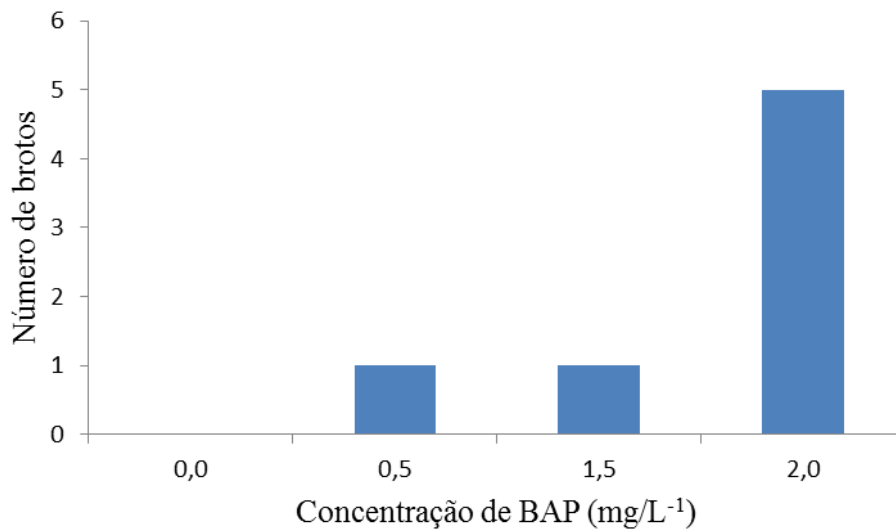


Figura 2. Influência do BAP sobre a formação de brotos em palma forrageira orelha de elefante.

Esses resultados corroboram com os relatos de Llamoca-Zárate et al. (1999) que inocularam brotos de palma forrageira cv. Gigante utilizando o meio de cultura MS idêntico ao desta pesquisa. Verificou-se que o meio de cultura desprovido de BAP proporcionou pouco ou nenhuma brotação, concordando com as descrições de Pinto *et al.* (1994) e, que pode ser atribuído à presença de concentrações endógenas de citocininas nos explantes (Arellano e Pinto, 1993).

O efeito benéfico do BAP na multiplicação de brotações, relaciona-se com a influência deste regulador de crescimento na divisão celular e na liberação das gemas auxiliares inibidas pela dominância apical. Os dados obtidos são concordantes com as afirmações de Barbosa *et al.* (1990) que identificaram ótimo estímulo ao desenvolvimento das gemas de macieira, em meio MS acrescido de BAP com a concentração de 2,0 mg.L⁻¹ (Figura 2). Observou-se que nas concentrações mais baixas (0,5 mg/L⁻¹) os explantes reagiram produzindo pequenos brotos, mas com uma pequena quantidade de brotos/frasco.

A micropropagação envolve diferentes etapas que vão desde a escolha da planta matriz (doadora de explantes), passando pela introdução do material vegetal às condições *in vitro*; sua multiplicação e enraizamento até chegar ao final do processo, quando as mudas obtidas *in vitro* são

transferidas para um substrato e mantidas em casa de vegetação (ambiente *ex vitro*), na etapa chamada de aclimatização (GEORGE *et al.*, 2008). Para cada uma das etapas mencionadas, podem ser utilizados diferentes meios de cultura, tipos e concentrações de reguladores de crescimento, condições de cultivo, entre outros (PASCAL, 2014).

A forma mais rápida de atender a demanda de material para repovoamento de áreas de cultivo poderá ser a obtenção de mudas originárias da micropropagação, tolerantes a cochonilha-do-carmim. Diante deste cenário, a produção sustentável de base ecológica para promoção de segurança alimentar das famílias e dos rebanhos na região nordeste, deve ser baseada em espécies vegetais que apresentem características de alta adaptabilidade às condições edafoclimáticas no semiárido, sendo indicado a palma forrageira.

De acordo com ALVES *et al.*, 2013 a diversidade de respostas da palma forrageira aos tratamentos com citocininas é variada e depende do regulador de crescimento utilizado, sua concentração, combinação com outros reguladores de crescimento, meios de cultivo utilizados, pH do meio, posição do explante no meio de cultura, diferença entre espécies e variedades, idade e estado fisiológico do material utilizado como doador dos explantes; e tratamento utilizado para desinfestação do material, uso de antioxidantes etc. Assim sendo, o estabelecimento de concentrações de BA para a indução de brotação para cada espécie e/ou variedade se faz necessária.

Conclusões

A concentração de 2% de cloro ativo adicionado de 5 gotas de Tween 20 por 30 minutos reduz a contaminação por bactérias e fungos em explantes de Palma forrageira orelha de elefante.

A adição de BAP ao meio de cultivo favorece a emissão de brotações nos explantes orelha de elefante, sendo a concentração de 2 mg L⁻¹ a mais eficiente.

Palavras-Chave: Micropropagação; Palma; Semiárido

Fomento

Capes

Referências

ALVES, F. A. L.; SOARES, W. S.; FERNANDES, Y. T. D, RÊGO, M. M. **Efeito de benziladenina na regeneração de duas variedades de palma forrageira (*Opuntia* spp.)**. Scientia Plena, Aracaju, v. 9, n. 6, p. 1-8, 2013.

ARELLO, E. F.; PINTO, J. E. B. P. **Propagação *in vitro* de *Kielmeyera coriacea* I. Efeito das diversas concentrações combinadas de benzilaminopurina e ácido naftalenoacético na multiplicação de brotos**. Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília, v.28, n.1, p.23-31, 1993.

(83) 3322.3222

contato@conidis.com.br

www.conidis.com.br

- BÁRBARA, E.P.S. *et al.* **Germinação e criopreservação de sementes de cactos nativos da Bahia.** Gaia Scientia, v.9, n.2, p.91-96, 2015;
- BARBOSA, W.; CAMPODALL'ORTO, F. A.; OJIMA, M.; IGUE, T. **Concentrações de 6-benzilaminopurina (BAP) na taxa de proliferação *in vitro* da macieira "gala".** Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília, v. 25, n. 5, p. 747-751, maio 1990.
- CARVALHO, A.C.P.P. *et al.* **Glossário de cultura de tecidos de plantas.** Plant Cell Culture & Micropropagation, v.7, p.30-60, 2011;
- COELHO, P.J.A. *et al.* **Coleta e conservação *ex situ* de cactáceas nativas do estado do Ceará.** Gaia Scientia, v.9, n.2, p.183-192, 2015;
- OLIVEIRA, F. T. de; SOUTO, J. S.; SILVA, R. P. da; ANDRADE FILHO, F. C. de; PEREIRA JÚNIOR, E. B. **Palma Forrageira: Adaptação e Importância para os Ecossistemas Áridos e Semiáridos.** Revista Verde (Mossoró – RN – Brasil) v.5, n.4, p. 27 – 37 outubro/dezembro de 2010. <http://revista.gvaa.com.br>;
- HOFFMANN, W. Etnobotânica. In: **Agroecologia, cultivo e usos da palma forrageira.**Roma: FAO, Produção e Proteção Vegetal, tradução (SEBRAE/PB), Paper 132, p.12-14, 1995;
- GEORGE, E.F. *et al.* **Plant Propagation by Tissue Culture.** Dordrecht: Springer, p.29-64. 2008.
- LLAMOCA-ZÁRATE, R. M.; AGUJAR, L. F.; LANDSMANN, J.; CAMPOS, F. A .P. **Whole Plant regeneration from the shoot apical meristem of *Opuntia ficus-indica* Mill.(Cactaceae).** Journal of Applied Botany-Angewandte Botanik. v.73, p.83-85, 1999.
- LOPES, E. B. (Org.) *et al.* **Palma Forrageira: Cultivo, Uso Atual e Perspectivas de utilização no semiárido Nordestino.** João Pessoa: EMEPA-PB, 2012.
- MILONE, G.; ANGELINI, F. (1995). **Estatística aplicada.** São Paulo: Atlas.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F.A **revised medium for rapid grow than bioassays with Tobacco tissue cultures.** PhysiologiaPlantarum, v.15, p.473-497, 1962.
- NEVES, A. L. A.; PEREIRA, L. G. R.; SANTOS, R. D. dos; VOLTOLINI, T. V.; ARAÚJO, G. G. L. de; MORAES, S. A. de; ARAGÃO, A. S. L. de; COSTA, C. T. F. **Plantio e uso da palma for Plantio e uso da palma forrageira na alimentação de bovinos no semiárido brasileiro.** Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 2010. 7 p. (Embrapa Gado de Leite. Comunicado Técnico, 62);
- NIETSCHKE, S. **Estabelecimento *in vitro* de explantes de três cultivares de bananeira.** **Ciência Rural**, Santa Maria, v.36, n.3, p.989-991, 2006.
- PASQUAL *et al.* **Tissue culture applications for the genetic improvement of plants.** In: BORÉM, A.; FRITSCHKE-NETO, R. **Biotechnology and Plant Breeding.** Oxford: springer, 2014. p.157-178.
- PINTO, J. E. B. P.; ARELLO, E. F.; PINTO, C. A. B. P.; BARBOSA, M. H. P. **Uso de diferentes explantes e concentrações de Benzilaminopurina na multiplicação *in vitro* de brotos de *Killmeyera coriacea*.** Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília, v.29, n.6, p.867-873, 1994.
- VASCONCELOS, A.G.V. *et al.* **Micropropagação de palma forrageira cv. Miúda (*Nopalea cochenilifera* – Salm Dyck).** Revista Brasileira de Ciências Agrárias, v.2, n.1, p. 28-31, 2007.



II CONIDIS
II CONGRESSO INTERNACIONAL DA
DIVERSIDADE DO SEMIÁRIDO