



## ASPECTOS DA MORFOGÊNESE *IN VITRO* DE AÇUCENA.

PATRÍCIA SILVA FLORES<sup>1</sup>; DANIELLA BEZERRA SOUSA<sup>2</sup>; ENIO LUIS PEDROTTI<sup>3</sup>;

1.EMBRAPA, RIO BRANCO, AC, BRASIL; 2.UNINORTE, RIO BRANCO, AC, BRASIL; 3.UFSC, FLORIANÓPOLIS, SC, BRASIL;  
[manihotembrapa@yahoo.com.br](mailto:manihotembrapa@yahoo.com.br)

**Resumo:** O entendimento dos aspectos relacionados a diferenciação *in vitro* de brotações é importante, pois auxilia na otimização do desenvolvimento de protocolos de micropropagação. Neste trabalho foi estudado o início do processo morfogênico em explantes de camadas de bulbo de *H. aulicum* através de observações de cortes histológicos realizadas aos 10, 15, 60 e 90 dias da inoculação em meio de cultura MS suplementado com 0,1 µM de ácido naftalenoacético e 4,0 µM de benzilaminopurina. Foi verificado que o início do processo morfogênico nos explantes de segmentos de bulbo de *H. aulicum*, ocorreu nas células epidérmicas e subepidérmicas da região abaxial das camadas, sendo que a provável função da porção do caule na qual elas estão inseridas seja o fornecimento de fitorreguladores.

**Palavras-chave:** *Hippeastrum aulicum*, morfogênese, cultura de tecidos

### 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).

Na micropropagação de *Hippeastrum*, geralmente são utilizados como explantes, segmentos de duas camadas do bulbo aderidas ao prato basal (caule). Segundo George (1996), as camadas devem ser mantidas unidas para que o tecido meristemático localizado entre as camadas não seja danificado para não comprometer a competência do explante em regenerar novas brotações. Entretanto, segundo Vidor (1995), em alguns trabalhos têm sido relatada a diferenciação de brotações a partir de tecidos localizados na periferia externa das camadas de bulbo o que levanta dúvidas com relação a afirmação anterior.

O entendimento sobre os aspectos relacionados à diferenciação *in vitro* de brotações é importante, pois auxilia na otimização do desenvolvimento de protocolos de micropropagação, além de contribuir para o maior conhecimento sobre a fisiologia do desenvolvimento das espécies vegetais. Neste sentido, neste trabalho foi estudado o processo morfogênico em explantes de camadas de bulbo de *H. aulicum*, através de análises histológicas em diferentes fases da cultura.



## Material e Métodos

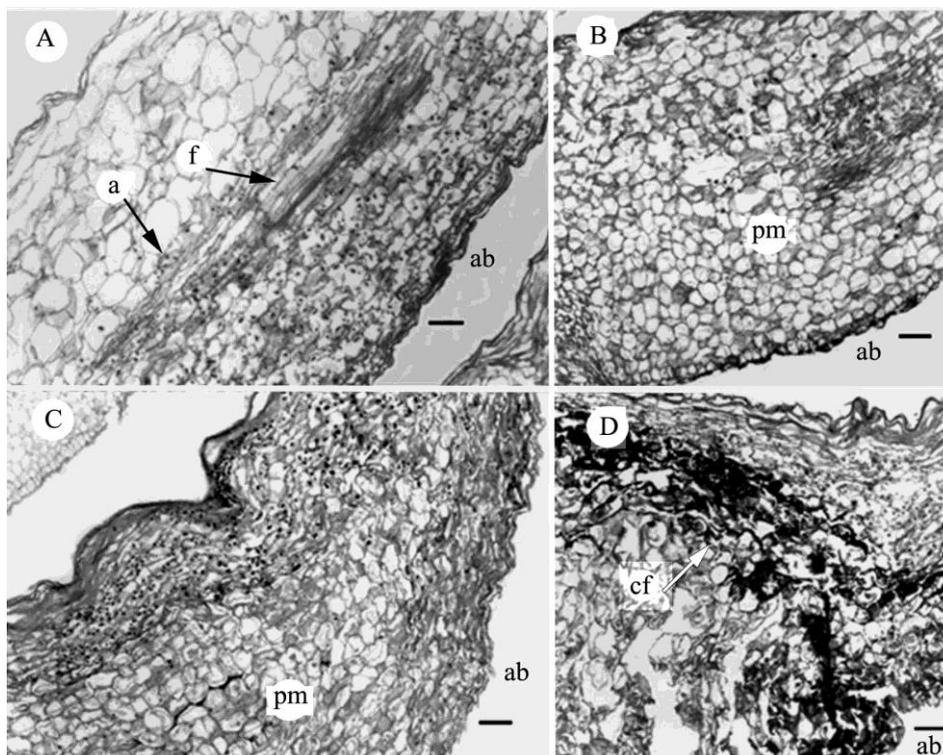
Para o estudo da origem do processo morfogênico, foram utilizados explantes constituídos de uma porção de dupla camada de bulbo aderida ao prato basal, após 10, 15, 60 90 dias da inoculação em meio de cultura Murashige & Skoog (1962) suplementado com 0,1  $\mu\text{M}$  de ácido naftalenoacético (ANA) e 4,0  $\mu\text{M}$  de benzilaminopurina (BAP). Os explantes foram fixados em glutaraldeído 2,50% em tampão fosfato de sódio 0,10M, em pH 7,20, lavados na mesma solução tampão e desidratados em série etílica gradual (RUZIN, 1999). Após a desidratação as amostras foram infiltradas em parafina (JOHANSEN, 1940). A realização das secções de 10,00  $\mu\text{m}$  de espessura foi feita em micrótomo rotativo e o material foi corado em astrablau 1,00% (9:1) ou safranina e verde firme (SASS, 1958), por 15 minutos.

## Resultados e Discussão

A primeira mudança observada nos tecidos foi o aumento da concentração do amido nas células parenquimáticas próximas à epiderme na superfície abaxial da camada (Figura 4A). Esta deposição de amido foi observada em explantes de *Narcissus* antes e durante a formação de centros meristemáticos (CHEN & ZIV, 2003, 2005). Segundo estes autores, os altos níveis de carboidratos que acumularam nos explantes presumidamente serviram como uma fonte de energia para a formação dos centros meristemáticos. Através de observações das secções de camadas de bulbo de *H. aulicum* das fases subsequentes, constatou-se que o acúmulo de amido ocorreu nas regiões onde foi iniciada a formação do calo (Figura 4 A-D).

A maior atividade meristemática ocorreu nas células epidérmicas e subepidérmicas da região abaxial da camada, culminando na formação do calo. Isto sugere que as células sensíveis ao estímulo dos reguladores de crescimento localizavam-se nesta região. Este resultado está de acordo com Vidor, 1995. Segundo este autor, as células da superfície abaxial de camadas de bulbos de amarilidáceas possuem alta capacidade regenerativa, possivelmente devido a proximidade dos feixes vasculares, sugerindo que o estímulo a divisão celular provenha deste local. Este autor observou a polarização no processo de diferenciação *in vitro* em explantes de camadas de bulbo de *Hyacinthus* sp. Nesta espécie, o autor observou a atividade meristemática em ambas as superfícies da camada, porém a proliferação de gemas ocorreu mais intensamente em uma das superfícies. No presente trabalho, foi observado que a superfície abaxial da camada apresenta maior proximidade dos feixes vasculares, ocorrendo uma atividade meristemática a partir desta região (Figura 1B).

Neste trabalho, tendo em vista que a formação dos calos ocorreu a partir de células subepidérmicas das camadas de bulbo e não a partir do meristema pré-existente entre as camadas, sugere-se que o segmento do caule pode ter influenciado no processo de morfogênese através do fornecimento de substâncias reguladoras de crescimento. Evidências de conexões vasculares entre o segmento do caule com as regiões de tecidos onde ocorreu a dediferenciação em *H. aulicum* reforçam esta hipótese.



**Figura 1** Secção transverso-longitudinal de bainha foliar de *Hippeastrum aulicum*, aos 10 (A), 15 (B), 60 (C) e 90 dias (D) da inoculação em meio MS, suplementado com ANA e BAP; a= grãos de amido; ab=superfície abaxial; cf=compostos fenólicos; f=feixes vasculares; pm=parênquima meristemático (Barra= 100  $\mu$ m).

### Conclusão

O início do processo morfogênico nos explantes de camadas de bulbo de *H. aulicum*, ocorreu nas células epidérmicas e subepidérmicas da região abaxial das camadas, sendo o fornecimento de fitorreguladores a provável função da porção do caule na qual elas estão inseridas.



## 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.
- CHEN, J.; ZIV, M. The effects of storage condition on starch metabolism and regeneration potentials of twin-scales and inflorescence stem explants of *Narcissus tazetta*. **In Vitro Cell Developmental Biology – Plant**, v.41, p.816–821, 2005.
- CHEN, J.; ZIV, M. Carbohydrate, metabolic, and osmotic changes in scaled-up liquid cultures of *Narcissus* leaves. **In Vitro Cell Developmental Biology – Plant**, v.39, p.645 -650, 2003.
- GEORGE, E.F. **Plant Propagation by tissue culture: In Practice**. 2.ed. England: Exergetics, 1996. 1361p.
- JOHANSEN, D.A. **Plant Microtechnique**. 2 ed. New York: Mcgraw Hill, 1940. 523p.
- RUZIN, S.E. **Plant Microtechnique and Microscopy**. New York: Oxford University Press, 1999. 322p.
- SASS, J.E. **Botanical microtechnique**. 3.ed. Iowa: State Press, 1958. 326 p.
- VIDOR, M.A. **Micropropagación de *Hyacinthus amethystina* cv. ‘Albus’: Estudios morfo genéticos**. 1995. 253p. Tese (Doutorado) – Universidade Politécnica de Madrid, Madrid.