

## EFEITO DA SACAROSE SOBRE O ENRAIZAMENTO E DESENVOLVIMENTO “IN VITRO” DE *SYNGONANTHUS MUCUGENSIS* GIUL.<sup>1</sup>

JOSÉ ROBERTO DOS S. SILVA<sup>2\*</sup>, ALONE LIMA-BRITO<sup>3</sup>, JOSÉ RANIERE F. DE SANTANA<sup>4</sup>  
& ANA LÚCIA C. DORNELLES<sup>5</sup>

<sup>2</sup>Bolsista DTI-CNPq/Unidade Experimental Horto Florestal/LCTV-UEFS

<sup>3</sup>Bióloga do Depto. de Ciências Biológicas/Unidade Experimental Horto Florestal/LCTV-UEFS

<sup>4</sup>Prof. Adjunto do Depto. de Ciências Biológicas/UEFS

<sup>5</sup>Prof. Adjunto do Depto. de Genética, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, Rio de Janeiro, Brasil.

\*Author for correspondence: Unidade Experimental Horto Florestal/LCTV-UEFS. Av. Presidente Dutra, s/n, Bairro Santa Mônica, Feira de Santana, Bahia, Brasil, 44055-000 (mucugensis@yahoo.com.br).

**(Efeito da sacarose sobre o enraizamento e desenvolvimento “in vitro” de *Syngonanthus mucugensis* Giul.)** – O trabalho teve por objetivo avaliar o efeito da sacarose no enraizamento e desenvolvimento *in vitro* de *Syngonanthus mucugensis* Giul., planta endêmica da Chapada Diamantina/BA. Foram testadas cinco concentrações de sacarose no meio MS/2, solidificado com 0,8% de ágar, com pH ajustado para 5,7. O material vegetal utilizado consistiu de plantas com 60 dias de idade, com aproximadamente 2 cm de altura obtidas da germinação *in vitro* das sementes. As plantas foram inoculadas em câmara de fluxo laminar em frascos “tipo maionese” e mantidas em sala de crescimento sob radiação fotossintética ativa de 9  $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  e temperatura de 25  $\pm$  2°C, durante 60 dias. O delineamento estatístico utilizado foi inteiramente casualizado com três repetições, em que cada repetição consistiu de 10 frascos, sendo inoculadas cinco plantas por frasco. As variáveis avaliadas foram: número de raízes formadas, matéria seca da raiz, matéria fresca total e número de folhas emitidas. Os resultados mostraram que a sacarose determinou um efeito significativo sobre as características analisadas. Com a redução de 30 g.L<sup>-1</sup> para 15 g.L<sup>-1</sup>, houve um acréscimo no número de raízes por planta e no peso da matéria fresca total. O estudo mostrou um efeito positivo da redução da sacarose para o enraizamento de *S. mucugensis*, sendo a concentração de 15 g.L<sup>-1</sup> no meio MS/2 a mais indicada para o estabelecimento *in vitro* dessa espécie. Apoio: IMSEAR/CNPq.

**Palavras-chave:** Eriocaulaceae, cultura de tecidos, estabelecimento *in vitro*, campos rupestres.

**(Effect of the sucrose in the rooting and development “in vitro” of *Syngonanthus mucugensis* Giul.)** – The study sought to evaluate the effect of sucrose on the rooting and *in vitro* development of *Syngonanthus mucugensis* Giul., endemic plant of Chapada Diamantina/BA. Five different sucrose concentrations were tested in the culture medium MS/2, solidified with 0.8% of agar, and pH adjusted for 5.7 prior to autoclaving. The plant material used consisted of 60 day-old seedlings from the cultivation *in vitro* with approximately 2 cm in length. The seedlings were inoculated in laminar flow in ‘mayonnaise’ type flasks, and maintained in the growth room under photosynthetic active radiation of 9  $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  and temperature of 25  $\pm$  2°C, for 60 days. The experimental design was entirely randomized with three replicates, in that each consisted of 10 flasks, with inoculated five seedlings per flask. The evaluated parameters were: number of roots, dry weight of the root, total fresh weight and number of leaves produced. The results showed that the sucrose levels had a significant effect on the characteristics analyzed. The reduction of 30 g.L<sup>-1</sup> for 15 g.L<sup>-1</sup> produced an increment in the number of roots per plant and in the weight of the fresh matter total. The study showed a positive effect of the reduction of the sucrose on the rooting of *S. mucugensis*, with the concentration of 15 g.L<sup>-1</sup> in the culture medium MS/2 being the most suitable for the establishment *in vitro* of this species. Support: IMSEAR/CNPq.

**Key words:** Eriocaulaceae, tissue culture, *in vitro* establishment, “campos rupestres”.

### INTRODUÇÃO

Nos vegetais, os carboidratos exercem várias funções essenciais: como substrato da respiração celular, desempenham um importante papel na via sintetizadora de muitos compostos orgânicos e são componentes formadores de macromoléculas (GIBSON, 2000; CALAMAR & DE KLERK, 2002).

Células, tecidos e plantas cultivadas *in vitro* não encontram condições adequadas de iluminação e concentração de CO<sub>2</sub> e, às vezes, não apresentam teores de cloro-

fila suficientes para realizarem a fotossíntese que sustenta o crescimento (DALTON & STREET, 1997). Sendo assim, devido à baixa capacidade fotossintética dos explantes cultivados *in vitro*, é necessária a adição de carboidratos ao meio para suprir as necessidades metabólicas, quer participando na geração de energia ou como fonte de esqueletos carbônicos para vários processos biossintéticos implicados na diferenciação e crescimento celular (LEIFERT, 1995).

A sacarose é normalmente adicionada ao meio como fonte de carboidratos, pois além de ser o principal produto da fotossíntese das angiospermas (ECKARDT, 2003), ela é rapidamente absorvida pelos explantes (GRATTAPAGLIA & MACHADO, 1990). No entanto, o efeito regulador desse açúcar no enraizamento e desenvolvimento *in vitro* de mui-

<sup>1</sup>Parte da Dissertação apresentada pelo primeiro autor ao Programa de Pós-Graduação em Botânica da Universidade Estadual de Feira de Santana para obtenção do Título de Mestre em Botânica em 2003.

tas espécies tem sido pouco estudado (LEITE *et al.*, 2000).

O aumento, a redução e/ou a eliminação da sacarose no meio de cultivo pode ser determinante no sucesso do enraizamento *in vitro* para muitas plantas, tornando-se desnecessária a adição de reguladores de crescimento (CALAMAR & DE KLERK, 2002).

GROUT (1988) afirma que a atividade da enzima RubPcase, nas folhas de certas espécies *in vitro* também é incrementada pela redução da sacarose exógena do meio e, de acordo com LANGFORD & WAINWRIGHT (1986), a absorção de CO<sub>2</sub> pode ser otimizada pela redução da sacarose nos sucessivos subcultivos, em frascos com provisão para trocas gasosas.

Assim, o presente trabalho tem por objetivo avaliar o efeito da sacarose no desenvolvimento e no enraizamento *in vitro* de *Syngonanthus mucugensis* Giul., caracterizando-se como uma importante etapa a ser definida para o estabelecimento de um protocolo de micropropagação para esta espécie.

## MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais, da Unidade Experimental Horto Florestal, pertencente ao Departamento de Ciências Biológicas da Universidade Estadual de Feira de Santana, no município de Feira de Santana/BA.

O material vegetal utilizado consistiu de plantas de *S. mucugensis* com 60 dias de idade, obtidas a partir da germinação *in vitro* de sementes, utilizando metodologia descrita por PAIXÃO-SANTOS *et al.* (2003).

Os tratamentos consistiram de cinco concentrações de sacarose (5, 10, 15, 20 e 30 g.L<sup>-1</sup>) e cada unidade experimental consistiu de um frasco “tipo maionese” (com capacidade de 250 mL) contendo 40 mL de meio MS/2 (MURASHIGE & SKOOG, 1962) e solidificado com 0,8% de ágar, onde foram inoculadas cinco plantas de 2 cm de comprimento tendo cinco a seis folhas e duas a três raízes.

O meio de cultura teve o pH ajustado para 5,7 após a inclusão do ágar e em seguida foi esterilizado em autoclave (sob 1.0 atm, a 121°C, durante 15 min). Após a inoculação, feita em câmara de fluxo laminar, os frascos foram mantidos durante 60 dias em sala de crescimento sob fotoperíodo de 16h e radiação fotossintética ativa de 9 µmol.m<sup>2</sup>.s<sup>-1</sup>, fornecida por lâmpadas fluorescentes brancas-frias e com temperatura de 25 ± 2°C.

Avaliou-se o número de raízes formadas, bem como o número de folhas emitidas, matéria fresca total e matéria seca das raízes 60 dias após a inoculação. Os valores das variáveis, número de raízes formadas e número de folhas novas emitidas foram obtidos através da contagem direta. O valor da matéria seca das raízes foi obtido pela pesagem em balança semi-analítica, após a secagem em estufa com ventilação forçada a 60°C até peso constante.

O delineamento estatístico utilizado foi o inteiramente casualizado com três repetições por tratamento, sendo que cada repetição consistiu de dez frascos perfazendo

um total de 150 frascos, cada um contendo cinco plantas. Para efeito de análise de variância, os dados em porcentagem, referentes aos números de raízes e folhas emitidas por planta foram transformados em arco-seno da  $\sqrt{x+1}$  e os dados referentes à matéria seca das raízes e à matéria fresca total foram transformados em  $\sqrt{x+1}$ , as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, utilizando-se o programa SISVAR, v 4.3, desenvolvido pela UFPA.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os níveis de sacarose presentes no substrato de cultivo influenciaram nos processos metabólicos nessa cultura, apresentando efeito sobre o crescimento e diferenciação dos tecidos (Tabela 1).

Tabela 1. Número de raízes, número de folhas por planta, matéria fresca total e matéria seca das raízes, aos 60 dias após a inoculação das plantas de *Syngonanthus mucugensis* cultivadas *in vitro* em meio MS/2 em diferentes concentrações de sacarose.

Sacarose (g.L <sup>-1</sup> )	Médias			
	Nº de raízes/planta	Nº de folhas/planta	Matéria fresca total (mg)	Matéria seca raízes (mg)
30	4,13 b c	8,40 b c	15,15 b	2,46 a
20	5,10 b c	8,25 b c	17,14 a	2,20 b
15	5,96 a	8,97 a	17,62 a	2,59 a
10	5,65 a b	8,87 a b	16,62 b	2,10 b
5	4,02 c	8,14 c	14,52 b c	2,01 c
CV (%)	19,62	18,56	25,29	22,52

\*Médias de cada parâmetro seguidas da mesma letra na coluna não diferenciam entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

O ponto máximo de enraizamento foi obtido com a dose de 15 g.L<sup>-1</sup> de sacarose, o que proporcionou uma média de seis raízes por planta; esse resultado representa um aumento de 44,31% para o enraizamento em relação à concentração de 30 g.L<sup>-1</sup>, dose de sacarose padrão normalmente usada em cultura de tecidos segundo LEITE *et al.* (2000) (Fig. 1A).

Observou-se que a redução da sacarose também foi eficaz para o desenvolvimento da parte aérea e para incorporação de matéria seca nas raízes, pois o número de folhas emitidas aumentou 6,79% (Fig. 1B) e a biomassa seca teve um acréscimo de 5,28% (Fig. 1C) com 15 g.L<sup>-1</sup> de sacarose em relação à concentração normalmente empregada.

Esse mesmo comportamento positivo foi observado para a produção de matéria fresca total das plantas, atingindo 17,62 mg com 15 g.L<sup>-1</sup> de sacarose (Fig. 1D), o que representa um acréscimo de 16,30%.

Esses dados estão de acordo com NICOLOSO *et al.* (2003), que verificaram que a redução da concentração de

sacarose no meio de cultura estimulou a formação e o crescimento de raízes em algumas espécies, favorecendo a sobrevivência das mudas transplantadas.

Nos tratamentos contendo 5 g.L<sup>-1</sup> e 30 g.L<sup>-1</sup> de sacarose, as médias obtidas para todas as variáveis analisadas nesse experimento foram inferiores às apresentadas quando se utilizou a concentração de 15 g.L<sup>-1</sup>. Isto indica que com 1,5% de sacarose no meio, mais células tornaram-se com-

a aclimatização.

Essa observação corrobora os resultados de NICOLOSO *et al.* (2003), em que o decréscimo na concentração de sacarose (de 30 g.L<sup>-1</sup> para 15 g.L<sup>-1</sup>) no meio de cultivo, induziu a um maior grau de desenvolvimento fotototrófico de plantas de *Gardenia jasminoides* durante dois estágios sucessivos de cultivo (multiplicação de brotações e indução radicular).

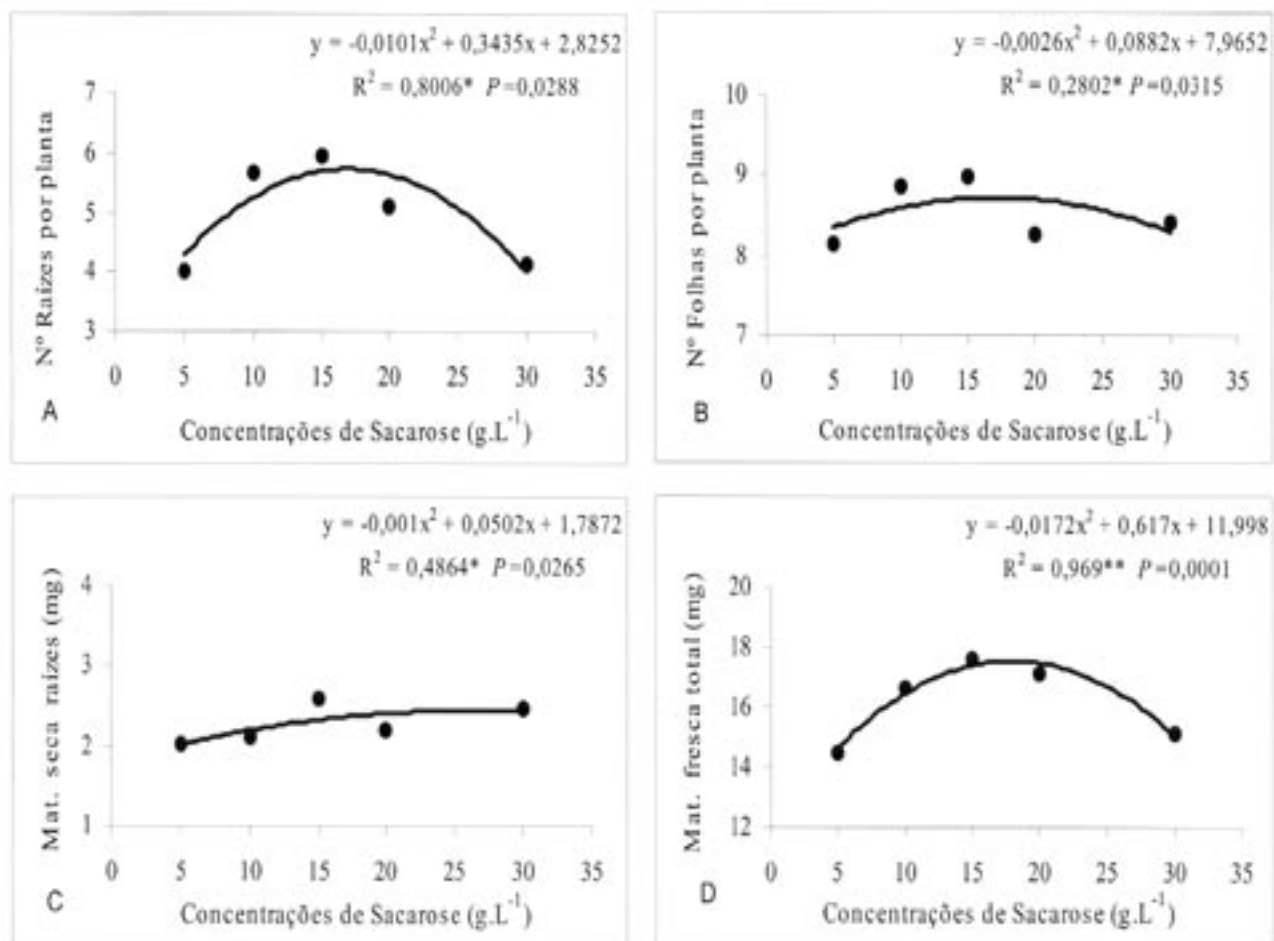


Fig. 1. Efeito da sacarose sobre o número de raízes por planta (A), número de folhas por planta (B), acúmulo de matéria seca das raízes (C) e matéria fresca total (D) em plantas de *Syngonanthus mucugensis* cultivadas *in vitro* em meio MS/2 em diferentes concentrações de sacarose.

petentes para responder ao estímulo de crescimento celular. Ao incorporar 15 g.L<sup>-1</sup> de sacarose no meio de cultivo [potencial osmótico = - 0.112 MPa segundo GEORGE (1996)], as plantas tiveram mais energia disponível e em consequência lançaram mais raízes, mais folhas e apresentaram maior acúmulo de biomassa (Tabela 1).

É provável que na concentração de 30 g.L<sup>-1</sup> de sacarose, o potencial osmótico tenha contribuído para a redução do enraizamento da espécie. Segundo CALDAS *et al.* (1998), a elevada pressão osmótica reduz o crescimento das plantas e afeta o metabolismo celular. A formação de um sistema radicular funcional *in vitro* é um dos pontos fundamentais para a sobrevivência das plantas na fase seguinte,

## CONCLUSÕES

Os dados obtidos neste trabalho para *S. mucugensis*, considerando as variáveis de crescimento estudadas, demonstraram que:

1. o meio MS/2 com 15 g.L<sup>-1</sup> de sacarose pode ser utilizado para o estabelecimento *in vitro* dessa espécie;
2. concentrações acima ou abaixo de 15 g.L<sup>-1</sup> de sacarose, no meio de cultura, não são benéficas para o estabelecimento *in vitro* dessa espécie, seja pela elevada pressão osmótica do meio ou por um desbalanço nutricional qualquer. Maiores investigações deverão ser realizadas nesse sentido.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CALAMAR A & GJ DE KLERK. 2002. Effect of sucrose on adventitious root regeneration in apple. **Plant cell, Tissue and Organ Culture** 70: 207-212.
- CALDAS LS, P. HARIDASAN & ME FERREIRA. 1998. Meios nutritivos. In: AC TORRES, LS CALDAS & JA BUSO. **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: Embrapa-SPI/Embrapa - CNPH, Parte II, p. 87-132.
- DALTON CC & HE STREET. 1997. The influence of applied carbohydrates on the growth and greening of culture spinach (*Spinacea oleracea* L.) cells. **Plant Science Letters** 10: 157-164.
- ECKARDT AE. 2003. The function of SUT2/SUC3 sucrose transporters: The debate continues. **The Plant Cell** 14: 1259-1262.
- GEORGE EF. 1996. **Plant propagation by tissue culture**. Part 2, p. 1361-1366. Edington: Exegetics.
- GIBSON SI. 2000. Plant sugar-responses pathways. Part of a complex regulatory web. **Plant Physiology** 124: 1532-1539.
- GRATTAPAGLIA D & AM MACHADO. 1990. Micropropagação, p. 610-612. In: AC TORRES & LS CALDAS (eds). **Técnicas e aplicações da cultura de tecidos de plantas**. Brasília: ABCTP/EMBRAPA-CNPH.
- GROUT BWW. 1988. Photosynthesis of regenerated plantlets “in vitro” the stress of transplanting. **Acta Horticulturae** 230: 129-134.
- LANGFORD PJ & M WAINWRIGHT. 1986. Photosynthesis ability of “in vitro” grown shoots in relation to media components. **Scientia Horticulturae** 21: 233-241.
- LEIFERT C. 1995. Mineral and carbohydrate nutrition of plant cell and tissue culture. **Critical Reviews in Plant Sciences** 14(2): 83-109.
- LEITE GB, N FINARDI & GRL FORTES. 2000. Efeitos de concentrações de sacarose no meio de cultura e da intensidade luminosa no enraizamento “in vitro” do porta enxerto de Pereira OH X F97. **Ciência e Agrotecnologia** 24(2): 353-357.
- MURASHIGE T & F SKOOG. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. **Physiologia Plantarum** 15: 473-497.
- NICOLOSO FT, RP FORTUNATO & LS CASSOL. 2003. Efeito de concentrações fontes de carboidratos no crescimento de plantas de ginseng brasileiro [*Pfaffia glomerata* (Spreng) Pedersen] cultivadas “in vitro”. **Ciência e Agrotecnologia** 22(4): 84-90.
- PAIXÃO-SANTOS J, ALC DORNELLES, JRS SILVA & AP RIOS. 2003. Germinação *in vitro* de *Syngonanthus mucugensis* Giul. **Sitientibus ser. Ciênc. Biol.** 3(1/2): 120-124.