

Influência da orientação do explante na organogênese direta de *Syngonanthus mucugensis* Giul.

Lima-Brito, Alone¹; Vitória, Angela Pierre²; Velame, Marcos Paulo³; Alvim, Bruno Freitas Matos⁴; Resende, Sheila Vitória⁵; Santana, José Raniere Ferreira de⁶.

¹Doutoranda do Programa de Pós-graduação em Botânica da Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS), Caixa Postal 252-294, CEP 44031-460, Feira de Santana, Bahia, fone (75) 3625-2300, email: lima_brito@yahoo.com.br; ²Professora da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Av. Alberto Lamego 2000, CEP 28013-600, Campos dos Goytacazes, Rio de Janeiro, fone (22) 2726-1475, email: apvitoria@uenf.br; ³Bolsista IC/FAPESB - UEFS, email: paulovelame@hotmail.com; ⁴Bolsista IC/FAPESB - UEFS, email: brunoalvim@hotmail.com; ⁵Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Botânica da UEFS, email: svresende@yahoo.com.br; ⁶ Professor da UEFS, email: raniere@uefs.br.

INTRODUÇÃO

A família Eriocaulaceae, à qual pertence o gênero *Syngonanthus*, inclui cerca de 1200 espécies, reunidas em 10 gêneros, com distribuição pantropical (Giulietti & Hensold, 1990; Giulietti et al., 2000). No Brasil, um grande número de representantes desta família ocorre na região central (Giulietti et al., 1996), sendo essa área provavelmente, o seu principal centro de diversidade genética (Giulietti & Hensold, 1990). Suas espécies são conhecidas popularmente como sempre-vivas, pois as inflorescências permanecem com aspecto *in natura*, mesmo depois de destacadas e secas (Giulietti et al., 1996).

O gênero *Syngonanthus*, com cerca de 200 espécies distribuídas nas Américas e África (Giulietti & Hensold, 1990), inclui o maior número de sempre-vivas comercializadas como ornamental (Giulietti et al., 1996; Parra, 2000). Com distribuição restrita aos municípios de Mucugê, Abaíra e Rio de Contas, a espécie *S. mucugensis* Giul. destaca-se pelo grande potencial como alternativa econômica para a região da Chapada Diamantina, Bahia (Giulietti et al., 1996).

O alto grau de endemismo associado à coleta extrativista antes do lançamento das sementes no ambiente tem levado essa espécie ao risco de extinção, tornando-se necessário o desenvolvimento de técnicas que promovam a produção de mudas em larga escala e a sua preservação.

A técnica de cultura de tecidos, muito empregada pela indústria ornamental, possibilita a produção de um grande número de plantas a partir de um único indivíduo, podendo ser utilizada como uma alternativa para a multiplicação de *S. mucugensis*.

A germinação das sementes dessa espécie pode ser obtida em agar (Paixão-Santos et al., 2003) e o seu cultivo *in vitro* em meio MS (Murashige & Skoog, 1962) com metade da concentração de sais (MS½), acrescido de 15g.L⁻¹ de sacarose (Silva et al., 2005; Paixão-Santos et al., 2006).

Brotações em *S. mucugensis* podem ser induzidas a partir do explante rizoma inoculado em meio de cultura MS½. Os melhores resultados para a organogênese direta foram obtidos em meio sem regulador de crescimento e para a organogênese indireta com a utilização de benzilaminopurina (BAP) (dados não publicados).

Para a otimização de protocolos de multiplicação alguns tratamentos podem ser dados aos explantes para estimular maior proliferação. A quebra da dominância apical é utilizada frequentemente na cultura de tecidos vegetais visando à obtenção de novas plantas (Kerbauy, 2004). A excisão do ápice e o cultivo de explantes na orientação horizontal são alguns dos procedimentos utilizados para inibir a dominância apical e consequentemente estimular maior proliferação de brotos laterais (McLelland & Smith, 1990; Erig & Schuch, 2002; Pereira et al., 2006).

O objetivo deste trabalho foi avaliar a influência da orientação do explante e da remoção do ápice do rizoma na produção de brotos de *S. mucugensis* por organogênese direta.

Agradecimentos: FAPESB e Projeto Sempre-viva

METODOLOGIA

O rizoma foi retirado de plantas estabelecidas *in vitro* com 180 dias de idade e inoculado em tubo de ensaio (150x15mm) contendo 15mL de MS $\frac{1}{2}$, suplementado com 15g.L⁻¹ de sacarose e 6g.L⁻¹ de agar. O pH do meio foi ajustado para 5.7 antes da autoclavagem a 121°C por 15 minutos. Os experimentos foram mantidos em sala de crescimento com fotoperíodo de 16h a 25 ± 2°C e radiação fotossinteticamente ativa de 40 $\mu\text{mol m}^{-2}.\text{s}^{-1}$

Foram testados quatro tratamentos: rizoma inoculado no meio de cultura na posição vertical com (T1) e sem ápice (T2), rizoma inoculado na posição horizontal com (T3) e sem ápice (T4).

Aos 60 dias da inoculação avaliou-se a porcentagem de explantes responsivos, o número de brotos por explantes e o comprimento dos brotos (cm). Os brotos produzidos foram transferidos para novo meio de cultura (MS $\frac{1}{2}$) e após 30 dias foi avaliada a sobrevivência das plantas.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado em arranjo fatorial 2 x 2, sendo duas orientações (vertical e horizontal) e dois tipos de rizoma (com ápice e sem ápice), com dez repetições de 4 amostras por tratamento. A análise dos dados foi feita com o programa software SISVAR v. 4.3 (UFLA).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os rizomas sem ápice apresentaram maior porcentagem de explantes responsivos e maior número de brotações, diferindo significativamente dos rizomas com ápice, independente da orientação em que foram inseridos no meio de cultura (Figuras 1A, 1B e 2).

As altas taxas de multiplicação dos rizomas decapitados devem estar relacionadas com a quebra da dominância apical. As auxinas são produzidas no ápice e transportadas polarmente inibindo o desenvolvimento das gemas laterais (Taiz & Zeiger, 2004). Dessa forma, a retirada do ápice reduz o fornecimento de auxina para a região das gemas laterais, determinando a liberação da inibição.

Erig e Schuch (2002) relataram a quebra da dominância apical em *Malus prunifolia* Willd Borkh (macieira) pela inoculação do explante na posição horizontal, o que seria decorrente da interrupção do fluxo de auxina do ápice para a base. Para *Uncaria guianensis* (Aublet) Gmelin (unha de gato) também foi obtido um maior número de brotos nos explantes inoculados na posição horizontal em relação a vertical (Pereira et al., 2006). No entanto, em *S. mucugensis* não foi observado o efeito da orientação do explante na quebra da dominância apical, já que não houve diferença na produção de brotos entre rizomas com ápice inoculados nas duas orientações (Figuras 1A e 1B).

Com relação aos rizomas sem ápice, os melhores resultados foram encontrados para os explantes na posição horizontal comparados com a vertical, tanto na quantidade de explantes responsivos, 50% e 35%, respectivamente, quanto ao número de brotos por explantes, 22 e 15 brotos/explante, respectivamente (Figuras 1A e 1B). Estes resultados podem não estar relacionados com a dominância apical, mas sim com o maior contato do rizoma com o meio de cultura, o que promoveu uma maior absorção de nutrientes pelas gemas localizadas na superfície de contato.

De acordo com Kerbauy (2004) o grau de imposição da dominância apical pode variar entre as plantas herbáceas podendo ser inexistente, intermediário ou forte. Em *S. mucugensis* a imposição da inibição pode ser classificada como intermediária, já que foram observadas algumas brotações laterais nos rizomas com ápices inoculados na posição vertical (Figuras 1A, 1B e 2A).

Rizomas com ápices na orientação vertical e horizontal resultaram em baixas porcentagens de explantes responsivos (10 e 8 %, respectivamente) e pequeno número de brotos por explantes (5 para ambas) (Figuras 1A e 1B). No entanto, os maiores comprimentos dos brotos e porcentagem de sobrevivência dos brotos foram obtidas a partir de rizomas com ápices independentes da orientação, diferindo estatisticamente dos rizomas sem ápice (Figuras 1C e 1D). Esses resultados podem estar relacionados à reduzida competição entre o pequeno número de brotos produzidos.

Com relação ao comprimento e a sobrevivência dos brotos não houve diferença entre as orientações (Figuras 1C e 1D). Resultados similares foram encontrados por Erig & Schuch (2002) que não obtiveram diferenças quanto à orientação do explante para comprimento da maior brotação em macieira.

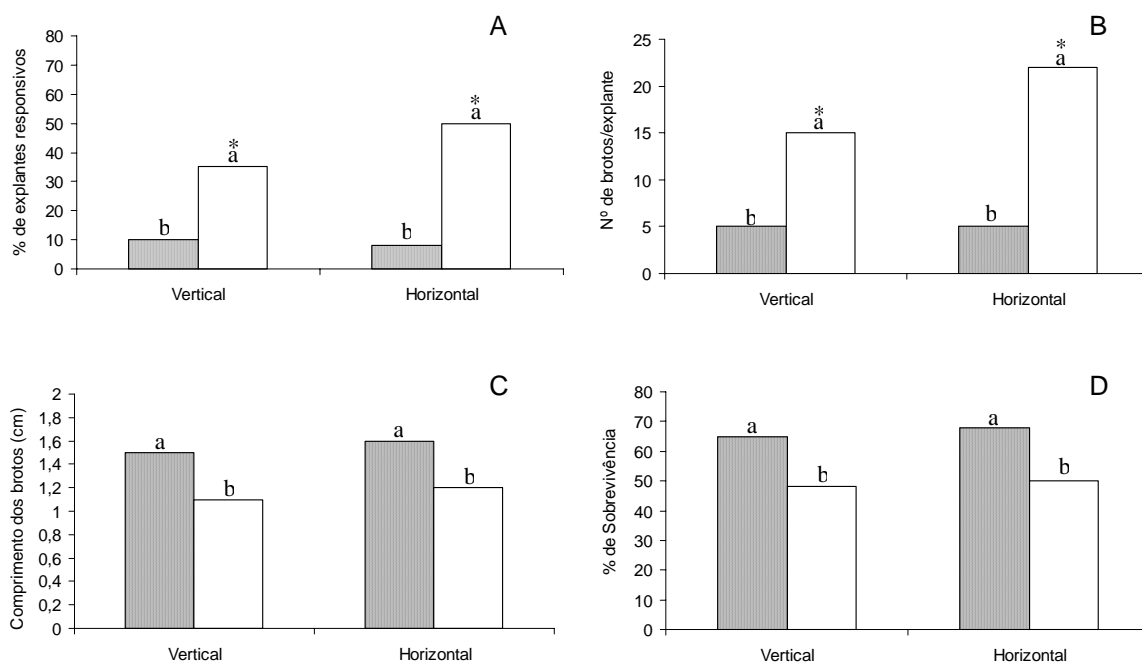


Figura 1. Efeito da orientação (vertical e horizontal) e decapitação (▨ com ápice e □ sem ápice) do rizoma na regeneração *in vitro* de plantas de *S. mucugensis*. (A) % de explantes responsivos, (B) número de brotos/explantes, (C) comprimento dos brotos (cm), (D) % de sobrevivência das plantas. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste Tukey ($p < 0.05$). O * indica diferença estatística entre as médias pelo Teste Tukey ($p < 0.05$).

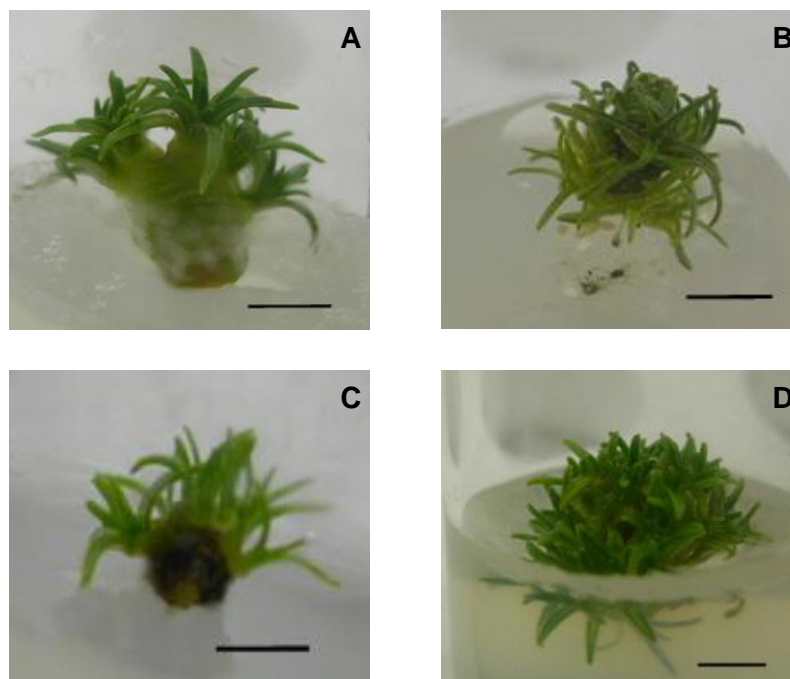


Figura 2. Regeneração de plantas de *S. mucugensis* a partir do rizoma. Orientação vertical com ápice (A) e sem ápice (B); Orientação horizontal com ápice (C) e sem ápice (D). (Barra = 0,5cm)

CONCLUSÕES

A inoculação de rizomas sem ápice na posição horizontal em meio livre de regulador constitui, dentre os métodos testados, o mais eficiente para a obtenção de brotações por organogênese direta em *S. mucugensis*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ERIG, A. C. & SCHUCH, M. W. Multiplicação in vitro de porta-enxerto de macieira cv. Marubakaido: efeito da orientação do explante no meio de cultura. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 24, n. 2, p. 293-295, 2002.

GIULIETTI, A. M. & HENSOLD, N. Padrões de distribuições geográfica, dos gêneros de Eriocaulaceae. **Acta Botânica Brasílica**, v. 4, n. 1, p. 133-158, 1990.

GIULIETTI, A. M.; WANDERLEY, G. L.; WAGNER, H. M.; PIRANI, J. R. & PARRA, L. R. Estudos em sempre vivas: Taxonomia com ênfase nas espécies de Minas Gerais, Brasil. **Acta Botânica Brasílica**, v. 10, n. 2, p. 329-377, 1996.

GIULIETTI, A. M., SCATENA, V. L.; SANO, P. T.; PARRA, L. R.; DE QUEIROZ, L. P.; HARLEY, R. M.; MENEZES, N. L.; YSEPON, A. M. B.; SALATINO, A.; VILEGAS, W.; SANTOS, L. C.; RICCI, C. V.; BONFIM, M. C. & MIRANDA, E. B. Multidisciplinary studies on neotropical Eriocaulaceae. In: Wilson & Morrison (eds.) **Monocots: systematics and evolution**. Csiro publishing, Australia, p. 580-589, 2000.

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

MCCLELLAND, M. T. & SMITH, M. A. L. Vessel type, closure, and explant orientation influence in vitro performance of five woody species. **HortScience**, v. 25, n. 7, p. 797-800, 1990.

MURASHIGE, T. & SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiol. Plant**, v. 15, p. 473-497, 1962.

PAIXÃO-SANTOS, J.; DORNELLES A. L. C.; SILVA, J. R. S. & RIOS, A. P. Germinação in vitro de *Syngonanthus mucugensis* Giulietti. **Sitientibus**. Série ciências biológicas, v. 3, p. 120-124. 2003.

PAIXÃO-SANTOS, J.; SILVA, J. R. S.; SANTANA, J. R. F.; LIMA-BRITO, A. & DORNELLES, A. L. C. Ajuste do meio MS para o cultivo in vitro de *Syngonanthus mucugensis* Giulietti, uma espécie ameaçada de extinção. **Sitientibus**. Série ciências biológicas, v. 6, n. 1, p. 36-39, 2006.

PARRA, L. R. **Redelimitação e revisão de *Syngonanthus* sect. *Eulepis* (Bong. Ex Koern) - Eriocaulaceae**. Tese de doutorado. Universidade de São Paulo. 201 p. 2000.

PEREIRA, R de C.A.; PINTO, J. E. B. P.; BERTOLUCCI S. K. V.; CASTRO, E. M. de & SILVA, F. G. Germinação, avaliação do ácido giberélico e posição do explante no alongamento in vitro de *Uncaria guianensis* (Aublet) Gmelin Rubiaceae (unha-de-gato). **Ciência e Agrotecnologia**, v. 30, n. 4, p. 637-642, 2006.

SILVA, J. R. S.; LIMA-BRITO, A.; SANTANA, J. R. F. & DORNELLES, A. L. Efeito da sacarose sobre o enraizamento e desenvolvimento "in vitro" de *Syngonanthus mucugensis* Giul. **Sitientibus**. Série ciências biológicas, v. 5, n. 2, p. 56-59, 2005.

TAIZ, L. & ZEIGER, E. Fisiologia Vegetal. trad. Eliane Romanato Santarém... [et al.]. – 3. ed. – Porto Alegre Artmed, 2004. 719p.

PALAVRAS-CHAVE:

Eriocaulaceae; *Syngonanthus mucugensis*; micropropagação; orientação.

AGRADECIMENTOS

Ao Projeto Sempre-viva e a FAPESB.