

UTILIZAÇÃO DE MERISTEMAS AXILARES PARA A CONSERVAÇÃO *IN VITRO* DO CAPIM-ELEFANTE

MARIA COLETTA VIDIGAL LEÔNIDAS P. PASSOS,² JOSÉ LUIZ OLIVEIRA DA SILVA

¹ Pesquisador, M.Sc., Embrapa - Gado de Leite, Rua Eugênio do Nascimento, 610 - Bairro Dom Bosco, 36038 - Juiz de Fora - MG.

² Pesquisador, Ph.D., Embrapa - Gado de Leite.

RESUMO: Na conservação *in vitro* do germoplasma de capim-elefante conduzida na Embrapa - Gado de Leite, a propagação continuada de meristemas apicais ocorreu gradual perda de vigor nas plântulas. Isso força a renovação periódica da coleção, reduzindo a eficiência do processo. Visando solucionar o problema, foi conduzido um estudo com 51 cultivares, inoculando meristemas axilares das plântulas micropropagadas dispostas em posição horizontal, com ou sem adição de ácido naftaleno-acético (ANA). No período de observação de 45 dias, foram avaliados início da brotação e número de gemas por explante, brotos desenvolvidos e vigor aparente (o número e comprimento dos explantes foram registrados). O método gerou plântulas mais vigorosas, embora as respostas tenham variado entre cultivares. Em geral, os explantes com maior número de gemas brotadas produziram maior número final de brotos. O início da brotação variou entre cultivares, mas não pareceu afetar o crescimento dos brotos. Apenas a cv. Mercker x 239 DA-2 não apresentou resposta satisfatória. As cvs. Roxo Anão e Mole VG x 239 DA-2 aparentemente exibiram o melhor desempenho. Um dos aspectos relevantes da técnica é o uso mínimo de reguladores do crescimento, diminuindo custos e riscos de mutações.

PALAVRAS-CHAVES: micropropagação, cultivares, germoplasma, *Pennisetum purpureum*

UTILIZATION OF AXILLARY MERISTEMS FOR *IN VITRO* CONSERVATION OF ELEPHANTGRASS

ABSTRACT: The continuous utilization of explants from cultured apical meristems as carried out at Embrapa - Gado de Leite, limits elephantgrass germplasm *in vitro* conservation, because of gradual and irreversible loss of vigor. Consequently, the process has to be periodically reinitiated, rendering the method time consuming. An attempt to overcome this problem was carried out with 51 cultivars, using *in vitro* seedling axillary meristems (grown horizontally), with or without addition of naphthaleneacetic acid (NAA). During 45 days, number of sprouted buds per explant, days to sprouting onset, and number of developed shoots were evaluated (explant number and length were recorded). The method resulted in plants with enhanced vigor, although responses varied among cultivars. In general, explants with a higher number of sprouted buds yielded a higher final shoot number. Sprouting onset varied markedly, but apparently did not affect shoot development. Mercker x 239 DA-2 was the only cultivar that showed a lesser response to the method, in contrast to the best performance of Roxo Anão and Mole VG x 239 DA-2. One relevant advantage of the technique is the minimal utilization of growth regulators, lowering costs and risks of mutations.

KEYWORDS: cultivars, germplasm, micropropagation, *Pennisetum purpureum*

INTRODUÇÃO

Estudos mostram que o capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schum.) pode ser multiplicado *in vitro* pela micropropagação (ZANETTE et al., 1988; PASSOS e KATTERMAN, 1994). A conservação *in vitro* do banco ativo de germoplasma de capim-elefante foi iniciada na Embrapa-Gado de Leite, visando reduzir custos, aumentar a segurança da preservação e intercâmbio de germoplasma. No entanto, com sucessivas repicagens de meristemas apicais,

ocorreu perda gradual de vigor, comprometendo a eficiência do método. Diversas causas podem ser atribuídas para o problema, como os efeitos de fatores fisiológicos e ambientais (ABE e FUTSUHARA, 1986), o uso de explantes não apropriados (VASIL, 1987) e a provável necessidade de adição de auxinas ao meio (GRATTAPAGLIA e MACHADO, 1990). Visto que observações preliminares mostraram que gemas axilares apresentaram elevada germinação *in vitro*, seu uso poderia minorar o problema. O presente

estudo é um exame exploratório da conservação *in vitro* de 51 cultivares de capim-elefante, por meio da micropropagação de meristemas axilares, com ou sem adição de ANA ao meio de cultivo.

MATERIAIS E MÉTODOS

As culturas foram estabelecidas com explantes apicais de 51 cultivares, desinfestados com etanol a 70% por 1-5 min., hipoclorito de sódio 1% por 30 min., enxaguados 3 vezes com água destilada estéril e inoculados em meio MS (MURASHIGE & SKOOG, 1962), adicionado de vitaminas WPM (LLOYDE & McCOWN, 1980), 2% de sacarose, 0,3 % de carvão ativado e 0,8% de ágar lavado. As culturas foram repicadas a cada 4-6 meses, por um período de 360 dias, quando a perda de vigor foi observada. No presente estudo, a repicagem foi feita usando segmentos do colmo (meristemas axilares), dispostos horizontalmente sobre meio MS, contendo vitaminas WPM, 2% de sacarose e 0,8% de ágar lavado e adição ou não de 0,125 µM ANA. No período de observação de 45 dias, foram registrados, duas vezes por semana, os seguintes dados: número e comprimento dos explantes, gemas brotadas por explante, dias até o início da brotação, número de brotos desenvolvidos e avaliação visual do vigor. O pH dos meios foi ajustado para 5,7 antes da autoclavagem. As culturas foram incubadas a 30 ± 5 °C, 57 % de U.R., 59,57 µmol/s/m² de radiação e 15 h de período luminoso.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As plântulas obtidas dos explantes axilares inoculados horizontalmente sobre o meio de cultivo apresentaram-se, para a maioria dos acessos, acentuadamente mais vigorosas do que aquelas provenientes da repicagem de meristemas apicais. As respostas tenderam a ser muito variadas (Quadro 1), confirmando ABE & FUTSUHARA (1986). Efeitos do vigor inicial são pouco prováveis, pois o comprimento inicial dos explantes foi similar e as condições de cultivo foram uniformes. Explantes menores pareceram propiciar maior número de propágulos. Explantes com maior número de gemas brotadas produziram maior número final de brotos. A data de início da brotação variou acentuadamente, mas não pareceu influenciar o desenvolvimento dos brotos.

Apenas a cultivar Mercker x 239 DA-2 não apresentou resposta satisfatória. Por outro lado, 9 acessos apresentaram vigor exuberante e 25,

elevado, confirmando a eficiência do método na recuperação de material que já se encontra *in vitro*. Com o uso apenas do MS, as cvs. Costa Rica, IAC Campinas, Mercker Pinda, Mercker Santa Rita, Mole de Volta Grande x 239 DA-2, Roxo Anão, Taiwan A-25 e Vrukwona se destacaram. As cvs. BAG 50, King Grass, Mercker S.E.A., Pusa Gigante Napier, Porto Rico 534-B, Sem Pêlo e Taiwan A-146 foram favorecidas pela adição de ANA. Vale enfatizar que as cvs. Gigante de Pinda, Kizosi, Mole VG x 239 DA-2, Napier, Roxo Anão e Sem Pêlo tenderam a apresentar as maiores produções de brotos no meio MS.

CONCLUSÕES

A micropropagação de segmentos de colmo inoculados na posição horizontal sobre o meio propiciou a obtenção de plântulas com maior vigor, evitando reposições. O uso de reguladores do crescimento foi relativamente menor, diminuindo custos e riscos de mutações. Embora o ANA não seja essencial em alguns casos, seu uso deve ser abordado com mais detalhe.

LITERATURA CITADA

1. ABE, T.; FUTSUHARA, Y. Efficient plant regeneration by somatic embryogenesis from root callus tissues of rice. **Journal of Plant Physiology**, v.121, p.111-118, 1985.
2. GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M.A. Micropropagação. In: TORRES, A.C.; CALDAS, L.S. ed. **Técnicas e aplicações da cultura de tecidos de plantas**. Brasília: EMBRAPA, 1990. p.99-169.
3. PASSOS, L.P.; KATTERMAN, F. Produção de calo embriogênico em capim-elefante, em resposta a diferentes cultivos, explantes e reguladores do crescimento. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, v.23, p.743-753, 1994.
4. ZANETTE, F.; PAILO, W.N.; MORAES, A. Obtenção de mudas de capim elefante (*Pennisetum purpureum* Schum. Var. Napier) por cultura de meristemas. **Revista do Setor de Ciências Agrárias**, v.10, p.175-177, 1988.
5. VASIL, I.K. Developing cell and tissue culture systems for the improvement of cereal and grass crops. **Journal of Plant Physiology**, v.128, p.193-218, 1987.
6. LLOYD; G.B.; McCOWN, B.H. Commercially feasible micropropagation of mountain laurel (*Kalmia latifolia*) by use of shoot tip culture.

Proceedings of the International Plant Propagators Society, v.30, p.421-437, 1980

7. MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. **Physiologia Plantarum**, v.15, p.473-497, 1962.

QUADRO 1. Comportamento *in vitro* de 51 cvs. de capim-elefante em resposta à micropropagação de meristemas axilares. Exp = número de explantes; Compr = comprimento do explante, em cm; Gem = número de gemas brotadas/explante; Início = início da brotação, em dias; e Brot = número de brotos desenvolvidos.

Cultivar	Exp	Compr	Gem	Início	Brot	Vigor
Albano*	3	0,3-0,8	1-3	4-10	2	médio
BAG 27-5	4	0,5-0,8	0-4	4-12	6	elevado
BAG 50*	6	0,4-0,5	2-5	5-24	9	elevado
Capim Cana D'África	2	0,5-1,1	1-3	5-30	2	elevado
Costa Rica	5	0,6-1,1	3-4	4-25	7	exuberante
Cuba 116	1	1,5	8	6-14	1	elevado
Cubano Pinda*	2	0,7	4	3-38	3	elevado
Elefante C. Itapemirim	4	0,4-0,9	1-5	4-32	7	elevado
Elefante da Colômbia	6	0,4-1,0	1-6	0-33	4	médio
Duro de Volta Grande	6	0,4-1,0	2-5	3-41	7	médio
Elefante de Pinda	3	0,4-0,6	1-4	7-17	3	médio
Gigante de Pinda	6	0,4-0,7	2-3	3-31	10	elevado
Gramafante	4	0,6-0,8	2-7	3-11	5	médio
IAC-Campinas	4	0,4-0,6	2-5	5-29	6	exuberante
King Grass*	7	0,6-1,0	1-5	0-30	8	elevado
Kizozí	4	0,5-0,9	3-6	0-27	11	elevado
Mercker	7	0,5-1,2	0-7	0-34	4	médio
Mercker Comum*	1	0,8	5	6-9	2	elevado
Mercker Comum Pinda*	4	0,4-0,6	0-5	0-19	1	médio
Mercker Pinda	8	0,4-0,9	1-8	3-26	8	exuberante
Mercker Pinda México	2	0,6-0,9	3-5	6-17	2	elevado
Mercker Santa Rita	8	0,5-1,4	0-5	3-36	9	exuberante
Mercker S.E.A.*	9	0,3-0,8	0-4	4-21	9	elevado
Mercker x 239 DA-2	1	0,5	0	0	0	-
Mineiro x 239 DA-2	2	0,3-0,4	1-2	4-7	1	médio
Mole VG x 239 DA-2	7	0,6-1,2	1-5	0-27	10	exuberante
Mole VG x 23 A	4	0,8-0,9	2-6	6-13	5	elevado
Mott	1	0,4	2	7	1	médio
Mott F1*	2	0,3-0,4	3-4	7-13	2	elevado
Napier*	10	0,4-0,6	0-5	4-33	15	médio
Napier Nº 2	5	0,5-0,7	3-4	4-18	7	elevado
Napier Volta Grande	5	0,3-1,3	0-4	5-15	6	elevado
Napier x 239 DA-2	5	0,4-0,5	1-3	0-27	6	médio
P 241 Piracicaba*	1	0,8	5	7-14	2	elevado
Porto Rico*	3	0,5-0,7	1-3	4-7	3	elevado
Porto Rico 534-B*	3	0,4-0,6	1-5	4-25	4	exuberante
Pusa Gigante Napier*	9	0,7-1,4	0-5	3-31	5	elevado
Pusa Napier Nº 1	4	0,4-1,3	1-6	3-24	4	médio
Pusa Napier Nº 2*	4	0,3-1,3	0-3	7-17	5	médio
Roxo	2	1,1	2	3-42	2	médio
Roxo Anão	8	0,5-1,1	2-6	5-15	10	exuberante
Sem Pêlo*	10	0,4-0,7	2-6	0-22	24	elevado
Taiwan A-25	2	0,5	3-4	5-13	4	exuberante
Taiwan A-26	4	0,5-1,0	2-4	5-22	7	elevado
Taiwan A-143*	2	0,8-1,1	1-2	6-7	2	médio
Taiwan A-144*	7	0,4-1,0	0-8	5-24	8	médio
Taiwan A-146*	3	0,7-0,9	0-5	4-39	6	elevado
Taiwan A-148	3	0,7-0,9	0-2	6-37	2	elevado
Três Rios	3	0,5	2-3	4-32	3	elevado
Turrialba	6	0,5-0,7	0-6	5-32	2	elevado
Vrukwna	5	0,8-1,0	3-4	6-38	8	exuberante

*Com adição de ácido naftaleno-acético (ANA).

