

CONSERVAÇÃO *IN VITRO* DO GERMOPLASMA DE CAPIM-ELEFANTE POR MEIO DA MICROPROPAGAÇÃO DE MERISTEMAS AXILARES

IN VITRO CONSERVATION OF ELEPHANTGRASS GERMPLASM OF MICROPROPAGATION OF AXILLARY MERISTEMS

Maria Coletta Vidigal¹ Leônidas Paixão Passos² José Luiz Oliveira da Silva³

RESUMO

Na conservação *in vitro* do capim-elefante foi observado que, ao longo dos subcultivos sucessivos de meristemas apicais, ocorre gradual perda de vigor nas plântulas. Essa limitação torna necessária a reintrodução de acessos na coleção, comprometendo a eficiência do processo. Visando solucionar o problema, foi conduzido um estudo com 51 cultivares de capim-elefante, onde, na repicagem efetuada a cada 4 a 6 meses, foram inoculados meristemas axilares da plântula, dispostos horizontalmente sobre meio MS, adicionado ou não de ácido naftalenoacético (ANA). Neste ciclo, que durou 45 dias, foram avaliadas as seguintes variáveis: número e comprimento dos explantes, gemas brotadas por explante, início e vigor da brotação, número de brotos desenvolvidos e percentagem de morte. Os resultados sugerem que esse método melhorou o vigor acentuadamente; embora as respostas, com e sem adição de ANA ao meio, tenham sido muito variadas entre cultivares. Apenas a cv. Mercker Comum Pinda não apresentou resposta satisfatória, devendo ser futuramente submetida a outras alternativas para propagação. Com base na produção de brotos, as cvs. Napier e Sem Pêlo apresentaram o melhor desempenho, na presença de ANA. O método mostrou-se promissor também pelo uso mínimo de reguladores do crescimento, reduzindo custos e a possibilidade de mutações.

Palavras-chave: capim-elefante, cultura de tecidos, germoplasma, micropropagação, *Pennisetum purpureum*.

SUMMARY

The continuous utilization of explants obtained from cultured apical meristems limits elephantgrass *in vitro* conservation because of gradual loss of vigor. Such a restriction makes it necessary to periodically replace accessions in the collection, reducing the efficiency of the technique. To overcome this problem, a study was carried out with 51 elephantgrass cultivars,

where reculturing was conducted every 4 to 6 months using *in vitro* seedling axillary meristems, with or without the addition of naphthaleneacetic acid (NAA) to the MS culture medium. During this reculturing cycle, which lasted 45 days, the following variables were evaluated: explant number and length, sprouted buds per explant, days to sprouting onset, sprouting vigor, number of developed shoots and percentage of death. The results suggest that the method improved seedling vigor markedly, although cultivar responses, regardless of NAA addition, showed high variation. 'Mercker Comum Pinda' was the sole case showing no or weak response to either MS or NAA-enriched MS medium. Based on the number of sprouts developed, 'Napier' and 'Sem Pêlo' exhibited the best performance, when NAA was added to the medium. This method showed high potential to lower costs and reduce risks of mutations because of the limited utilization of growth regulators.

Key words: elephantgrass, germplasm, micropropagation, *Pennisetum purpureum*, tissue culture.

INTRODUÇÃO

A micropropagação *in vitro* tem se tornado importante para o manejo das plantas cultivadas, principalmente na limpeza clonal e multiplicação de espécies herbáceas e arbustivas (GRATTAPAGLIA & MACHADO, 1990). O método é aplicado na produção massal, economizando tempo e espaço; e, obtenção de indivíduos com características genéticas idênticas à matriz ou favorecendo a variabilidade genética (OLIVEIRA *et al.*, 1991). Avanços mais recentes incluem sua aplicação em espécies recalcitrantes (MOLINA & SCHOBERT, 1996) e medição do crescimento rítmico com base na época de excisão e posição da gema (EL-MORSY & MILLET, 1996).

¹Bioquímica, MSc., Pesquisadora Embrapa - Gado de Leite (CNPGL), Rua Eugênio do Nascimento, 610, Dom Bosco 36038-330 - Juiz de Fora - MG. E-mail: coletta@cnpgl.embrapa.br (autor para correspondência).

²Engenheiro Agrônomo, Ph.D., Pesquisador Embrapa, CNPGL.

³Engenheiro Agrônomo, MSc., Pesquisador Embrapa-CNPGL.

O capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schum.) é uma forrageira de elevada produtividade que apresenta crescente uso na produção de leite no Brasil. No entanto, o potencial dos diversos citótipos disponíveis ainda está por ser investigado, tornando necessária a criação de mecanismos que permitam a rápida disseminação de genótipos desejáveis. Nos estudos conduzidos com a micropropagação da espécie, os seguintes resultados foram obtidos: RAJASEKARAN *et al.* (1986) desenvolveram um procedimento eficaz para o híbrido triplóide *P. glaucum* x *P. Purpureum* obtido a partir de calos embriogênicos, após promoção de enraizamento em ágar semi-sólido com os sais inorgânicos do meio MS em meia força. ZANETTE *et al.* (1988) cultivaram meristemas apicais em meio MS na produção de mudas da cv. Napier. Todavia, foi necessária uma repicagem para meio de enraizamento, tendo ocorrido deficiências de N, P e K, que exigiram correções. PASSOS & KATTERMAN (1994) obtiveram a multiplicação *in vitro* a partir de sementes para a produção de explantes, visando à indução de calogênese.

Apesar desse progresso, ainda é necessário que se estude genótipos contrastantes, para o estabelecimento de procedimentos abrangentes. Por exemplo, na conservação *in vitro* do banco ativo de germoplasma de capim-elefante da Embrapa-Gado de Leite, o uso de meristemas apicais induziu gradual perda de vigor com o decorrer dos ciclos de cultivo, comprometendo a eficiência do método pela necessidade freqüente de reposições.

Diversas causas podem ser atribuídas para o problema. Segundo VASIL (1987), a relação entre genótipo e competência morfogenética *in vitro* é complexa e indireta, fortemente influenciada por fatores fisiológicos e ambientais. Estes, por sua vez, afetam a síntese, transporte e disponibilidade de reguladores do crescimento. Assim, mesmo linhagens ou genótipos considerados altamente recalcitrantes podem ser induzidos à morfogênese, quando explantes apropriados, em estádios de desenvolvimento definidos, são removidos de plantas cultivadas em condições adequadas. Por outro lado, plantas que normalmente experimentam morfogênese *in vitro* são difíceis de se regenerar a partir de explantes não apropriados ou obtidos sob condições de crescimento adversas. Além disso, têm sido observadas variações nas respostas de culturas de órgãos e tecidos em diferentes genótipos de gramíneas, tais como arroz (ABE & FUTSUHARA, 1985) e trigo (MATHIAS & FUKUI, 1986).

Outros fatores morfológicos e fisiológicos podem também estar envolvidos. O ácido naftalenoacético (ANA) proporciona diferenciação da planta inteira a partir de meristemas, quando aplicado como

única fonte exógena de reguladores do crescimento (KARTHA, 1981). Em decorrência, a conservação do capim-elefante *in vitro* poderia ser melhorada pelo subcultivo contínuo de meristemas axilares das plântulas e pela adição ou não de ANA.

O presente estudo objetivou examinar a conservação *in vitro* de 51 cultivares de capim-elefante, através da micropropagação de meristemas axilares, com ou sem adição de ANA ao meio.

MATERIAIS E MÉTODOS

A conservação *in vitro* de cultivares foi conduzida na Embrapa-Gado de Leite, em 51 acessos do Banco Ativo de Germoplasma de Capim-Elefante (BAG). As culturas foram estabelecidas usando gemas do segmento apical de brotos em expansão, que foram imersas em etanol 70%, por 5 a 10 min, e tratadas com solução de hipoclorito de sódio 1%, por 30 min. Após enxaguados três vezes em água destilada estéril, os explantes foram inoculados em meio salino MS (MURASHIGE & SKOOG, 1962), acrescido das vitaminas WPM (LLOYD & McCOWN, 1980), 2% de sacarose, 0,3% de carvão ativado e 0,8% de ágar lavado. A cada 4 a 6 meses, os cultivos foram repicados com a transferência do terço apical da plântula. O processo foi conduzido por 360 dias, sendo então iniciado o estudo de avaliação do vigor.

Foram usados segmentos de 0,4 a 2,0cm dos dois terços restantes do colmo das plântulas com meristemas axilares. Cada segmento foi disposto horizontalmente sobre a superfície do meio MS, acrescido das vitaminas WPM, 2% de sacarose e 0,8% de ágar e observados por 45 dias.

Após esse período, as cultivares que apresentavam bom desenvolvimento visual foram mantidas em meio MS; aquelas com menor vigor e as que não desenvolveram brotações foram inoculadas em meio MS, adicionado de ANA 0,125µM. Assim, algumas cultivares foram estudadas em meio MS, outras, tanto em meio MS como no meio MS+ANA, e ainda outras, somente em meio MS+ANA, conforme discriminação na Tabela 1.

Antes da autoclavagem, o pH dos meios foi corrigido para 5,7. As culturas foram incubadas a 30 ± 5 °C, 57% de U.R., luminosidade de 72,07 W/m², radiação de 159,57 µmol/s/m² e 15 h de período luminoso.

O período de estudo foi de 45 dias, com duas observações semanais das seguintes variáveis: número e comprimento dos explantes, gemas brotadas por explante, início e vigor da brotação (avaliado visualmente como A = exuberante, B = elevado, C = médio e D = baixo), número de brotos desenvolvidos, e percentagem de brotos mortos.

TABELA 1a - Resultados do nº e comprimento dos explantes, nº de gemas brotadas/explante, início e vigor da brotação (avaliado visualmente como A = exuberante, B = elevado, C = médio e D = baixo), nº de brotos desenvolvidos e porcentagem de brotos mortos, na conservação *in vitro* de 51 cultivares de capim-elefante, através da micropropagação de explantes axilares em meio MS, adicionado ou não de ácido naftalenoacético (ANA).

Cultivar	Meio	Explantes (Nº)	Comprimento do Explante (cm)	Gemas Brotadas (Nº/Explante)	Dias para o Início da Brotação	Vigor da Brotação	Brotos Desenvolvidos (Nº)	Morte (%)
Albano	MS	2	0,7 a 2,0	2	17 a 18	D	0	50
	MS+ANA	3	0,3 a 0,8	1 a 3	4 a 10	C	2	25
BAG 27 - 5	MS	4	0,5 a 0,8	0 a 4	4 a 12	B	6	0
BAG 50	MS	5	0,4 a 0,8	2 a 4	5 a 33	B	6	0
	MS+ANA	6	0,4 a 0,5	2 a 5	5 a 24	B	9	0
Capim Cana D'África	MS	2	0,5 a 1,1	1 a 3	5 a 30	B	2	0
	MS+ANA	3	0,5 a 0,7	2 a 3	5 a 12	C	5	0
Costa Rica	MS	5	0,6 a 1,1	3 a 4	4 a 25	A	7	0
	MS+ANA	7	0,5 a 1,4	1 a 7	2 a 34	A	10	0
Cuba 116	MS	1	1,5	8	6 a 14	B	1	14
	MS+ANA	2	0,5 a 0,9	3 a 4	3 a 21	B	2	0
Cubano Pinda	MS+ANA	2	0,7	4	3 a 38	B	3	0
Elefante C. Itapemirim	MS	4	0,4 a 0,9	1 a 5	4 a 32	B	7	0
	MS+ANA	3	0,3 a 1,4	1 a 2	3 a 14	B	3	0
Elefante da Colômbia	MS	6	0,4 a 1,0	1 a 6	0 a 33	C	4	61
Duro de Volta Grande	MS	6	0,4 a 1,0	2 a 5	3 a 41	C	7	16
	MS+ANA	3	0,5 a 0,6	0 a 1	3 a 11	D	1	50
Elefante de Pinda	MS	3	0,4 a 0,6	1 a 4	7 a 17	C	3	0
	MS+ANA	1	0,6	0 a 2	7	C	1	0
Gigante de Pinda	MS	6	0,4 a 0,7	2 a 3	3 a 31	B	10	12
	MS+ANA	2	0,5 a 0,8	2	10 a 14	D	2	0
Gramafante	MS	4	0,6 a 0,8	2 a 7	3 a 11	C	5	0
	MS+ANA	1	1,5	3	6	C	1	0
IAC - Campinas	MS	4	0,4 a 0,6	2 a 5	5 a 29	A	6	0
King Grass	MS	2	0,8	3	4 a 19	A	3	17
	MS+ANA	7	0,6 a 1,0	1 a 5	0 a 30	B	8	0
Kizozí	MS	4	0,5 a 0,9	3 a 6	0 a 27	B	11	0
	MS+ANA	3	0,6 a 0,8	0 a 7	0 a 11	B	4	0
Mercker	MS	7	0,5 a 1,2	0 a 7	0 a 34	C	4	5
	MS+ANA	4	0,7 a 2,0	3 a 5	4 a 28	A	3	7
Mercker Comum	MS+ANA	1	0,8	5	6 a 9	B	2	0

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A inoculação de explantes axilares na posição horizontal melhorou o vigor com relação ao uso de explantes apicais, como mostra o caso típico ilustrado na Figura 1. Todavia, as respostas a esse método, independentemente da adição de ANA ao meio, foram muito variadas e não dependeram dos grupos morfológicos ou fenológicos de cultivares (Tabela 1), confirmando observações de ABE & FUTSUHARA (1985) e MATHIAS & FUKUI (1986) em outras gramíneas. Possíveis diferenças de vigor inicial são pouco prováveis, haja vista a baixa variação no comprimento dos explantes usados e as condições ambientais uniformes de cultivo. Na realidade, o uso de explantes menores pareceu favorecer a obtenção de maior número de propágulos.

Geralmente, os explantes que propiciaram maior número de gemas brotadas também produziram maior número final de brotos. A data de início da brotação variou acentuadamente; mas não pareceu influenciar o desenvolvimento dos brotos; como se pode observar na Tabela 1, alguns explantes já apresentavam gemas axilares em desenvolvimento na inoculação, tais como o BAG 27-5, Elefante da Colômbia, King Grass e Kizozí; outros, como Duro de Volta Grande e Roxo, chegaram a ter início de brotação, respectivamente, no 41º e 42º dia após a inoculação.

Os dados da Tabela 1 mostram ainda que as seguintes cultivares apresentaram alta produção de brotos apenas no MS: BAG 27-5, IAC Campinas, Mercker Pinda, Mercker Santa Rita, Mole VG x 239 DA-2, Napier Nº 2 e Napier x 239 DA-2. As cvs.

TABELA 1b - Resultados do nº e comprimento dos explantes, nº de gemas brotadas/explante, início e vigor da brotação (estimado visualmente como A = exuberante, B = elevado, C = médio e D = baixo), nº de brotos desenvolvidos e porcentagem de brotos mortos, na conservação *in vitro* de 51 cultivares de capim-elefante, através da micropropagação de explantes axilares em meio MS, adicionado ou não de ácido naftalenoacético (ANA).

Cultivar	Meio	Explantes (Nº)	Comprimento do Explante (cm)	Gemas Brotadas (Nº/Explante)	Dias para o Início da Brotação	Vigor da Brotação	Brotos Desenvolvidos (Nº)	Morte (%)
Mercker Comum Pinda	MS	2	0,4 a 0,6	0 a 3	0 a 4	C	1	0
	MS+ANA	4	0,4 a 0,6	0 a 5	0 a 19	C	1	44
Mercker Pinda	MS	8	0,4 a 0,9	1 a 8	3 a 26	A	8	3
Mercker Pinda México	MS	2	0,6 a 0,9	3 a 5	6 a 17	B	2	0
Mercker Santa Rita	MS	8	0,5 a 1,4	0 a 5	3 a 36	A	9	14
Mercker S.E.A.	MS	3	0,3 a 0,6	1 a 6	7 a 25	C	3	0
	MS+ANA	9	0,3 a 0,8	0 a 4	4 a 21	B	9	6
Mercker x 239 DA - 2	MS	1	0,5	0	0	-	0	0
Mineiro x 239 DA - 2	MS	2	0,3 a 0,4	1 a 2	4 a 7	C	1	33
Mole VG x 239 DA - 2	MS	7	0,6 a 1,2	1 a 5	0 a 27	A	10	8
Mole VG x 23 A	MS	4	0,8 a 0,9	2 a 6	6 a 13	B	5	0
	MS+ANA	1	0,8	1	8	B	1	0
Mott	MS	1	0,4	2	7	C	1	50
Mott F1	MS	1	1,4	2	6	B	1	0
	MS+ANA	2	0,3 a 0,4	3 a 4	7 a 13	B	2	0
Napier	MS	5	0,5 a 2,0	0 a 7	4 a 18	C	4	0
	MS+ANA	10	0,4 a 0,6	0 a 5	4 a 33	C	15	3
Napier Nº 2	MS	5	0,5 a 0,7	3 a 4	4 a 18	B	7	0
	MS+ANA	2	0,5 a 0,6	4	5 a 19	C	4	0
Napier Volta Grande	MS	5	0,3 a 1,3	0 a 4	5 a 15	B	6	18
	MS+ANA	2	0,7	1 a 3	5 a 12	B	2	0
Napier x 239 DA - 2	MS	5	0,4 a 0,5	1 a 3	0 a 27	C	6	0
P 241 Piracicaba	MS	1	0,5	3	7	B	1	0
	MS+ANA	1	0,8	5	17 a 31	B	2	0
Porto Rico	MS+ANA	3	0,5 a 0,7	1 a 3	3 a 31	B	3	17
Porto Rico 534 - B	MS+ANA	3	0,4 a 0,6	1 a 5	4 a 25	A	4	0
Pusa Gigante Napier	MS+ANA	9	0,7 a 1,4	0 a 5	3 a 31	B	5	0
Pusa Napier Nº 1	MS	4	0,4 a 1,3	1 a 6	3 a 24	C	4	0
Pusa Napier Nº 2	MS	4	0,3 a 0,7	0	ausente	-	0	0
	MS+ANA	4	0,3 a 1,3	0 a 3	7 a 17	C	5	0

Elefante da Colômbia, Mercker Pinda México, Mott e Roxo não apresentaram problemas de vigor, mas o número de brotos produzidos para repicagem não foi elevado; a primeira delas apresentou alto índice de mortandade. O híbrido Mercker x 239 DA-2 não se desenvolveu e Mineiro x 239 DA-2 exibiu baixo crescimento.

Quando se comparou, por meio do número de brotos desenvolvidos, os tratamentos MS + ANA, verificou-se que as cvs. Albano, BAG 50, Mercker, Mercker S.E.A., Napier, Pusa Napier Nº2, Sem Pêlo e Taiwan A-146 foram favorecidas pela adição de ANA. As cvs. Capim Cana d'África, Costa Rica, Cuba 116, Elefante de Pinda, Gramafante, King Grass, Mercker Comum Pinda, Mole VG x 23 A, Mott F1, Napier VG, P 241 Piracicaba, Roxo Anão, Três Rios e Vrukwona aparentemente não foram afetadas. As cvs. Elefante Cachoeiro do

Itapemirim, Duro de VG, Gigante de Pinda, Kizozí, Napier Nº2, Taiwan A-25, Taiwan A-26, Taiwan A-144, Taiwan A-148 e Turrialba tenderam a ser prejudicadas pela adição de ANA.

As cvs. BAG 27-5, Duro de VG, Elefante de Pinda, Kizozí, Mercker, Mercker Comum de Pinda, Mercker Santa Rita, Mercker S.E.A., Napier, Napier VG, Pusa Gigante Napier, Pusa Napier Nº2, Taiwan A-144, Taiwan A-146, Taiwan A-148, Turrialba e Vrukwona não apresentaram brotações em alguns explantes. Considerando a produção de brotos, as cvs. Napier e Sem Pêlo apresentaram o melhor desempenho, quando o ANA foi adicionado ao meio. A cultivar Porto Rico 534-B foi a que mais se destacou entre aquelas micropropagadas com sucesso no meio contendo ANA.

É possível que níveis hormonais endógenos possam ter variado entre explantes da mesma

TABELA 1c - Resultados do n° e comprimento dos explantes, n° de gemas brotadas/explante, início e vigor da brotação (estimado visualmente como A = exuberante, B = elevado, C = médio e D = baixo), n° de brotos desenvolvidos e porcentagem de brotos mortos, na conservação *in vitro* de 51 cultivares de capim-elefante, através da micropropagação de explantes axilares em meio MS, adicionado ou não de ácido naftalenoacético (ANA).

Cultivar	Meio	Explantes (N°)	Comprimento do Explante (cm)	Gemas Brotadas (N°/Explante)	Dias para o Início da Brotação	Vigor da Brotação	Brotos Desenvolvidos (N°)	Morte (%)
Roxo	MS	2	1,1	2	3 a 42	C	2	0
Roxo Anão	MS	8	0,5 a 1,1	2 a 6	5 a 15	A	10	17
	MS+ANA	3	0,9 a 1,0	3 a 6	4 a 14	A	4	0
Sem Pêlo	MS	3	0,8 a 1,3	2 a 3	4 a 7	B	3	0
	MS+ANA	10	0,4 a 0,7	2 a 6	0 a 22	B	24	0
Taiwan A - 25	MS	2	0,5	3 a 4	5 a 13	A	4	0
	MS+ANA	4	0,5 a 1,0	1 a 3	4 a 35	B	3	14
Taiwan A - 26	MS	4	0,5 a 1,0	2 a 4	5 a 22	B	7	0
	MS+ANA	1	0,5	1	24	D	0	100
Taiwan A - 143	MS+ANA	2	0,8 a 1,1	1 a 2	6 a 7	C	2	0
Taiwan A - 144	MS	1	0,7	3	6 a 20	A	1	0
	MS+ANA	7	0,4 a 1,0	0 a 8	5 a 24	C	8	0
Taiwan A - 146	MS	2	1,2 a 1,5	0	ausente	-	0	0
	MS+ANA	4	0,7 a 0,9	0 a 5	4 a 39	B	6	17
Taiwan A - 148	MS	3	0,7 a 0,9	0 a 2	6 a 37	B	2	0
	MS+ANA	1	0,7	1	6	D	1	0
Três Rios	MS	3	0,5	2 a 3	4 a 32	B	3	0
	MS+ANA	2	1 a 1,4	1 a 2	3 a 39	B	3	0
Turrialba	MS	6	0,5 a 0,7	0 a 6	5 a 32	B	6	0
	MS+ANA	9	0,4 a 1,2	0 a 4	5 a 24	D	7	23
Vrukwna	MS	5	0,8 a 1,0	3 a 4	6 a 38	A	8	0
	MS+ANA	4	0,5 a 0,8	0 a 4	5 a 19	A	6	0

cultivar e causado as variações apresentadas. Observações realizadas por EL-MORSY & MILLET (1996), sobre os efeitos da posição da gema e da época de excisão sobre o crescimento rítmico de *Citrus aurantium* parecem corroborar essa alternativa. A padronização dos ciclos de repicagem em 45 dias sugere que a mobilização de hormônios para o desenvolvimento das gemas pode ter sido limitante. Outra possibilidade seria uma variação no nível de proteínas receptoras de hormônios nos sítios de crescimento, que poderia também explicar o aumento de vigor dos brotos provenientes de explantes axilares. Determinações destes dois componentes seriam necessárias em trabalhos futuros, para verificar essas possibilidades.

Diferentemente do trabalho de ZANETTE *et al.* (1988), não foram observadas deficiências de N, P e K, nem houve necessidade de indução ao enraizamento, indicando uma economia no uso de reguladores do crescimento.

A micropropagação também mostrou-se eficaz em plântulas propagadas por sementes (PASSOS & KATTERMAN, 1994), para as cvs. Napier, Taiwan A-26 e Taiwan A-144 em meio MS. Essas plântulas mostraram-se adequadas como fon-

tes de explantes para a produção de calos embriogênicos, visando à obtenção de novos citótipos. Entretanto, o material obtido não poderia ser usado para reprodução vegetativa dos genótipos que lhe deram origem, por causa da segregação, decorrente da elevada heterozigose da espécie (HANNA, 1994). No presente estudo, as plântulas obtidas, por causa da propagação vegetativa, conservam as características do material de origem e apresentam a vantagem adicional de poderem ser usadas na indução de calogênese e de variação somaclonal pelas técnicas *in vitro* adequadas.

CONCLUSÕES

A técnica de inoculação de meristemas axilares pode ser aplicada a numerosos genótipos da espécie, revertendo a progressiva perda de vigor causada pelo subcultivo continuado de meristemas apicais.

Não há limitações para o desenvolvimento radicular dos micropropágulos, dispensando repicagens para meios indutores. Essa facilidade reduz o uso de reguladores do crescimento, com relação aos outros métodos relatados na literatura,

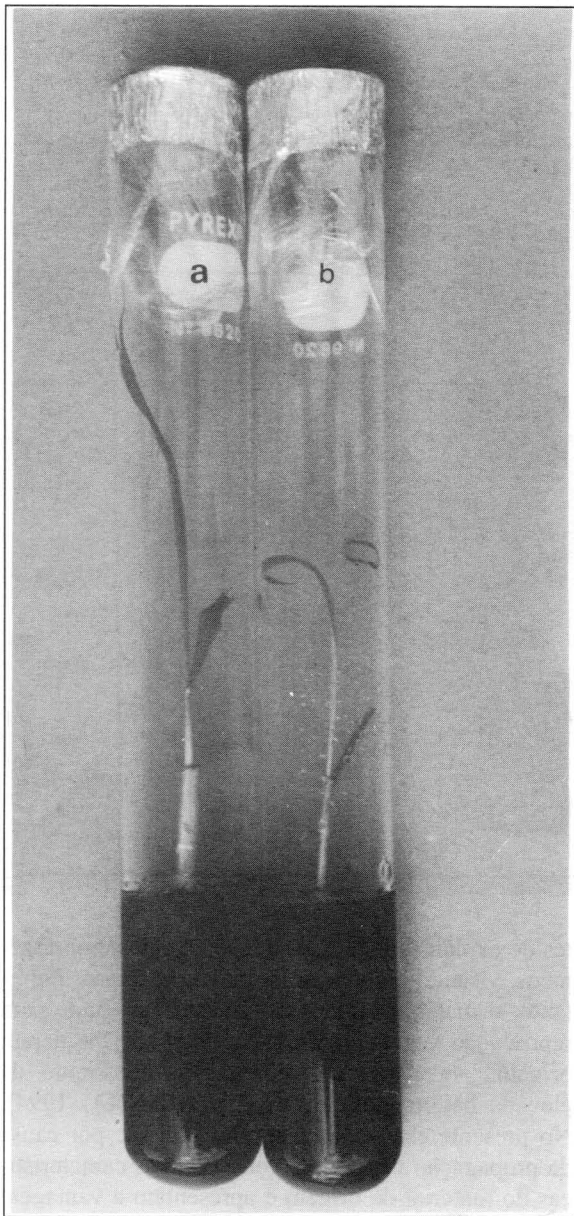


Figura 1 – Amostras típicas de micropropagação usando: (A) Plântula proveniente de meristema axilar inoculada na posição horizontal; e (B) Plântula repicada de meristema apical.

diminuindo custos e riscos de indução de mutações a longo prazo.

Embora o uso do ácido naftalenoacético possa ser descartado para algumas cultivares estudadas, sua necessidade, em outros casos, indica que essa alternativa deve ser abordada com mais critério. Por exemplo, quando ele é adicionado ao meio, as cvs. Napier e Sem Pêlo apresentam o melhor desempenho do estudo.

As cultivares de capim-elefante devem ser examinadas individualmente para o estabelecimento

de condições ótimas de conservação *in vitro*. A expansão do uso do método para os demais acessos existentes no banco ativo de germoplasma de capim-elefante torna-se prioritária, visando permitir pronta disponibilidade da biodiversidade da espécie para estudos genéticos. As implicações da melhoria do sistema são evidentes para a rápida disseminação de material vegetativo de interesse.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a colaboração do laboratorista Sebastião de Castro Evaristo na condução do experimento. As cultivares de capim-elefante, provenientes do BAG da Embrapa-Gado de Leite, foram gentilmente cedidas pelo Dr. Antônio Vander Pereira.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABE, T., FUTSŪHARA, Y. Efficient plant regeneration by somatic embryogenesis from root callus tissues of rice. **Journal of Plant Physiology**, Stuttgart, v.121, p.111-118, 1985.
- EL-MORSY, A.A., MILLET, B. Rhythmic growth and optimization of micropropagation: the effect of excision time and position of axillary buds on *in vitro* culture of *Citrus aurantium* L. **Annals of Botany**, London, v.78, p.197-202, 1996.
- GRATTAPAGLIA, D., MACHADO, M.A. Micropropagação. In: TORRES, A.C., CALDAS, L.S. eds. **Técnicas e aplicações da cultura de tecidos de plantas**. Brasília: EMBRAPA-CNPH, 1990. p.99-169.
- HANNA, W.W. Elephantgrass improvement. In: PASSOS, L.P., CARVALHO, L. de A., MARTINS, C.E. ed. **SIMPÓSIO SOBRE CAPIM-ELEFANTE, 2.**, 1994, Juiz de Fora. **Anais...** Coronel Pacheco: EMBRAPA-CNPGL, 1994. p.72-81.
- KARTHA, K.K. Meristem culture and cryopreservation - methods and applications. In: THORPE, T.A. **Plant tissue culture**. Methods and applications in agriculture. New York: Academic Press, 1981. p.181-211.
- 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**, Boulder, v.30, p.421-437, 1980.
- MATHIAS, R.J., FUKUI, K. The effect of specific chromosome and cytoplasmic substitutions on the tissue culture response of wheat (*Triticum aestivum*) callus. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v.71, p.797-800, 1986.
- MOLINA, S.M., SCHOBERT, C. Micropropagation of *Ricinus communis*. **Journal of Plant Physiology**, Stuttgart, v.147, p.270-272, 1996.
- MURASHIGE, T., SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.15, p.473-497, 1962.
- OLIVEIRA, E.T. de, GROTHGE, M.T., GONÇALVES, A.N., *et al.* Micropropagação de *Pinus* tropicais. In: CROCOMO, O.J., SHARP, W.R., MELO, M. eds. **Biotechnology para produção vegetal**. Piracicaba: CEBTEC/FEALQ, 1991. p.355-370.

- 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**, Viçosa, v.23, p.743-753, 1994.
- RAJASEKARAN, K., SCHANK, S.C., VASIL, I.K. Characterization of biomass production, cytology and phenotypes of plants regenerated from embryogenic callus cultures of *Pennisetum americanum* x *P. purpureum* (hybrid triploid napiergrass). **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v.73, p.4-10, 1986.
- VASIL, I.K. Developing cell and tissue culture systems for the improvement of cereal and grass crops. **Journal of Plant Physiology**, Stuttgart, v.128, p.193-218, 1987.
- 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**, Curitiba, v.10, p.175-177, 1988.

Ciência Rural, v. 28, n. 3, 1998.