

Multiplicação *in vitro* de *Genipa americana* L.: Efeito da orientação do explante no meio de cultura.

Maria Josirene S. Moreira¹ Moema Angélica Chaves da Rocha² Lucimário P. Bastos³ e Maria Angélica P. de Carvalho Costa⁴.

¹Mestranda do Programa de Pós-graduação em Ciências Agrárias, Campus da UFRB, Cruz das Almas, Bahia, CEP: 44380-000, fone: (75)3621-2002, e-mail: mjmoreira28@yahoo.com.br;

²Doutoranda do Programa de Pós-graduação em Ciências Agrárias, UFRB, Cruz das Almas, Bahia, CEP: 44380-000, fone: (75)3621-2002, e-mail: moemachaves@yahoo.com.br; ³Engº Agrônomo - EBDA, Ribeira do Pombal, Bahia, CEP: 44380-000, fone: (75) 3621-2002, e-mail: agronero@yahoo.com.br; ⁴Professora do Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas da UFRB, Cruz das Almas, Bahia, CEP: 44380-000, fone: (75)3621-2002, e-mail:mapcosta@ufba.br.

Introdução

O sucesso da cultura de tecidos e da morfogênese *in vitro* depende do tipo, do tamanho, da idade do explante e das condições de cultivo *in vitro*. Em plantas lenhosas, os tecidos procedentes de plântulas são usados predominantemente como fonte de explantes devido a seu grande potencial regenerativo. A organogênese a partir de explantes oriundos de plântulas tem sido reportada em carambola (Litz e Conover, 1980), *annonaceae* (Santana, 2003), maçã (Erig e Schuch, 2002).

A posição do explante no meio de cultivo sugere exercer função importante na organogênese *in vitro*, pois segundo George (1993) a polaridade natural dos eventos regenerativos é normalmente atribuída ao movimento de substâncias reguladoras de crescimento no interior da planta. A adição de auxinas e citocininas ao meio de cultura podem reforçar a polaridade normalmente observada no explante, induzindo a regeneração de partes não responsivas de órgãos ou conduzindo ao desaparecimento ou reversão da tendência polar.

O objetivo deste trabalho foi observar o efeito da posição do explante em relação à multiplicação *in vitro* de genótipos de jenipapeiro.

Material e métodos

Sementes de frutos maduros foram coletados de plantas distintas em duas localidades do Recôncavo Baiano: no município de Cruz das Almas - BA (JRB59) e no povoado de Outeiro Redondo na região de Maragojipe-BA (JRB69) e colocadas para germinar *in vitro*, seccionados em fragmentos de aproximadamente 1,0 cm de comprimento cada, foram incubados em meio de cultura MS (Murashige e Skoog, 1962) suplementado com 30 g L⁻¹ de sacarose e 17,74µM BAP, cuja concentração foi determinada em função do experimento onde foram induzidas brotações adventícias em segmentos de hipocótilo, utilizados como explante, submetidos as concentrações 0,00; 2,22; 8,87, 17,74 e 26,76 µM de BAP. Os explantes foram dispostos nas seguintes posições:

1. Horizontalmente sobre a superfície do meio de cultura;
2. Verticalmente na posição normal, com a extremidade basal do segmento inserido no meio de cultura;
3. Verticalmente no meio na posição invertida.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado 2 X 3 (sendo 2 genótipos e 3 orientações do explante no meio de cultura), com 10 repetições por tratamento, sendo que cada repetição foi constituída de quatro segmentos de hipocótilo por frasco. As culturas foram mantidas em sala de crescimento durante 60 dias sob condições de fotoperíodo de 16 horas, temperatura de 27 ± 1 °C e densidade de fluxo de fótons 22 mE m⁻² s⁻¹.

Foram analisadas as seguintes variáveis: porcentagem e tipo de calo induzido, porcentagem de brotações induzidas, número médio de brotações por explantes, e número médio de folhas expandidas aos 30 e 60 dias. Foi realizada análise de variância considerando o delineamento inteiramente casualizado no esquema fatorial 2X3, sendo 2 genótipos e 3 posições, com 10 repetições. Cada parcela experimental foi formada por 4

explantes. As variáveis número médio das brotações e número médio de folhas expandidas foram transformadas para $\sqrt{x+0,5}$ visando o atendimento das pressuposições da análise de variância. As médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. As análises estatísticas foram realizadas utilizando o programa estatístico SAS - Statistical Analysis System (SAS INSTITUTE INC., 2000).

Resultados e discussões

O resumo da análise de variância evidencia que a interação genótipo x orientação do explante foi significativa tanto para o número médio de brotações como para número médio de folhas expandidas ($P \leq 0,01$). O efeito isolado dos genótipos demonstrou-se significativo para número médio de brotações e significativo para número médio de folhas expandidas ($P \leq 0,05$), também foi verificado que o efeito isolado da orientação do explante foi significativo para as duas variáveis em questão (Tabela 1).

TABELA 1. Resumo da análise de variância para número médio das brotações (NMB) e número médio de folhas expandidas (NMFE) aos 60 dias de cultivo, provenientes de hipocótilos de jenipapeiro, em diferentes orientações. Cruz das Almas – BA, 2006.

Fonte de Variação	GL	Quadrados médios	
		NMB ¹	NMFE ¹
Genótipo (A)	1	0,6427 **	0,1595 *
Orientação do explante (B)	2	1,4619 **	0,1237 **
A x B	2	1,1607 **	0,1438 **
Resíduo	54	0,1048	0,0234
CV(%)	59	27,0922	18,3886

* e ¹ significativo a 1 e 5% de probabilidade, respectivamente, pelo teste de F.

¹ transformado para raiz ($x + 0,5$).

A tabela 2 revela os dados referentes à porcentagem de explantes responsivos para total de calos formados, calos friáveis ou duros, e brotações. Os segmentos inseridos no meio de cultivo na posição horizontal obtiveram os maiores valores para porcentagem de calos no genótipo JRB59 (100%), ao passo que, o genótipo JRB69 expressou a melhor reposta para formação de calos na posição vertical normal. No presente estudo houve a predominância de calos considerados duros, de coloração branca ou verde claro, esponjosa e sem brilho. Para a maioria dos tratamentos ocorreu a formação de calos nas duas extremidades de corte, porém, para a orientação vertical, os calos apresentavam-se sempre maiores na extremidade que se encontrava em contato com o meio de cultura (Figura 1).

Ambos os genótipos foram capazes de emitir brotações adventícias. Estas, quando formadas, ocorriam por organogênese indireta. Foi verificada a maior porcentagem de explantes responsivos para brotações (100%) na posição vertical invertida, esta posição favoreceu os dois genótipos estudados, entretanto, para o genótipo JRB69, a posição vertical normal também atingiu 100% de explantes responsivos para a variável em questão.

TABELA 2. Porcentagem de explantes responsivos para total de calos formados, calos friáveis, calos duros e brotações aos 60 dias de cultivo, provenientes de hipocótilos *Genipa americana* L., em diferentes orientações. Cruz das Almas – BA, 2006.

Tipo de orientação	Calos (%)	Calos friáveis		
		(%)	Calos duros (%)	Brotação (%)
JRB 59				
Horizontal	100,00	0,00	100,00	40,00
Vertical normal	92,50	0,00	92,50	60,00
Vertical invertida	95,00	0,00	95,00	100,00
JRB 69				
Horizontal	85,00	20,00	65,00	50,00
Vertical normal	100,00	0,00	100,00	100,00
Vertical invertida	95,00	5,00	90,00	100,00



FIGURA 1. Formação de calos em duas orientações de explante aos 60 dias de cultivo. Vertical invertida (A) e horizontal (B). Cruz das Almas - BA, 2006.

Apesar da posição vertical invertida ter favorecido igualmente os genótipos JRB59 e JRB69 para a porcentagem de explantes responsivos para brotações, os dados sobre o número médio de brotações por explante demonstram haver diferença significativa entre as orientações e entre os genótipos. O maior número médio de brotações no genótipo JRB59 foi observado na posição vertical invertida (1,8 brotações/explante) e na posição vertical normal para o genótipo JRB69 (2,60 brotações/explante) (Tabela 3).

Santana (2003) ao estudar o efeito da polaridade do explante na resposta morfogênica em hipocótilos de *Annona squamosa* L., obteve o maior número de brotações na orientação vertical normal, fato este que pode ser atribuído a características genéticas da espécie. Erig e Schuch (2002) estudando a orientação do explante no meio, em macieira cv. Marubakaido verificaram que a posição horizontal foi a que possibilitou obtenção de maior número de brotações por explante, porém, Zimmerman e Fordham (1985) conseguiram, em macieira cv. "Delicious" a maior indução de brotações quando os explantes foram posicionados na forma invertida no meio de cultura.

Segundo George (1993) a polaridade da regeneração varia com o genótipo (até entre variedades dentro de uma mesma espécie) e pode às vezes, ser revertida pelo tratamento com reguladores de crescimento. O mesmo autor ainda cita que a polaridade natural dos eventos regenerativos é normalmente atribuída ao movimento de substâncias reguladoras de crescimento no interior da planta e, de acordo com Hartmann et al. (1997), quando um segmento de tecido é cortado pode, de certa forma, causar a redistribuição das substâncias reguladoras de crescimento, o que explica as diferentes respostas no crescimento.

TABELA 3. Número médio de brotações aos 60 dias de cultivo, provenientes de hipocótilos de *Genipa americana* L., em diferentes orientações. Cruz das Almas – BA, 2006.

Posição	JRB 59	JRB 69	Média
Horizontal	0,15 bA	0,53 bA	0,34 b
Vertical normal	0,60 bB	2,60 aA	1,60 a
Vertical invertida	1,80 aA	1,10 bA	1,44 a
Média	0,85 B	1,40 A	

Médias seguidas pela mesma letra minúscula nas colunas e maiúsculas nas linhas não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

A Tabela 4 demonstra os resultados obtidos para número médio de folhas expandidas, por explante, provenientes de hipocótilos de *Genipa americana* L. em diferentes orientações de cultivo. Constatou-se que houve diferença significativa entre os genótipos, sendo que o JRB69 obteve os melhores resultados. Em relação as diferentes orientações do explante no meio, para essa variável, observou-se que ocorreu diferença significativa entre os tratamentos. A orientação vertical normal foi a que demonstrou as melhores médias para o número de folhas expandidas por explante.

TABELA 4. Número médio de folhas expandidas aos 60 dias de cultivo, provenientes de hipocótilos de *Genipa americana* L., em diferentes orientações. Cruz das Almas – BA, 2006.

Posição	JRB59	JRB 69	Média
Horizontal	0,025 bB	0,100 bA	0,063 b
Vertical normal	0,075 bB	0,625 aA	0,350 a
Vertical invertida	0,275aA	0,250 bA	0,263 ab
Média	0,125 B	0,325 A	

Médias seguidas pela mesma letra minúscula nas colunas e maiúsculas nas linhas não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Conclusões

O cultivo de segmentos de hipocótilo na posição vertical invertida foi mais eficiente na resposta organogênica, porém, para o número médio de brotações e número médio de folhas expandidas a posição vertical normal foi a melhor, independente dos genótipos estudados.

Referências Bibliográficas

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

GEORGE, E. F. **Plant propagation by tissue culture.** Part 1 – The technology. 2. ed. Edngton: Exegetcs, 1993. 574p.

HARTMANN, H. T.; KESTER, D. E.; DAVIES JR., F. T.; R. L. **Plant propagation: principles and practices.** 6 ed. New Jersey: Prentice-Hall, 1997. 770p.

LITZ, R.E; CONOVER, R.A. Partial organogenesis in tissue culture of *Averrhoa carambola*. **HortScience**, v.15, p.735, 1980.

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

SANTANA, J. R. F. **Controle da morfogênese in vitro em algumas espécies de annonaceae.** 2003. 237p. Tese (Doutorado em Agronomia – Fisiologia Vegetal). Universidade Federal de Lavras. Lavras, MG, 2003.

SAS INSTITUTE INC. SAS/STAT User's Guide. v. 8.0. Vol. I. Cary NC: SAS Institute, Inc., 2000.

ZIMMERMAN, R. H.; FORDHAM, I. Simplified method for rooting apple cultivars *in vitro*. **Journal of American Society for horticultural Science**, Alexandria, v.110, n.1, p.34-38, 1989.

PALAVRAS - CHAVE: Multiplicação *in vitro*, explante e *Genipa americana* L.

AGRADECIMENTOS: A CAPES¹ pela concessão de bolsa de mestrado.

¹ Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior