

Estabelecimento *in vitro* de *Heliconia rostrata* a partir de embriões zigóticos.

Everton Hilo de Souza¹; Janay Almeida dos Santos-Serejo²; Taliane Leila Soares³; Fernanda Duarte Vidigal Souza²; Sebastião Oliveira e Silva²

¹Graduando em Engenharia Agrônômica (UFRB), Campus Cruz das Almas, CEP 45380-000 Cruz das Almas, Bahia, fone (75) 3634-2543, e-mail: hilosouza@gmail.com; ²Pesquisadores da Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, Rua Embrapa, s/nº, CP. 007, CEP 44.380-000, Cruz das Almas, Bahia, fone (75) 3621-8072, e-mail: janay@cnpmf.embrapa.br, fernanda@cnpmf.embrapa.br, sslva@cnpmf.embrapa.br. ³ Mestre em Ciências Agrárias, Bolsista DTI-D/CNPq. Rua Embrapa, s/nº, CP. 007, CEP 44.380-000, Cruz das Almas, Bahia, fone (75)3621-8072, e-mail: talialeila@gmail.com.

INTRODUÇÃO

O Brasil possui grande contingente de espécies nativas de flores e plantas ornamentais tropicais, dentre elas se destacam as helicônias. As helicônias apresentam brácteas de colorido brilhante, muito decorativas e utilizadas, principalmente, em projetos de jardinagem e como flores de corte. As hastes possuem boa resistência ao transporte e longa durabilidade após a colheita, características que têm contribuído para o aumento de sua comercialização nos mercados nacional e internacional (Castro, 1995).

A propagação comercial de helicônias é feita normalmente por via vegetativa, através de mudas extraídas de plantas já desenvolvidas, pela divisão do rizoma, o que tem facilitado à disseminação de certos patógenos. A necessidade de uma grande quantidade de mudas para plantio e a baixa taxa de germinação das sementes (Criley, 1995) têm estimulado a multiplicação de clones promissores pelo uso de técnicas de propagação *in vitro* (Rodrigues, 2005).

Técnicas de cultura de tecidos podem aumentar a oferta de mudas de diferentes espécies, através da regeneração de plantas com bom estado fitossanitário. Em helicônia, a técnica de cultivo *in vitro* de embriões zigóticos, visando posterior indução de brotações, tem sido utilizada para superar a freqüente contaminação endofítica proveniente do cultivo de gemas.

O objetivo deste trabalho foi adequar um protocolo para o estabelecimento de *Heliconia rostrata* através de embriões zigóticos.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados embriões zigóticos oriundos de sementes maduras de *H. rostrata*. As sementes foram desinfestadas em câmara de fluxo laminar mediante imersão em etanol a 70% por 2 minutos, e em solução de hipoclorito de sódio a 50% e 10 gotas L⁻¹ de Tween 20 durante 15 minutos. Posteriormente, foram lavadas três vezes com água destilada estéril. O pericarpo foi removido e os embriões (no estágio cotiledonar) foram excisados por uma leve pressão nas sementes e em seguida inoculados em placas de Petri contendo 40 mL de meio de cultura MS (Murashige & Skoog 1962) solidificado com 0,8% de ágar e pH ajustado para 5,8, autoclavado a 120°C durante 20 minutos, nos seguintes tratamentos: T01 - 6% sacarose; T02 - 6% sacarose + 0,25% carvão ativado; T03 - 6% sacarose + 1mg L⁻¹ BAP; T04 - 6% sacarose + 1mg L⁻¹ BAP + 0,25% carvão ativado; T05 - 6% sacarose + 1mg L⁻¹ BAP + 1GA₃; T06 - 6% sacarose + 1mg L⁻¹ BAP + 1mg L⁻¹ GA₃ + 0,25% carvão ativado.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com seis tratamentos e sessenta repetições cada. Os embriões foram mantidos no escuro por quarenta e cinco dias com temperatura de 27°C ± 1°C. Após a inoculação, avaliou-se a percentagem de contaminação e de germinação, e o comprimento das plântulas aos 15 e 45 dias.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Aos sete dias de cultivo *in vitro* verificou-se o início da germinação e a emissão de radículas. Não houve contaminação em nenhum dos tratamentos. Conforme apresentado na Tabela 1, o tratamento T02, constituído de MS + 6% sacarose + 0,25% carvão ativado, foi o que promoveu a maior percentagem de germinação (100%) e comprimento médio de plântulas aos 45 dias (23,6 cm).

Tabela 1. Percentagem de germinação, intumescimento e formação de calo, comprimento da plântula (mm) aos 15 dias e 45 dias dos embriões zigóticos de *H. rostrata* nos diferentes meios de cultura.

Tratamento	Germ. (%)	Intum. (%)	Calo (%)	Comp. da plântula (mm)	
				15 dias	45 dias
T01 - MS+6% sacarose	68	30	2	5,50	11,00
T02 - MS+6% sacarose+0,25% carvão ativado	100	0	0	7,35	23,60
T03 - MS+6% sacarose +1BAP	60	35	5	5,18	5,80
T04 - MS+6% sacarose +1BAP+0,25% carvão ativado	90	10	0	6,55	13,30
T05 - MS+6% sacarose +1BAP+1GA ₃	20	70	10	4,81	5,23
T06 - MS+6% sacarose +1BAP+1GA ₃ +0,25% c. ativado	78	22	0	5,80	12,10

A sacarose geralmente é o carboidrato mais utilizado como fonte de energia (Hu & Ferreira, 1998), uma vez que os explantes cultivados *in vitro* são heterotróficos e dependem de uma fonte de energia e de carbono. Rojas et al. (1996), afirmam que a resposta do desenvolvimento do explante é dependente de uma fonte de carbono. Torres et al. (2005) utilizaram diferentes concentrações de sacarose (0, 1, 2, 3, 6, 9 e 12%) e observaram que no meio com 6% sacarose a percentagem de plântulas formadas foi mais baixa que nas concentrações de 1% a 3%, e que maiores concentrações inibiram a germinação. Foi observado, no presente estudo, que 6% de sacarose também promoveu baixa germinação, entretanto, com a adição de 0,25% de carvão ativado ao meio 100% dos embriões germinaram (Figura 1a).

O carvão ativado age promovendo adsorção dos exudatos liberados pelo explante, os quais provocam a oxidação, além de possuir as propriedades de adsorver e reduzir a disponibilidade de auxina exógena no meio de cultura e induzir o processo de rizogênese (George, 1996). De Guzman & Manuel (1975), observaram que a adição de carvão ativado no meio de cultura para o desenvolvimento de embriões zigóticos do coqueiro mutante "Makapuno" resultou em um maior desenvolvimento das raízes.

Os embriões submetidos aos tratamentos sem carvão ativado apresentaram intumescimento, com desenvolvimento de raízes (Figura 1b) ou formação de calo não embriogênico, e não germinaram até aos 45 dias após a inoculação em meio de cultura.

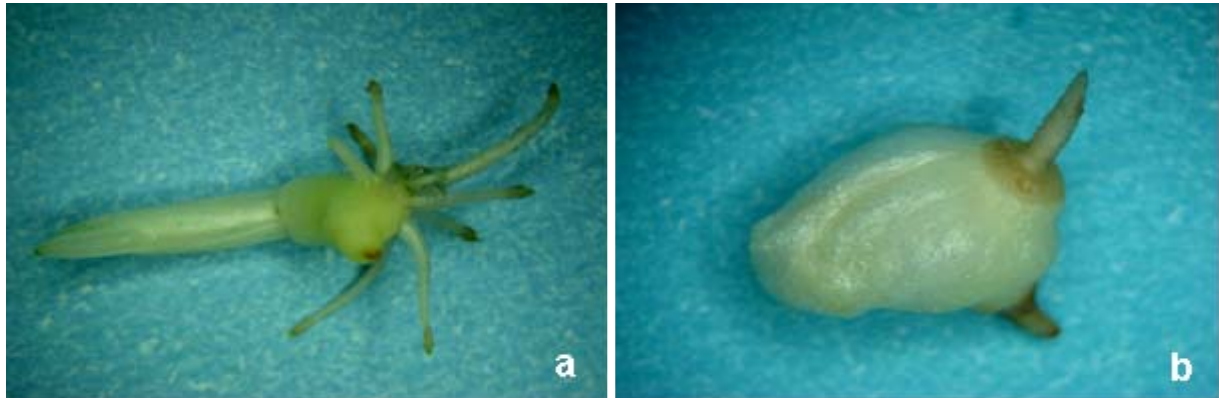


Figura 1. Desenvolvimento de embriões zigóticos de *H. rostrata* submetidos aos tratamentos: a) T02 (MS + 6% sacarose + 0,25% carvão ativado) e b) T05 (MS + 6% sacarose + 1mg L⁻¹ BAP + 1mg L⁻¹ GA₃). Note que na presença de carvão ativado houve a formação de raízes e parte aérea (a).

Dependendo da espécie, o crescimento dos embriões imaturos pode ser estimulado pelo uso de alguns reguladores de crescimento, como a giberelina (Hu & Ferreira, 1998). No presente estudo, foi testado o efeito da giberelina na germinação de embriões maduros de *H. rostrata*, na presença e ausência de carvão ativado, mas este regulador não promoveu a germinação, além disso, em combinação com BAP, estimulou a formação de calo. Estes dados concordam com os de Ulisses et al. (2005) que, trabalhando com embriões zigóticos de *H. bihai*, observaram que a adição de ácido giberélico ao meio de cultura não promoveu a conversão do embrião imaturo em plântula.

CONCLUSÃO

A adição de carvão ativado ao meio básico foi essencial para a germinação dos embriões maduros de *H. rostrata*.

Os reguladores de crescimento BAP e GA₃ não tiveram um efeito positivo na germinação dos embriões.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CASTRO, C. E. F. **Helicônia para exportação: aspectos técnicos da produção**. Brasília: EMBRAPA – SPI, 1995. 43p.

CRILEY, R. A. Propagation of Zingiberaceae and Heliconiaceae. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**. Campinas, v.1, n.1, p.14-21, 1995.

DE GUZMAN, E. V.; MANUEL, G. C. **Improved root growth in embryo and seedlings cultures of coconut “Makapuno” by the incorporation of charcoal in the growth medium**. Rome: FAO, 1975. 6p.

GEORGE, E. F. **Plant propagation by tissue culture: part.2 –In Practice**. 2.ed. Editon: Exegetics, 1996. 1361p.

HU, C. Y.; FERREIRA, A. G. Cultura de Embriões. In: TORRES, A.T.; CALDAS, L.S.; BUSO, J.A. (Eds). **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. v.1, Brasília: Embrapa/ SPI, p.371-393, 1998.

MURASHIGE, T. & SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantum**. v. 15, p. 473-97, 1962.

RODRIGUES, P. H. V. *In vitro* establishment of *Heliconia rauliniana* (Heliconiaceae). **Scientia Agrícola**. v. 62, n.1, p.69-71, 2005.

ROJAS, R.; CUBA, M.; MARTINEZ, M.; GARCIA, D.; MONTES, S. Influencia de diferentes fuentes de carbono en la germinación y el desarrollo de embriones de *Coffea arabica* variedade 9722. **Cultivos Tropicales**. Havana, v.17, n.1, p.82-84, 1996.

TORRES, A.C.; DUVAL, F.G.; RIBEIRO, D.G.; BARROS, A.F.F.; ARAGÃO, F.A.D. Efeito da sacarose, cinetina, isopentenil adenina e zeatina no desenvolvimento de embriões de *Heliconia rostrata in vitro*. **Horticultura Brasileira**. Brasília, v.23, n.3, p.789-792, 2005.

ULISSES, C.; CAMARA, T. R.; WILLADINO, L.; ALBUQUERQUE, C. C. Propagation of *Heliconia bihai* (L.) cv. Lobster Claw Two by cultivation *in vitro* of zygotic embryos. In: **X Congresso Brasileiro de Fisiologia Vegetal e XII Congresso Latino Americano de Fisiologia Vegetal**, 2005, Recife. CD, 2005.

PALAVRAS-CHAVE

Heliconia rostrata, cultivo de embriões, germinação, carvão ativado.