

Avaliação dos efeitos da quebra da dominância apical e do BAP na multiplicação *in vitro* de *Heliconia stricta* Huber¹

Evaluation of the apical dominance break and the BAP actions on *in vitro* multiplication of *Heliconia stricta* Huber

Josefa Diva Nogueira Diniz², Sandra Oliveira Gomes³, Renato Innecco⁴, Jacqueline Leite Almeida⁵
e Jose Tarciso Alves Costa⁶

RESUMO

As helicônias possuem grande potencial de comercialização por produzirem flores continuamente e em quantidade, pela diversidade de cores e formas das flores, além da alta durabilidade após o corte. Para avaliar os efeitos do 6-benzilaminopurina (BAP) e de cortes da gema na quebra da dominância apical sobre a multiplicação de *Heliconia stricta* Huber, explantes retirados de plantas estabelecidas *in vitro* foram inoculados em meio MS com diferentes concentrações de BAP (0, 2 e 4 mg L⁻¹), utilizando-se a gema inteira e com quatro tipos de corte, conforme os tratamentos: T1 – gema inteira; T2 - gema seccionada longitudinalmente ao meio, sem dividir; T3 - gema seccionada longitudinalmente ao meio, dividida em duas; T4 - gema seccionada em cruz, sem dividir e T5 - gema seccionada em cruz, dividida em quatro. A avaliação feita oito semanas após a inoculação, mostrou o maior número médio de novas gemas por explante, no tratamento com gemas seccionadas longitudinalmente ao meio, divididas em duas partes (T3). O número de gemas foi significativamente maior na presença de BAP quando comparado com a ausência do mesmo. O maior crescimento em altura das plantas e o maior número de explantes com raízes foram verificados, no tratamento com gema inteira (T1) na ausência de BAP. A quebra da dominância apical resultou na redução do crescimento em altura das plantas.

Termos para indexação: Helicônia, micropropagação, dominância apical.

ABSTRACT

The continuous and great commercial production of heliconia flowers, the diversity of colors and appearances of the flowers added to the long durability post harvest are some of the aspects that have contributed to the enhancement of heliconia plants market. To analyze both 6-benzylaminopurine (BAP) and cuts effects over the break of apical dominance on the *in vitro* multiplication of heliconia plants, explants from *in vitro* established plants were inoculated in MS medium with different BAP concentrations (0, 2 and 4 mg L⁻¹) and four different kinds of cuts, according the following treatments: T1 – whole bud; T2 – bud longitudinally cut in half, without division; T3 – bud longitudinally cut in half divided in two parts; T4 – bud crossly cut without division and T5 – bud crossly cut in four parts. The evaluation was made after eight weeks and the treatment with bud longitudinally cut in half divided in two parts (T3) showed higher average number of new buds per explant. The number of buds was significantly higher when BAP was present in relation to BAP absence. The plants submitted to the treatment T1 (whole bud) without BAP showed the greatest number of explants rooted and the highest plants. The break of apical dominance reduced the up growing of heliconia explants.

Index terms: Heliconia, micropropagation, apical dominance.

¹ Recebido para publicação em 12/08/2003. Aprovado em 07/06/2004.

² Engenheira Agrônoma, Dra., Pesquisadora do Dep. de Fitotecnia, CCA/UFC. Fortaleza, CE. E-mail: dndiniz@ufc.br

³ Aluna do Curso de Agronomia da Universidade Federal do Ceará.

⁴ Engenheiro Agrônomo, Doutor, Prof. do Dep. de Fitotecnia, CCA/UFC. E-mail: innecco@ufc.br

⁵ Engenheira Agrônoma, M.Sc., Técnica do Dep. Fitotecnia, CCA/UFC. E-mail: jalack@bol.com.br

⁶ Engenheiro Agrônomo, Ph.D., Professor do Dep. de Fitotecnia, CCA/UFC.

Introdução

O comércio internacional de flores e plantas ornamentais, está estimado em US\$ 6,7 bilhões/ano, do qual as exportações brasileiras de US\$ 12,4 milhões/ano, representam apenas 0,2% (média dos últimos cinco anos). Porém apesar de ser uma atividade recente e até o final da década de 50 pouco expressiva, tanto econômica como tecnologicamente, a produção brasileira vem se desenvolvendo rapidamente com o surgimento e adoção de novas tecnologias, tanto nos sistemas de produção como de pós colheita. Além disso, as extraordinárias condições de produção do nosso país, dotado de diversidade de solo e clima, permitem o cultivo de um infinito número de espécies de flores e plantas ornamentais de comprovada qualidade e beleza e conferem ao produto brasileiro, como as flores tropicais, condições de abrir espaço e se firmar também no mercado mundial (Graziano, 2003).

Dentre as plantas tropicais exuberantes, coloridas, com formas inusitadas, que são apreciadas no mercado internacional, destacam-se as do gênero *Heliconia*, da família *Heliconiaceae*, de origem neotropical e com ampla distribuição nas Américas Central e do Sul, devido as inflorescências com excepcional potencial de comercialização, além de cores e formas diversificadas, produzindo flores continuamente, em quantidade, e tendo uma durabilidade extraordinária após o corte (Lamas, 2002). A *Heliconia Stricta* Huber também é de ocorrência em países da América Central e do Sul como Suriname, Equador, Bolívia, Peru e Brasil. Possui inflorescência ereta e brácteas distribuídas em um único plano, hábito de crescimento musóide, onde as folhas são orientadas verticalmente em relação ao pseudocaulo e possuem pecíolos longos assemelhando-se à bananeira (Castro, 1995).

A propagação comercial das helicônias é exclusivamente vegetativa, feita através dos rizomas, havendo a possibilidade de disseminação de patógenos que dificultam ou impedem a manifestação do verdadeiro potencial produtivo (Guamantica, 1998). Dessa forma, os países europeus e americanos, envolvidos no comércio e exportação de flores, têm recorrido às técnicas de cultura de tecidos, que é um meio rápido de propagação vegetativa na indústria ornamental, além de possibilitar a produção de propágulos a um custo mais barato, devido a produção uniforme, em grande escala e livres de doenças (Kofranel, 1990).

As respostas morfogênicas dos tecidos cultivados *in vitro* estão associadas geralmente aos reguladores do crescimento presentes no meio de cultura, sendo as auxinas e as citocininas as duas classes mais utilizadas, e em casos mais específicos as giberelinas (Skoog e Miller, 1957). As citocininas constituem o grupo de fitoreguladores indispensáveis à quebra da dominância apical e indução de proliferação de gemas axilares, estimulando a maior produção de partes aéreas. O BAP, tem sido a citocinina mais utilizada na multiplicação e indução de gemas adventícias, além de apresentar custo mais acessível em relação às demais (Grattapaglia e Machado, 1990). Com *Heliconia psittacorum*, estes resultados não foram diferentes, onde Natham et al. (1992), obtiveram maior número e comprimento de brotos por explante em meio MS (Murashige e Skoog, 1962) acrescido de 2,5mg L⁻¹ de BAP. Resultados similares foram observados em *Heliconia* sp. por Nannetti (1994).

O grau de ramificação das gemas é largamente determinado pela dominância apical. A poda da gema apical remove a fonte de dominância apical estimulando o desenvolvimento das gemas axilares (Chen et al., 1997). Altas taxas de proliferação podem ser obtidas através da liberação das gemas laterais de explantes pela supressão da influência do ápice (Voyiatzi et al., 1995).

De acordo com Zafari et al. (1994), o efeito da quebra da dominância apical através do dano físico ao meristema e/ou aos tecidos adjacentes ao mesmo, adicionado ao efeito da citocinina (BAP) no meio, provocou um aumento no número de brotações laterais de bananeira cv. Grande Naine, sendo que gemas já enraizadas apresentaram um maior número de brotos laterais. Segundo Cronauer e Krikorian (1984), isto deve-se, possivelmente, a produção de citocininas pelas raízes, o que ajudaria a superar a dominância apical do explante, pois a adição exógena de citocinina ao meio de cultura nem sempre é suficiente para induzir a formação de gemas laterais. Bressan et al. (1982) também relataram que a citocinina não supera completamente a repressão do ápice em gemas de roseira *in vitro*, uma vez que a excisão do ápice supera o aumento da multiplicação de novas gemas sobre o que é obtido quando uma concentração ótima de citocinina é incluída no meio. Para George (1996), o número e o tamanho das gemas desenvolvidas a partir do explante inicial é de grande importância uma vez que, aumentar a taxa de multiplicação é fator

determinante no custo efetivo de um protocolo de propagação.

Embora muitas informações estejam disponíveis sobre os efeitos hormonais na dominância apical, o mecanismo básico desta, permanece não esclarecido. O AIA parece ser o melhor candidato como um sinal correlativo, enquanto que as citocininas podem ser o fator chave na promoção do crescimento das gemas axilares (Tamas, 1995).

O objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos da quebra da dominância apical, através de cortes nas gemas e de diferentes concentrações de BAP na emissão *in vitro* de novas gemas de *Heliconia stricta* Huber.

Material e Métodos

O trabalho foi conduzido no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais do Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal do Ceará. As plantas de *Heliconia stricta* Huber, utilizadas como fonte de explantes foram obtidas pela inoculação de gemas novas retiradas de rizomas de plantas no campo que, depois de estabelecidas *in vitro*, foram multiplicadas em meio MS com 2 mg L⁻¹ de BAP. Os explantes retirados destas plantas foram inoculados em tubos de ensaio (um explante por tubo) contendo 10 mL de meio MS, suplementado com 3% de sacarose e diferentes concentrações de BAP (0, 2 e 4 mg L⁻¹), sendo o pH do meio ajustado para 5,7 ± 0,1, solidificado com 0,4% de ágar e autoclavado por 15 minutos à temperatura de 121°C.

Como procedimento estatístico, utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado, em disposição fatorial 3 x 5, num total de 15 tratamentos (com 15 explantes por tratamento, cinco repetições e três explantes por repetição) representados por três concentrações de BAP e diferentes tipos de corte na gema para a quebra da dominância apical (QDA): T1 - gema inteira; T2 - gema seccionada ao meio e sem dividir; T3 - gema seccionada ao meio, dividida em duas; T4 - gema seccionada em cruz sem dividir; T5 - gema seccionada em cruz dividida em quatro.

Após a inoculação, os explantes foram mantidos em sala de crescimento com temperatura de 26 ± 1°C, fotoperíodo de 16 horas e intensidade luminosa em torno de 2000 lux. As avaliações do número médio de gemas por explante, altura média das plantas, explantes com raízes e número médio de raízes por explante foram feitas após um período de oito semanas e as médias comparadas pelo teste de Tukey.

Resultados e Discussão

A análise de variância (Tabela 1) mostra que houve diferença significativa no número médio de gemas emitidas por explante, no comprimento médio das gemas e no número médio de raízes por explante, tanto em função do tipo de corte para a quebra da dominância apical (QDA), como em relação às concentrações de BAP, não havendo diferenças estatísticas significativas para o efeito da interação entre estes dois fatores.

Tabela 1 - Análise de variância para o número médio de gemas emitidas, altura média e número médio de raízes, por explante, de *Heliconia stricta* Huber após oito semanas de cultivo *in vitro* em meio MS com diferentes concentrações de BAP combinadas com diferentes tipos de corte para a QDA.

Fonte de variação	GL	QM		
		gemas/explante	raízes/explante	altura dos explantes
BAP	2	0,5824**	15,41 **	5,52**
Tipo de corte	4	0,2520**	1,99 **	3,53**
BAP x Tipo de corte	8	0,6600ns	0,26 ns	0,29ns
Resíduo	60	0,0645	0,15	0,52
C.V.(%)		15,90	20,81	26,08

** significativo a 1% de probabilidade pelo teste F

ns - não significativo

QDA - quebra da dominância apical

A Figura 1 mostra que nas concentrações de 2 e 4 mg L⁻¹ de BAP houve um aumento significativo no número médio de gemas laterais emitidas, observando-se 2,4 e 2,3 gemas por explante, respectivamente, contra 1,5 na ausência de BAP. Resultados similares foram observados por Nathan et al. (1992), com *Heliconia psittacorum* e por Nannetti (1994), com *Heliconia sp.*, cuja concentração de 2,5 mg L⁻¹ de BAP apresentou maior eficiência na emissão de gemas. Porém, os primeiros autores obtiveram maior número médio de brotos (5,0) por explante. Estas diferenças podem ser resultantes da interação entre o genótipo utilizado, as condições fisiológicas dos explantes na época da coleta das gemas, bem como da manipulação de cada grupo de trabalho.

O maior comprimento médio das gemas (10,84 cm) foi observado na ausência de BAP (Figura 1). O mesmo foi observado por Arello (1991) em explantes de *Kielmeyera coriacea*. Quando se acrescentou o BAP houve uma redução no crescimento em altura, proporcional ao aumento da concentração. Segundo Grattapaglia e Machado (1990), o uso de citocininas estimula maior desenvolvimento de partes aéreas, porém o excesso pode ser tóxico e comprometer o desenvolvimento das culturas, caracterizando-se pelo excessivo entufamento e falta de alongamento das plantas, redução no tamanho das folhas e vitrificação generalizada.

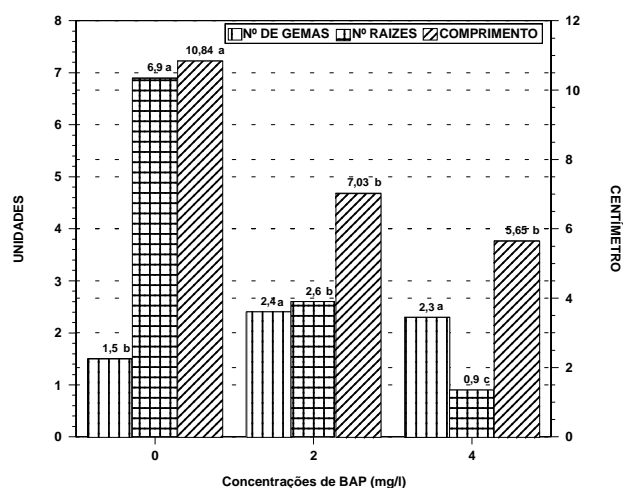


Figura 1 - Número médio de gemas, número médio de raízes e comprimento médio das gemas, por planta, de *Heliconia stricta* Huber após oito semanas de cultivo *in vitro* em meio MS com diferentes concentrações de BAP.

O ideal é que se consiga a relação ótima entre o número de gemas produzidas e o tamanho ideal destas gemas, para uma maior sobrevivência e

sucesso nas próximas fases do protocolo de micropropagação. Natham et al. (1992), evidenciaram que o nível ótimo para o crescimento das brotações de *Heliconia psittacorum* coincidiu com o nível ótimo para a emissão de maior número de brotações (2,5 mg L⁻¹ de BAP).

A quebra da dominância apical através de cortes no meristema e/ou tecidos adjacentes a estes, com divisão em partes, mostrou uma tendência a aumentar o número médio de gemas em relação a gema inteira e com seccionamento da gema sem divisão. Assim, o maior número médio de gemas por explante foi observado no T3 (gemas divididas ao meio, separadas) apresentando diferença estatística significativa somente do tratamento T4 (gemas seccionadas em cruz sem dividir), não apresentando diferença estatística dos demais tratamentos (Figura 2). Embora sem apresentar diferença estatística significativa, verificou-se um menor número de gemas por explantes com a gema inteira (T1), com a gema seccionada ao meio sem dividir (T2) e seccionada em cruz sem dividir (T4). Isto pode ser atribuído a ausência da quebra da dominância apical na gema inteira (T1) e para os demais tratamentos (T2 e T4) o corte pode não ter sido suficiente para danificar o meristema apical. Resultados contrários foram verificados por Zaffari et al. (1994) com gema de bananeira cv Grande Naine. Com três incisões longitudinais equidistantes mantendo a gema inteira, verificaram um aumento significativo no número de brotações laterais. Segundo os autores, com o seccionamento das gemas em partes, há uma redução das reservas necessárias para suprir a demanda de metabólitos no processo de diferenciação e brotação de gemas laterais. Além disso, aumenta a superfície de tecidos oxidados, diminuindo a capacidade de absorção de nutrientes e hormônios pelos tecidos.

O tratamento com maior comprimento de gemas, considerando-se os diferentes tipos de corte para a quebra da dominância apical foi verificado no T1 (gema inteira) embora não tenha apresentado diferença estatística dos tratamentos T2 e T3 (Figura 2). Esses resultados estão de acordo com os observados por Bressan et al. (1982) com explantes de roseira *in vitro*, quando as gemas obtidas a partir de explantes com o meristema íntegro, eram maiores que as obtidas a partir de explantes com o meristema apical excisado.

Após oito semanas, 68% dos explantes emitiram raízes, sendo que destes, 46% na ausência de

BAP e o restante, 34% e 20% com 2 e 4 mg L⁻¹ de BAP, respectivamente.

O maior número de raízes por explante foi observado na ausência de BAP com uma média de 6,9 raízes por explante, havendo diferença estatística significativa dos demais tratamentos com BAP (Figura 1). Esta redução no número de raízes por explante na presença de BAP comprova o efeito da citocinina na inibição do enraizamento (Kaminek, 1992; Medford et al., 1989). Em gemas de *Heliconia psittacorum*, Natham et al. (1992) verificaram o enraizamento na ausência de BAP. O tratamento com a gema inteira (T1) foi o que apresentou maior número médio de raízes por explante (4,7) (Figura 2), embora não tenha havido diferença estatística significativa do T2 e diferindo dos demais tratamentos.

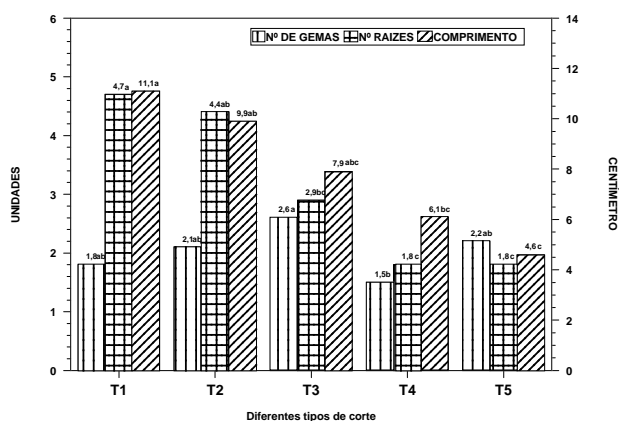


Figura 2 - Valores médios do número de gemas, número de raízes e comprimento das gemas, por planta, de *Heliconia stricta* Huber após oito semanas de cultivo *in vitro* em meio MS com diferentes tipos de corte para a quebra da dominância apical.

Conclusões

A gema seccionada ao meio, dividida em duas (T3) aumentou a emissão de brotações nos explantes de *Heliconia stricta* Huber em relação aos outros tratamentos testados.

A gema inteira favoreceu o crescimento inicial em altura e o desenvolvimento de maior número de raízes por explante.

A adição de BAP ao meio de cultivo favoreceu a emissão de brotações nos explantes, sendo a concentração de 2 mg L⁻¹ a mais eficiente.

O aumento do número de gemas emitidas por explante resultou na redução do crescimento em altura na fase inicial do desenvolvimento dos explantes.

Referências Bibliográficas

ARELLO, E. F. **Aspectos gerais do comportamento *in vitro* de *Kielmeyera coriacea* Martins (Guttijerae): produção e enraizamento de brotações.** 1991. 148 f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Escola Superior de Agricultura de Lavras, Lavras.

BRESSAN, P. H.; KIN, Y. J.; HYNDMAN, S. E.; HASEGAWA, P. M.; BRESSAN, R. A. Factors affecting *in vitro* propagation of rose. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, New York, v.107, n.6, p.979-990, 1982.

CASTRO, C. E. F. de. **Helicônia para exportação: aspectos técnicos da produção.** BRASÍLIA: EMBRAPA/SPI, 1995. 44p. (Série Publicações Técnicas. FRUPEX; 16).

CHEN, J. G.; ZHAO, H. Y.; ZHOU, X.; MAO, L. S.; CHEN, X. X. Fluctuation in levels of endogenous hormones after decapitation and 6-benzyl amino purine treatment in azalea, and their relationship to apical dominance. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v.17, p.49-58, 1997.

CRONAUER, S. S.; KRIKORIAN, A. D. Multiplicação of *Musa* from excised stem tips. **Annals of Botany**, London, v.53, n.3, p.321-328, 1984.

GEORGE, E. F. **Plant propagation by tissue culture.** Part II. In: **Pratice.** 2nd ed. Baringstore, England: Exegetics Ltda, 1996. 1361p.

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S. **Técnicas e aplicações da cultura de tecidos de plantas.** Brasília: ABCTP/EMBRAPA-CNPq, 1990, p.99-169.

GRAZIANO, T. T. Melhoramento de plantas ornamentais. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MELHORAMENTO DE PLANTAS, 2., 2003, Porto Seguro. **Mesa Redonda 3.** Porto Seguro: Sociedade Brasileira de Genética, 2003.

GUAMANTICA, E. G. C. **Micropropagação *in vitro* de três espécies de helicônias através de cultura de meristemas.** 1998. 56 f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza.

KAMINEK, M. Progress in cytokinin research. **Tibtech**, v.10, p.159-164, 1992.

- KOFRANEL, A. A historical and critical review the cut flower vase life. **Horticulturae**, Poland, v.91, p.135-141, 1990.
- LAMAS, A. M. **Floricultura tropical: técnicas de cultivo**. Recife: SEBRAE/PE, (Série Empreendedor, 5), 2002. 86p.
- MEDFORD, J. I.; HORGAN, R.; EL-SAWI, Z.; KLEE, H. J. Alterations of endogenous cytokinins in transgenic plants using a chimeric isopentenyl transferase gene. **Plant Cell**, v.1, p.403-413, 1989.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, T. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.15, p.473-497, 1962.
- NANNETTI, D. C. **Utilização da cultura de tecidos vegetais na micropropagação e manutenção de *Heliconia* sp.** 1994. 105 f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.
- NATHAM, M. J.; GOH, C. J.; KUMAR, P. P. *In vitro* propagation of *Heliconia psittacorum* by bud culture. **HortScience**, Alexandria, v.27, n.5, p.450-452, 1992.
- SKOOG, F.; MILLER, C. O. Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissues cultured *in vitro*. **Symposia of the Society for Experimental Biology**, Cambridge, v.11, p.118-130, 1957.
- TAMAS, I. A. Hormonal regulation of apical dominance. In: DAVIES, P. J. (Ed.). **Plant hormones**. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, p.572-597, 1995.
- VOYIATZI, C., VOYIATZI, D. G.; TSIKMAKI, V. *In vitro* shoot proliferation rates of the rose cv. (hibrid tea) 'Dr. Verhage', as affected by apical dominance regulating substances. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v.61, p.241-249, 1995.
- ZAFFARI, G. R.; SOLINAN FILHO, L. F.; STUKER, H. Efeito do tamanho do explante e da quebra de dominância apical sobre a brotação das gemas laterais na produção de mudas de bananeira, *in vitro*. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v.16, n.3, p.71-76, 1994.