

# INFLUÊNCIA DE DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE SACAROSE E SAIS MINERAIS SOBRE A MULTIPLICAÇÃO *IN VITRO* DE *NEPHROLEPIS EXALTATA* UMA SAMAMBAIA ORNAMENTAL<sup>1</sup>

MOACIR PASQUAL<sup>2</sup>, EDNA HOSHIKA<sup>3</sup> e JORGE SUSUMU ISHIDA<sup>4</sup>

RESUMO - Objetivou-se, com o presente trabalho, viabilizar a propagação rápida de diversas samambaias ornamentais (*Nephrolepis exaltata*) através da técnica de cultura de tecidos. Os explantes utilizados foram brotações obtidas a partir do cultivo *in vitro* de estolhos terminais. Os tratamentos constaram de combinações entre concentrações de sais do meio básico de Murashige & Skoog (1962) - MS (0, 25, 50, 75 e 100%) e sacarose (0, 15, 30, 45 e 60 g/l). Os melhores resultados quanto a número de brotações foram obtidos na presença de 25% de sais e 30 g/l de sacarose, produzindo 2,6 novas brotações. Dosagens de sacarose entre 15 e 30 g/l maximizaram a produção de folhas, e a concentração de sais não teve efeito significativo neste parâmetro. Observou-se, ainda, que taxas mais elevadas de sacarose e sais inibiram o crescimento das folhas produzidas.

Termos para indexação: cultura de tecidos; micropropagação.

## EFFECTS OF DIFFERENT SUCROSE AND MINERAL SALT CONCENTRATIONS ON *IN VITRO* PROPAGATION OF *NEPHROLEPIS EXALTATA* AN ORNAMENTAL FERN

ABSTRACT - The purpose of the present work was to make possible the rapid propagation of ornamental fern (*Nephrolepis exaltata*) by tissues culture techniques. The explants used were shoots from *in vitro* plants. All the treatments consisted of combinations of mineral salts of 'MS' medium (0,0; 25,0; 50,0; 75,0 and 100,0%) and sucrose (0; 15; 30; 45 and 100 g/l) concentrations. The best results were obtained in mineral salts 25% and sucrose 30 g/l, producing 2,6 new shoots. Sucrose 15 - 30 g/l had the best number of leaves and the mineral salt concentrations did not effect that character. It was also observed that higher levels of mineral salts and sucrose reduced the growth of leaves.

Index terms: tissue culture; micropropagation.

## INTRODUÇÃO

Samambaias geralmente se reproduzem por estolões, divisão de tufo ou através de esporos. Plantas do gênero *Nephrolepis exaltata* reproduzem-se predominantemente de forma assexuada e normalmente não produzem esporos.

O emprego da técnica do cultivo *in vitro* tem sido desenvolvida como forma de obtenção rápida de plantas sadias, em compartimentos reduzidos, além de funcionar como banco de germoplasma de muitas espécies nativas em extinção.

A concentração de sais do meio básico de Murashige & Skoog (1962)-MS é um dos fatores de maior influência sobre o estabelecimento e desenvolvimento de explantes de samambaias em meio de cultura, partindo-se da inoculação de esporos em estolões e brotações do gênero *Nephrolepis exaltata* (Loescher & Albrecht, 1979; Paek et al., 1984). Resultados interessantes referentes à concentração de sais do MS também foram obtidos em relação à germinação de esporos

<sup>1</sup> Aceito para publicação em 19 de julho de 1994.

<sup>2</sup> Eng. - Agr., Dr., Prof. - Titular, Esc. Sup. de Agric. de Lavras (ESAL), Caixa Postal 37, CEP 37200-000 Lavras, MG. Bolsista do CNPq.

<sup>3</sup> Enga. - Agra., Esc. Sup. de Agric. de Lavras (ESAL), Lavras, MG. Bolsista do CNPq.

<sup>4</sup> No curso de Agronomia da ESAL. Bolsista do CNPq.

de *N. exaltata* (Lê, 1983) e *Adiantum raddianum* cv. Tassel (Khoo & Thomas, 1980), formando colônias de protalos.

Alguns destes autores destacam ainda a importância da adição de sacarose ao meio de cultura como fonte complementar de energia (Loescher & Albrech, 1979; Lê, 1983). Breznovits & Mohay (1987) iniciaram o cultivo de gametófitos e calos de diferentes espécies de samambaias sobre meio MS contendo 146,2 mM de sacarose. Já Higuchi & Amaki (1989) obtiveram sucesso com a produção de corpúsculos globulares verdes sobre meio suplementado com 2,2 uM de BA e 43,7 mM de sacarose, inoculando segmentos de rizoma de *Asplenium nidus*. No entanto, Khoo & Thomas (1980) relatam em seu trabalho que fontes de carboidratos são desnecessários à germinação de esporos de vários gêneros, entre eles *Adiantum raddianum* cv. Tassel.

O presente trabalho objetivou determinar o efeito de diferentes concentrações de sais minerais do meio MS e de sacarose sobre a propagação *in vitro* de samambaia (*Nephrolepis exaltata*).

## MATERIAL E MÉTODOS

**Início da cultura** - Estolhos terminais coletados de *N. exaltata* vigorosa, var. *Iris*, foram esterilizados em solução de hipoclorito de sódio contendo 1,5% do produto ativo, durante 20 min. Em seguida, foram lavados sucessivas vezes, em água bidestilada e esterilizada.

Os explantes foram uniformizados, em 2 cm de comprimento e infectados individualmente em meio básico de Murashige & Skoog (1962) -MS. Após três meses de cultivo em sala de crescimento sob condições controladas, estes estolhos deram origem a tufo de brotações.

**Desenvolvimento e multiplicação das brotações** - Os tufo de brotações obtidos no início da cultura foram individualizados, e serviram como explante nesta etapa.

Como meio de cultura, foi utilizado o MS, e os tratamentos consistiram dos sais minerais em diferentes concentrações (0, 25, 50, 75 e 100%) e suplementados com sacarose (0, 15, 30, 45 e 60 g/l), em todas as combinações possíveis. O pH foi aferido para 5,7, e o meio, solidificado com 7,0 g/l de ágar.

O ensaio, com 12 repetições em delineamento inteiramente casualizado, foi mantido em sala de crescimento com fotoperíodo de 16 hs, intensidade luminosa de

3.000 lux, temperatura média de 25°C, foi analisado em esquema fatorial (concentração de sais x sacarose).

A avaliação foi efetuada aos 30 dias de cultivo, utilizando como parâmetros o número de brotações, número de folhas e o comprimento médio das folhas. Para efeito de análise estatística, os dados foram transformados em  $\sqrt{x + 0,5}$ .

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Verificou-se, através da análise estatística (presente na Tabela 1), interação não-significativa entre os fatores analisados (sacarose x sais).

O fator concentração de sais do meio MS foi altamente significativo em relação ao comprimento de folhas, e significativo quanto ao número de brotações produzidas. Não houve significância quanto ao número de folhas produzidas.

Observa-se, na Fig. 1, que a elevação da concentração de sais resultou num aumento do número de brotações até um máximo de 2,6, na concentração de 25%. Concentrações superiores reduziram o número de brotações, e observou-se um acréscimo desta característica na concentração de 100% de sais. Em relação ao comprimento das folhas produzidas, por explante, houve redução desta característica à medida que se elevou a concentração de sais até 75%, com um ligeiro acréscimo na concentração total de sais (Fig. 2).

Estes resultados estão de acordo com os obtidos por Khoo & Thomas (1980), que verificaram que altas concentrações de sais tendem a retardar a germinação e a formação dos esporófitos de prota-

**TABELA 1. Quadrados médios referentes ao número de brotações, ao número de folhas e ao comprimento de folhas.**

Fonte de variação	Quadrados médios		
	Número de brotações	Número de folhas	Comprimento de folhas (cm)
Sais do MS (MS)	1,255002*	2,689455	1,707563**
Sacarose (S)	4,537081**	26,30797**	3,323096**
MS x S	0,5568778	1,848770	0,4730921
Resíduo	0,4534404	1,472681	0,3192148
CV (%)	30,460	25,998	15,703

\*\* Significativo a 1% de probabilidade

\* Significativo a 5% de probabilidade

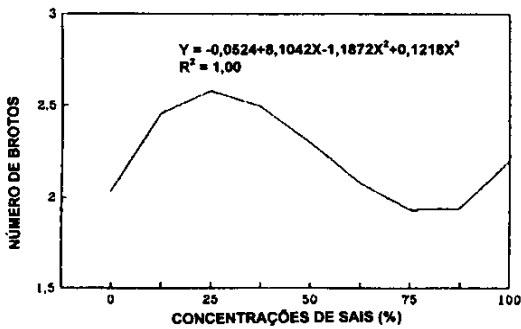


FIG. 1. Estudo de regressão relativo ao número médio de brotações em relação à concentração de sais.

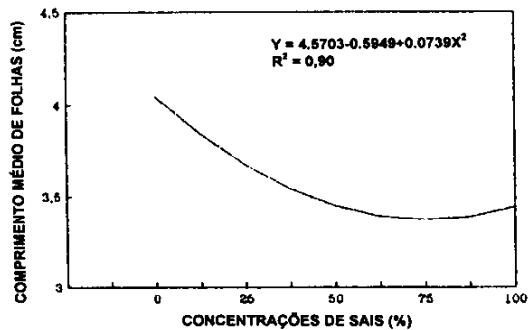


FIG. 2. Estudo de regressão relativo ao comprimento médio de folhas em diferentes concentrações de sais.

lo de samambaias do gênero *Adiantum*. Loescher & Albrecht (1979) obtiveram resultados semelhantes, onde metade dos sais do MS produziram maior número de brotos e maior massa vegetativa medidos em peso seco e fresco do que o meio MS total. Relatam que a organogênese geralmente é inibida por níveis-padrões de sais do MS, mas que esta inibição poderia ser evitada com o uso de níveis mais diluídos.

Em relação ao fator sacarose, verificou-se alta significância em todos os parâmetros observados: número de brotos, número de folhas, e comprimento médio de folhas por explante (Tabela 1). A elevação da concentração de sacarose aumentou o número de brotos produzidos, até um máximo de 2,6 brotações, na concentração de 30 g/l de sacarose (Fig. 3). Acima desta dosagem, observou-se redução do número de brotos, por explante.

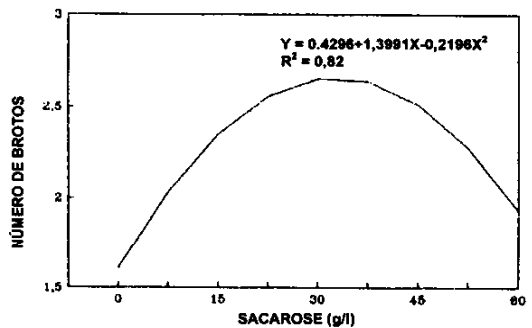


FIG. 3. Estudo de regressão quanto ao número médio de brotações em relação à concentração de sacarose.

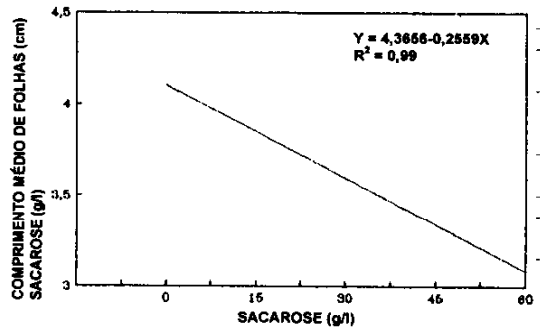


FIG. 4. Estudo de regressão relativo ao comprimento médio de folhas em diferentes concentrações de sacarose.

Quanto ao comprimento médio das folhas produzidas, houve uma resposta linear decrescente às doses de sacarose, como pode ser observado na Fig. 4. Em relação ao número de folhas produzidas, melhores resultados foram evidenciados entre 15 e 30 g/l (Fig. 5). Dosagens mais elevadas reduziram o número de folhas.

Os resultados obtidos coincidem com as observações de Lê (1983), que otimizou a formação de colônias de protalo de *N. exaltata* na faixa de 20 a 30 g/l de sacarose e salientou que dosagens mais baixas induzem a calogênese. Loescher & Albrecht (1979) relatam que o desenvolvimento de brotos de *N. exaltata* cv. 'Bostoniensis' é promovido por baixas concentrações de sacarose, e inibido por altas concentrações. O excesso de sacarose no meio pode causar problemas de excessi-

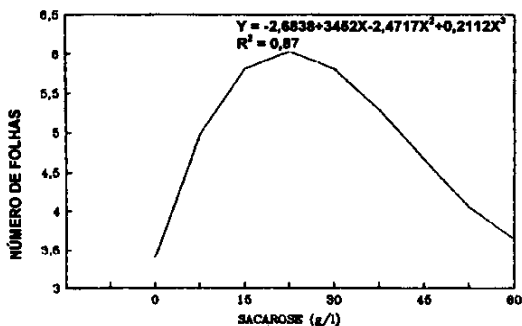


FIG. 5. Estudo de regressão quanto ao número médio de folhas em relação à concentração de sacarose.

vo potencial osmótico do meio, que pode levar a uma deterioração das culturas (Grattapaglia & Machado, 1990).

### CONCLUSÕES

1. A sacarose e a concentração de sais influenciaram diretamente no processo de multiplicação *in vitro* de samambaias da espécie *N. exaltata*.
2. Concentrações de sais em torno de 25% propiciaram uma boa proliferação de brotos, assim como o desenvolvimento vegetativo dos explantes.
3. A concentração de 30 g/l de sacarose proporcionou o maior número de brotações, por explante. Quanto ao comprimento das folhas, melhores resultados foram evidenciados entre 15 e 30 g de sacarose.

### REFERÊNCIAS

- BREZNOVITS, A.; MOHAY, J. *In vitro* problems related to propagation of different fern species. *Acta Horticulturae*, v.12, n.2, p.427-431, 1987.
- GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M.A. Micropropagação. In: TORRES, A.C.; CALDAS, L. (Ed.). *Técnicas e aplicações da cultura de tecidos de plantas*. Brasília: ABCTP/EMBRAPA-CNPq, 1990. p.99-169.
- HIGUCHI, H.; AMAKI, W. Effects of 6-benzylaminopurine on the organogenesis of *Asplenium nidus* L. through *in vitro* propagation. *Scientia Horticulturae*, v.37, n.4, p.351-359, 1989.
- KHOO, S.I.; THOMAS, M.B. Studies on the germination of fern spores. *Plant Propagator*, v.26, n.2, p.11-15, 1980.
- LÊ, L. Essai de multiplication de *Nephrolepis exaltata* par culture *in vitro* de tissu gamétophytique. *Revue Suisse de Viticulture, Arboriculture et Horticulture*, v.15, n.3, p.189-192, 1983.
- LOESCHER, W.H.; ALBRECHT, C.N. Development *in vitro* of *Nephrolepis exaltata* cv. Bostoniensis runner tissues. *Physiologia Plantarum*, v.47, n.4, p.250-254, 1979.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiologia Plantarum*, v.15, p.473-497, 1962.
- PAEK, K.Y.; LEE, C.H.; CHOI, J.K.; KWACK, B.H. Mass propagation of *Nephrolepis exaltata* by runner tips *in vitro*. *Journal of the Korean Society for Horticultural Science*, v.25, n.4, p.313-321, 1984.