

# ACLIMATIZAÇÃO DE GERMOPLASMA DE CAPIM-ELEFANTE, PÓS CULTIVO *IN VITRO*

## Acclimatization of elephantgrass germplasm after *in vitro* growth

Fausto de Souza Sobrinho<sup>1</sup>, Antônio Vander Pereira<sup>1</sup>, Francisco José da Silva Léo<sup>1</sup>, Jackson Silva e Oliveira<sup>1</sup>, Sarah Maria Vargas<sup>2</sup>

### RESUMO

Entre as forrageiras tropicais, o capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schum.) se destaca pelo grande potencial de produção de forragem e ampla adaptação ambiental. A utilização de acessos do banco de germoplasma mantidos *in vitro* requer a prévia aclimatização das plantas. No caso específico do capim-elefante, não existem informações a respeito das condições ideais e variabilidade para a aclimatização. Por isso, objetivou-se com este trabalho verificar a existência de variabilidade para aclimatização entre os genótipos de capim-elefante, utilizando-se diferentes substratos. Foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial, com três repetições e parcelas de quatro vasos com uma planta cada. Os tratamentos foram constituídos por quatro genótipos de capim-elefante [Cameroon, Mineiro, Pioneiro e um híbrido triplóide (*P. purpureum* x *P. glaucum*)], quatro substratos [substrato comercial Plantmax; Areia irrigada com adubo Ouro Verde (1 g/l); Vermiculita irrigada com adubo Ouro Verde (1 g/l) e mistura de solo, areia e esterco (1:1:1)] e dois tempos de introdução *in vitro* (permanência de 15 e 90 dias *in vitro*). Os resultados evidenciaram que os substratos estudados não interferiram na porcentagem de pegamento das plantas de capim-elefante aclimatizadas. De um modo geral, quanto maior o período *in vitro* das plantas de capim-elefante, menor a porcentagem de pegamento na aclimatização.

**Termos para indexação:** *Pennisetum purpureum*, cultura de tecidos, melhoramento, forrageiras.

### ABSTRACT

Among the tropical forages, elephantgrass (*Pennisetum purpureum* Schum.) is noted due its high potential of forage production as well as the wide environmental adaptability. The utilization of accessions from *in vitro* germoplasm bank requires previous acclimatization of the plants. In the specific case of elephantgrass, there is no information regarding the ideal conditions and the variability for acclimatization. The objective of this study was to verify the existence of variability in elephantgrass genotypes for acclimatization when using different types of substrate. The experimental design was a completely randomized factorial with three replications using four vases with one plant each as experimental unit. The effect of four substrates [commercial substrate Plantmax; sand irrigated with Ouro Verde fertilizer (1 g/l); vermiculita irrigated with Ouro Verde fertilizer (1 g/l) and a mixture of soil, sand and dry manure (1:1:1)] and two *in vitro* introduction times (15 and 90 days) were studied with four elephantgrass genotypes (Cameroon, Mineiro, Pioneiro and a triploid hybrid from *P. purpureum* x *P. glaucum*). Results highlight that the type of substrate used did not affect the final stand of the acclimated elephantgrass plants. In general, the longer the *in vitro* period, the smaller the final stand during acclimatization.

**Index terms:** *Pennisetum purpureum*, tissue culture, breeding, forages.

(Recebido para publicação em 2 de junho de 2005 e aprovado em 24 de janeiro de 2006)

### INTRODUÇÃO

A intensificação dos sistemas de produção de leite e carne vem ocorrendo de forma acentuada em todo o Brasil. Na busca do aumento da produtividade esses sistemas requerem a utilização de animais produtivos, os quais, por sua vez, exigem alimentos volumosos de boa qualidade para que possam expressar todo o seu potencial genético (OLIVEIRA et al., 2004).

O uso eficiente de forrageiras e pastagens na alimentação animal representa uma forma garantida e capaz de elevar a produtividade e reduzir os custos de produção. Nesse sentido, o capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schum.) é uma das gramíneas mais importantes e difundidas

em todas as regiões tropicais e subtropicais do mundo. Essa forrageira se destaca pela elevada capacidade de produção de matéria seca, tolerância a períodos secos, boa aceitabilidade e qualidade da forragem. No arraçamento animal o capim-elefante tem sido fornecido verde picado; conservado sob as formas de silagem e feno e sob a forma de pastejo rotacionado (PEREIRA et al., 2001).

A propagação *in vitro* é uma técnica de cultura de tecidos bem-sucedida e tem sido amplamente utilizada na preservação e multiplicação de germoplasma. Essa técnica propicia vantagens sobre os métodos convencionais de propagação, permitindo a obtenção em curto espaço de tempo, em qualquer época do ano, de um grande número de plantas de boa qualidade fitossanitária e autenticidade

<sup>1</sup>Engenheiro Agrônomo, Pesquisador da Embrapa Gado de Leite – Rua Eugênio do Nascimento, 610, Dom Bosco – 36038-330 – Juiz de Fora/MG – fausto@cnpqi.embrapa.br

<sup>2</sup>Bióloga, Aluna de Doutorado em Genética e Melhoramento – Universidade Federal de Minas Gerais/UFMG – Av. Antônio Carlos, 6627 – Pampulha – 31.270-901 – Belo Horizonte, MG.

varietal (MACIEL et al., 2000). O cultivo *in vitro* tem sido utilizado para manutenção de bancos de germoplasma, contribuindo para redução nos custos, espaço físico e mão-de-obra necessários nessa atividade. Na Embrapa Gado de Leite a preservação do germoplasma de capim-elefante tem sido realizada por meio do cultivo *in vivo* e *in vitro* (PEREIRA et al., 2001).

No caso da multiplicação *in vitro*, antes da sua utilização no campo, há necessidade de aclimatização das plantas, que consiste na adaptação da planta às condições ambientais após sua remoção da condição *in vitro* antes do transplante para o local definitivo (PASQUAL et al., 1996).

No caso específico do capim-elefante, as respostas ao cultivo *in vitro* têm sido bastante variáveis entre genótipos (BARBOSA, 2004; BARBOSA et al., 2003; KARASAWA et al., 2002; ZANETTE et al., 1988), contudo, não existem informações disponíveis sobre as melhores condições para realização da aclimatização de acessos provenientes dos bancos de germoplasma *in vitro*. Por isso, visou-se com este trabalho verificar a existência de variabilidade para aclimatização entre os genótipos de capim-elefante, utilizando-se diferentes substratos.

#### MATERIALE MÉTODOS

Os trabalhos foram conduzidos na Embrapa Gado de Leite, em Juiz de Fora, Minas Gerais, localizada a 21°46' de latitude Sul, 43°21' de longitude Oeste e 940 m de altitude.

Utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial, com três repetições e parcelas de quatro vasos com uma planta cada. Os tratamentos foram constituídos por quatro genótipos de capim-elefante [Cameroon, Mineiro, Pioneiro e um híbrido Triplóide (*P. purpureum* x *P. glaucum*)], quatro substratos [Substrato comercial Plantmax; Areia irrigada com adubo Ouro Verde (1 g/l); Vermiculita irrigada com adubo Ouro Verde (1 g/l) e mistura de solo, areia e esterco (1:1:1)] e dois tempos de introdução *in vitro* (permanência de 15 e 90 dias *in vitro*).

A primeira parte do experimento foi realizada no Laboratório de Genética Vegetal e consistiu em introduzir explantes de meristemas apicais e laterais, devidamente desinfestados, provenientes de colmos dos quatro genótipos de capim-elefante estudados, em frascos de vidro autoclavados contendo meio de cultura "MS". A partir de então, o enraizamento dos explantes foi avaliado diariamente. Assim que se obteve o número necessário de

plantas para os experimentos começou a contar o tempo de permanência *in vitro* (15 e 90 dias).

O processo de aclimatização das plantas teve início com uma pré-aclimatização, durante dois dias, quando os frascos foram destampados, permanecendo em condições ambientais normais. Após este período, procedeu-se a retirada das plantas do meio de cultura, seguido de lavagem das raízes e plantio nos diferentes substratos, em vasos plásticos com capacidade de 200 mL.

O experimento foi instalado em casa-de-vegetação, sem controle da temperatura ou irrigação. A altura inicial das plantas foi medida por ocasião da implantação do experimento. Após 30 dias foi realizada a avaliação do experimento, mensurando-se as características altura das plantas, número de folhas por planta (NF), número de perfilhos (NP) e porcentagem de pegamento (% PEG) por parcela. Com os dados da altura inicial e final das plantas obteve-se o incremento no período (ALT). Para todas as características foram realizadas análises estatísticas, considerando-se o modelo estatístico adotado, e empregou-se o teste de Scott-Knott para comparação das médias.

#### RESULTADOS E DISCUSSÃO

As análises estatísticas indicaram a existência de variabilidade para as fontes de variação genótipos e tempo de introdução para todas as características avaliadas, exceto para NP (Tabela 1). Para os substratos verificaram-se diferenças significativas para NF e NP, com destaque para o substrato comercial e a vermiculita mais solução nutritiva, respectivamente (Tabela 2). A % PEG foi semelhante em todos os substratos estudados, indicando que estes não interferem na aclimatização dos genótipos de capim-elefante (Tabela 2). Resultados semelhantes foram obtidos por Maciel et al. (2000), avaliando a aclimatização de plantas de violeta (*Saintpaulia ionantha* Wendl.). Esses autores encontraram sobrevivência de 100% em todos os substratos testados e diferenças para o ganho de matéria fresca, sendo o melhor substrato a mistura de areia e composto orgânico. Terceiro Neto et al. (2004), também trabalhando com aclimatização de plantas de violeta, encontraram melhores resultados para os substratos comerciais plantagro e bioplant, seguidos pelo pó de coco seco e vermiculita.

As interações envolvendo substratos mostraram-se não-significativas para a maioria das características. Apenas houve significância das interações de substratos

com genótipos e com tempo de introdução para número de perfilhos e altura da planta, respectivamente. Comprova-se, portanto, a pequena interferência dos substratos na aclimatização do capim-elefante. Já a interação genótipos x tempo de introdução foi significativa para todas as características, à exceção da ALT, mostrando que o tempo de introdução interfere no desempenho dos genótipos de capim-elefante quando submetidos à aclimatização, e vice-versa (Tabela 1).

Para ALT a média geral envolvendo todos os genótipos, substratos e tempos de introdução foi de 14,87 cm, variando de 11,38 cm, no genótipo Cameroon, a 20,52 cm no Pioneiro. As médias do NF e NP foram de 6,18 e 1,84, respectivamente. A % PEG variou de 68,75% no híbrido triplóide a 91,67% no Pioneiro, com média de 79,95%. Os genótipos que apresentaram maior % PEG foram o Mineiro e Pioneiro, que foram classificados como superiores pelo teste de Scott-Knott (Tabela 2), com média de 90,1% de pagamento.

Quando se considera os diferentes tempos de introdução, verifica-se que quanto maior o tempo que os genótipos ficaram submetidos ao cultivo *in vitro*, menor a % PEG na aclimatização. Aos 15 dias após introduzidos em meio de cultura a aclimatização média foi de 97,4%, caindo para 62,5% aos 90 dias.

Em função da significância da interação genótipos x tempo de introdução foram realizados os desdobramentos possíveis (Tabelas 3 e 4). Pela importância da % PEG das plantas, considerou-se apenas essa característica para os desdobramentos. Observou-se que somente houve alteração no comportamento dos genótipos no tempo de introdução de 90 dias. Aos 15 dias, todos os genótipos apresentaram % PEG superior a 90%, e aos 90 dias os melhores foram Mineiro e Pioneiro, com médias de aproximadamente 80% (Tabela 3). Já para o desdobramento do tempo de introdução dentro dos diferentes genótipos, observou-se que apenas o Pioneiro não apresentou alteração na % PEG com aumento do período *in vitro* (Tabela 4).

**TABELA 1** – Resumo das análises de variância para as características altura de plantas (ALT), número de folhas (NF), número de perfilhos (NP) e porcentagem de pagamento (% PEG).

FV	GL	QM			
		ALT	NF	NP	% PEG
Repetição	2	23,393	3,233	1,956	983,073
Genótipo	3	413,841**	38,676**	1,855	3357,205**
Substrato	3	28,8308	16,124**	25,222**	683,594
Tempo introdução (TI)	1	1670,002**	289,815**	2,375	29225,260**
G x S	9	29,626	2,362	1,544*	440,538
G x TI	3	34,562	11,361**	3,885**	2141,927**
S x TI	3	45,194*	0,674	1,741	128,038
G x S x TI	9	17,066	1,334	1,215	405,816
Erro	62	14,932	2,359	0,714	431,997
CV (%)		25,99	24,85	46,03	26,00
Média		14,87	6,18	1,836	79,95

\* e \*\* - Teste F significativo a 5% e 1% de probabilidade, respectivamente.

**TABELA 2** – Altura de plantas (ALT), número de folhas (NF), número de perfilhos (NP) e porcentagem de pegamento (% PEG) de quatro genótipos de capim-elefante aclimatizados em diferentes substratos retirados do meio de cultura após dois períodos distintos de introdução.

<b>Genótipo</b>	<b>ALT (cm)*</b>	<b>NF</b>	<b>NP</b>	<b>% PEG</b>
Cameroon	11,38 <sup>c</sup>	4,78 <sup>c</sup>	1,43 <sup>b</sup>	70,83 <sup>b</sup>
Mineiro	15,43 <sup>b</sup>	6,67 <sup>b</sup>	1,91 <sup>a</sup>	88,54 <sup>a</sup>
Pioneiro	20,52 <sup>a</sup>	7,69 <sup>a</sup>	2,02 <sup>a</sup>	91,67 <sup>a</sup>
Triplóide	12,15 <sup>c</sup>	5,59 <sup>c</sup>	1,99 <sup>a</sup>	68,75 <sup>b</sup>

  

<b>Substrato</b>				
Comercial	13,51 <sup>a</sup>	6,57 <sup>a</sup>	1,28 <sup>c</sup>	83,33 <sup>a</sup>
Areia + Sol. Nutritiva	14,79 <sup>a</sup>	5,51 <sup>b</sup>	2,33 <sup>b</sup>	73,96 <sup>a</sup>
Solo:areia:esterco	15,00 <sup>a</sup>	7,15 <sup>b</sup>	0,73 <sup>d</sup>	85,42 <sup>a</sup>
Vermiculita + sol. nutritiva	16,18 <sup>a</sup>	5,49 <sup>b</sup>	3,01 <sup>a</sup>	77,08 <sup>a</sup>

  

<b>Tempo de Introdução</b>				
15 dias	19,04 <sup>a</sup>	7,92 <sup>a</sup>	1,99 <sup>a</sup>	97,40 <sup>a</sup>
90 dias	10,70 <sup>b</sup>	4,44 <sup>b</sup>	1,68 <sup>a</sup>	62,50 <sup>b</sup>

\* Letras diferentes na mesma coluna indicam diferenças significativas entre as médias, pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

**TABELA 3** – Porcentagem de pegamento das plantas para o desdobramento dos genótipos dentro de cada nível do tempo de introdução.

<b>Genótipos</b>	<b>15 dias*</b>	<b>90 dias</b>
Cameroon	91,67 <sup>a</sup>	50,00 <sup>b</sup>
Mineiro	97,92 <sup>a</sup>	77,08 <sup>a</sup>
Pioneiro	100,00 <sup>a</sup>	83,33 <sup>a</sup>
Triplóide	100,00 <sup>a</sup>	39,58 <sup>b</sup>

\* Letras diferentes na mesma coluna indicam diferenças significativas entre as médias, pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

**TABELA 4** – Porcentagem de pegamento das plantas para o desdobramento dos tempos de introdução dentro de cada genótipo.

<b>Genótipos</b>	<b>Cameroon*</b>	<b>Mineiro</b>	<b>Pioneiro</b>	<b>Triplóide</b>
15 dias	91,67 <sup>a</sup>	100,00 <sup>a</sup>	100,00 <sup>a</sup>	97,91 <sup>a</sup>
90 dias	50,00 <sup>b</sup>	77,08 <sup>b</sup>	83,33 <sup>a</sup>	39,58 <sup>b</sup>

\* Letras diferentes na mesma coluna indicam diferenças significativas entre as médias, pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

### CONCLUSÕES

Existe variabilidade para aclimatização entre os genótipos de capim-elefante.

Considerando-se os substratos utilizados neste trabalho, não se verificou interferência na porcentagem de pegamento das plantas de capim-elefante aclimatizadas.

Quanto maior o período *in vitro* das plantas de capim-elefante, menor a porcentagem de pegamento na aclimatização.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BARBOSA, S. **Micropropagação e duplicação cromossômica de híbridos triplóides de capim-elefante e milho**. 2004. 119 p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2004.

BARBOSA, S.; DAVIDE, L. C.; PEREIRA, A. V. Cytogenetics of *Pennisetum purpureum* Schumack x *Pennisetum glaucum* L. hybrids and their parents. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 27, n. 1, p. 26-35, jan./fev. 2003.

KARASAWA, M. M. G.; PINTO, J. E. B. P.; PINTO, J. C.; PEREIRA, A. V. Proliferação de capim-elefante em diferentes concentrações de regulador de crescimento e consistências do meio de cultura. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 26, n. 6, p. 1243-1251, nov./dez. 2002.

MACIEL, A. L. R.; SILVA, A. B.; PASQUAL, M. Aclimatização de plantas de violeta (*Saintpaulia ionantha*

Wendl.) obtidas *in vitro*: efeitos do substrato. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 24, n. 1, p. 9-12, jan./mar. 2000.

OLIVEIRA, J. S.; SOUZA SOBRINHO, F.; REIS, F. A.; PAES, J. M. V.; PERES, R. M.; JUSTO, C. L.; COUTINHO FILHO, J. L. V.; LANÇANOVA, J. A. C.; GERAGE, A. C. Híbridos de milho para silagem na região do Brasil Central. **Ars Veterinaria**, Jaboticabal, v. 20, n. 1, p. 81-90, 2004.

PASQUAL, M.; MACIEL, A. L. R.; SILVA, A. B. Enraizamento de rotações de violeta africana (*Saintpaulia ionantha* Wendl.): efeitos da incubação em ácido indolbutírico. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 20, n. 4, p. 462-467, out./dez. 1996.

PEREIRA, A. V.; VALLE, C. B. do; FERREIRA, R. de P.; MILES, J. W. Melhoramento de forrageiras tropicais. In: NASS, L. L.; VALOIS, A. C. C.; MELO, I. S.; VALADARES-INGLIS, M. C. **Recursos genéticos e melhoramento de plantas**. Rondonópolis: Fundação Mato Grosso, 2001. p. 549-602.

TERCEIRO NETO, C. P. C.; HERNANDEZ, F. F. F.; BEZERRA, F. C.; SOUSA, R. F.; CAVALCANTI, M. L. F. Efeito de diferentes substratos na aclimatização *ex vitro* de mudas de violeta africana (*Saintpaulia ionantha* Wendl.). **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, [S.l.], v. 4, n. 2, 2004.

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, n. 1/2, p. 175-177, 1988.