

**Trabalhos desenvolvidos com Pupunheira no Laboratório de Morfogênese e
Biologia Reprodutiva de Plantas**

Depto. de Ciências Biológicas - ESALQ/USP/Piracicaba/SP

Coordenador: Prof. Dr. Marcílio de Almeida

Equipe de trabalho:

Cristina Vieira de Almeida: Pós-doutoranda (CNPq)

Cássia R. F. Figueiredo: Tec. lab. (Graduanda em Farmácia - UNIMEP)

Lívia Vieira de Almeida: Graduando em Agronomia (UFLA)

Samuel Silva Silvestre: Graduando em Agronomia (ESALQ)

Vinícius Garcia Meyer: Graduando em Ciências Biológicas (ESALQ)

Áreas de pesquisa

Morfogênese, Histologia, Microscopia Eletrônica (MEV e MET) e isolamento, identificação (caracterização genética) e introdução de endófitos em plantas axênicas

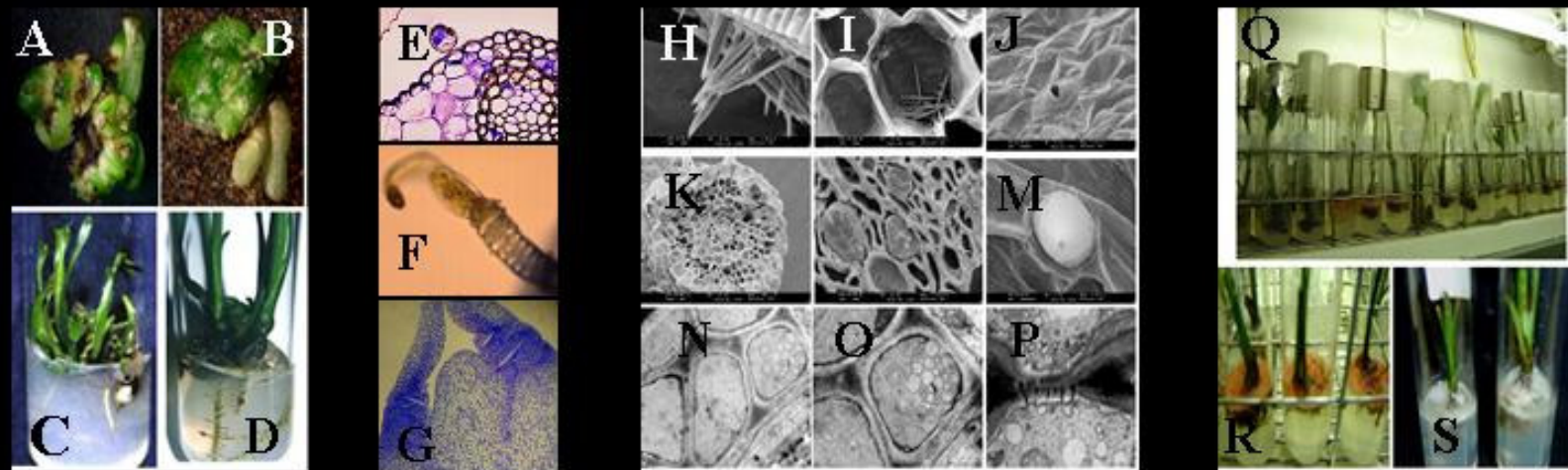


Figura 1- A: organogênese; B: embriogênese somático; C e D: micropropagação; E e F: tricomas glandulares; G: gema adventícia; H a M: microscopia eletrônica de varredura; N, O e P: microscopia eletrônica de transmissão; Q, R e S: Introdução da microbiota endofítica em plantas axênicas

Organogênese

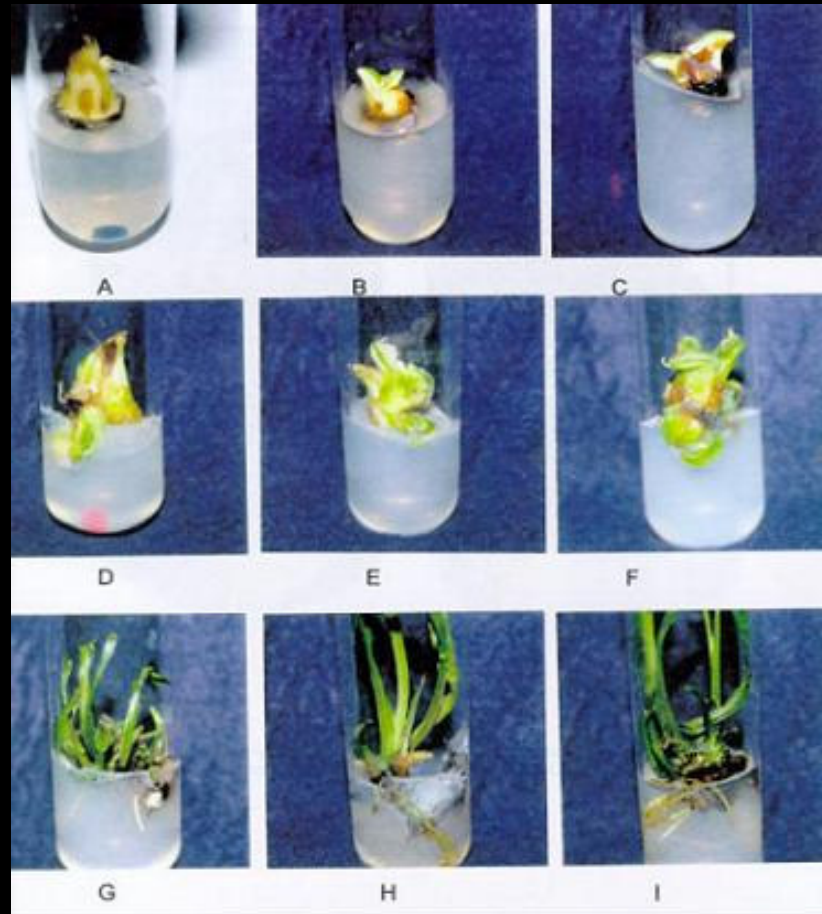


Figura 2: Etapas da micropropagação de pupunheiras a partir de ápices caulinares de plantas adultas (A a I)

Embriogênese Somática

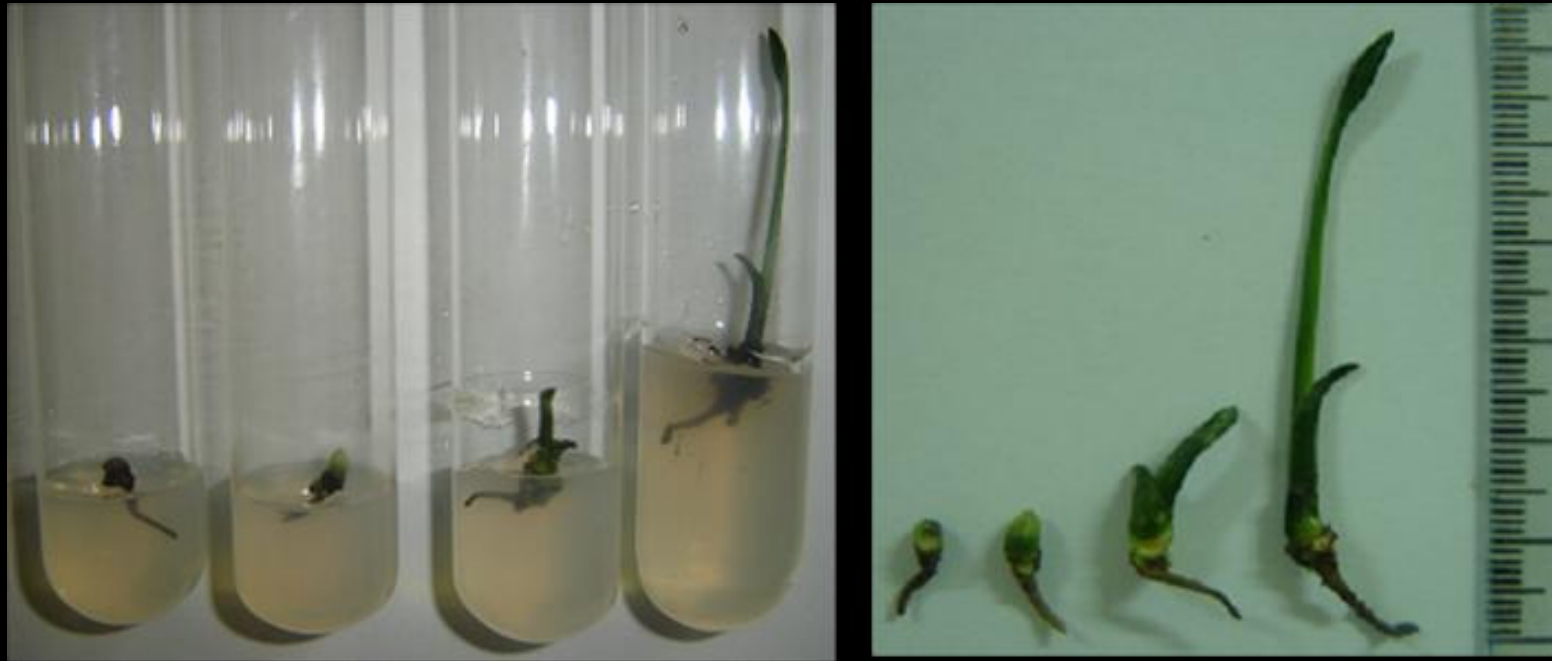


Figura 3: Resgate de pupunheiras por meio de embriões somáticos obtidos a partir de primórdios foliares de plantas adultas

Plantas micropropagadas

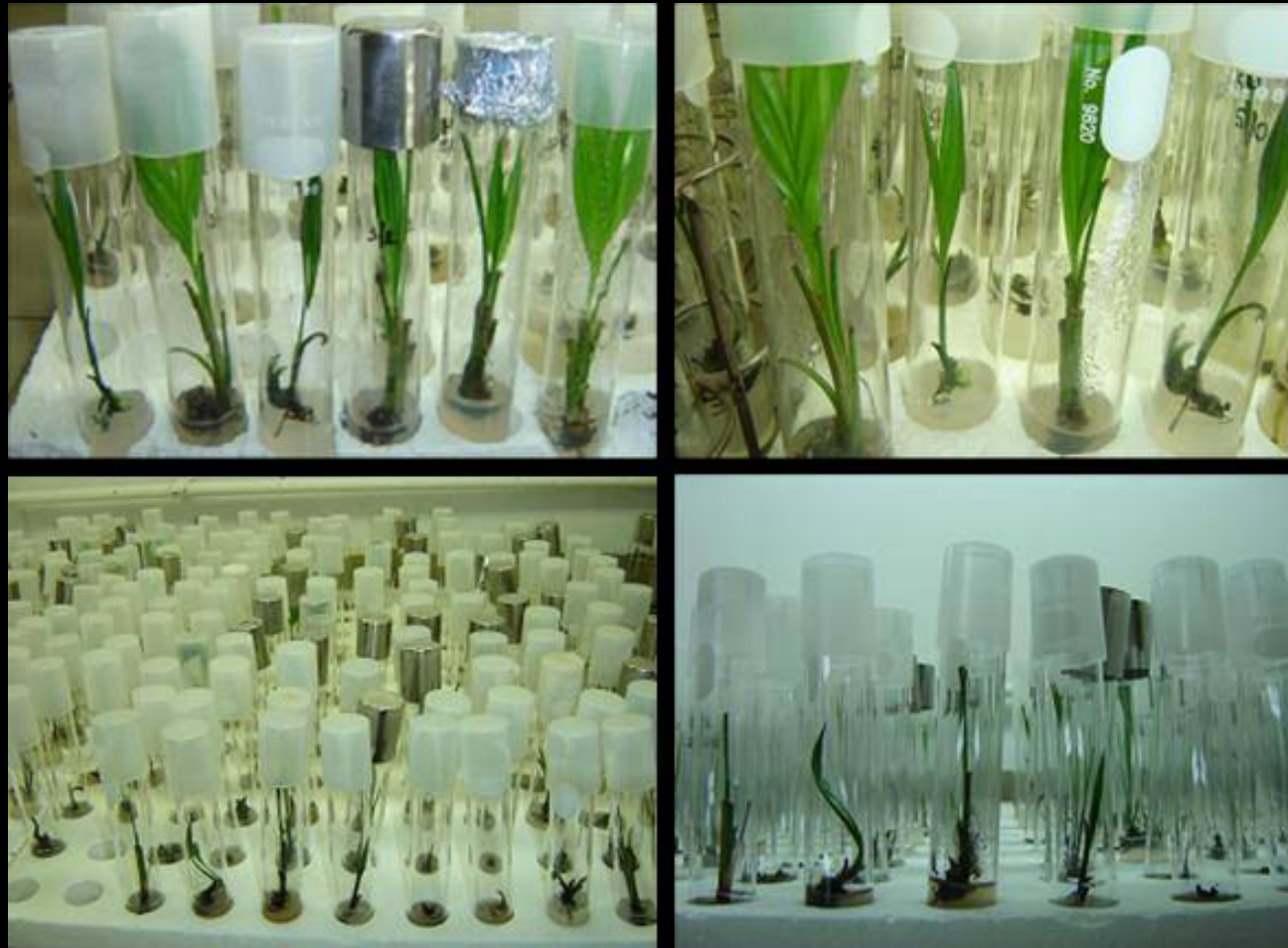


Figura 4: Plantas em fase de micropropagação mantidas sob condições controladas

Estádios de desenvolvimento e aclimatação de plantas micropropagadas



Figura 5: Laboratório – casa de vegetação



Figura 6: Casa de vegetação

Pupunheira micropropagada desenvolvida no campo



Figura 7: Pupunheira micropropagada adulta

**Laboratório de Genética de Microrganismos
Depto. de Genética ESALQ/USP/Piracicaba/SP**

**Isolamento e Caracterização genética de microrganismos endofíticos
presentes em pupunheiras cultivadas “in vitro” e “in situ”**

**Supervisor: Prof. Dr. João Lúcio de Azevedo (Depto . de Genética
de microrganismos)**

Equipe de trabalho:

Dr. Marcílio de Almeida (Morfogênese e Biologia Reprodutiva)

Dra. Cristina Vieira de Almeida: pós-doutoranda (CNPq)

Fernando Dini Andreote: doutorando

Ricardo Yara: doutorando

Dr. Francisco Tanaka (Microscopia eletrônica)

Microbiota endofítica isolada de bainhas foliares e segmentos de frutos

Figura 8: Segmentos de bainha



Figura 9: Segmentos de frutos

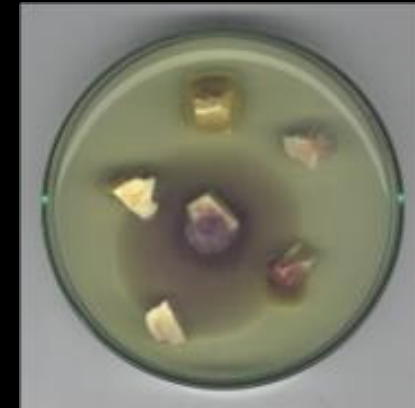


Figura 10: Introdução de endófitos em plantas axênicas



Microscopia Eletrônica de Varredura

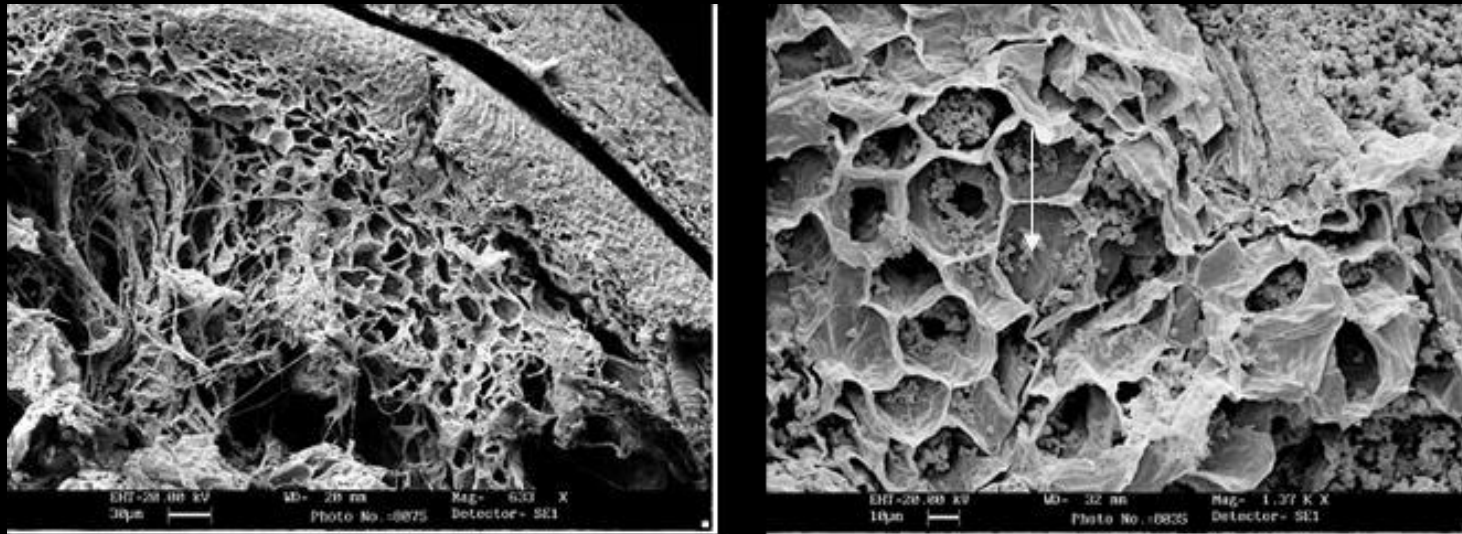


Figura 11: Avaliação em MEV de pupunheiras axênicas, inoculadas com microrganismos endofíticos isolados de plantas adultas cultivadas no campo (seta: leveduras).

Microscopia de luz

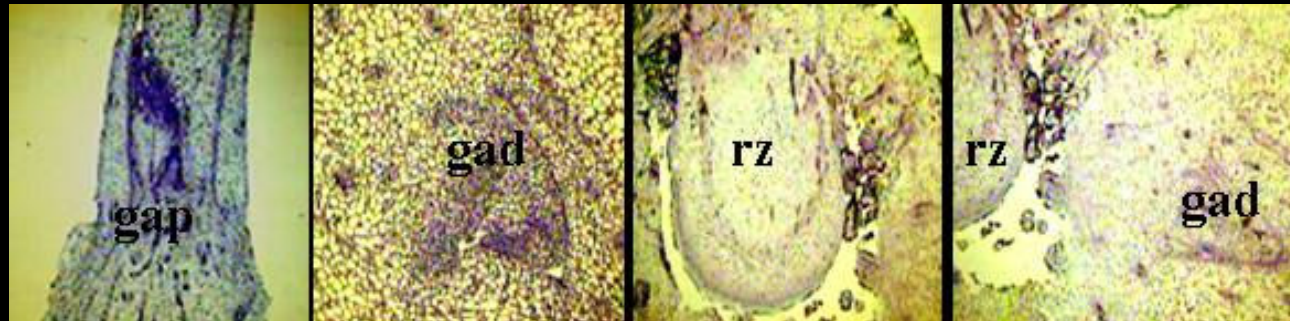


Figura 12: Corte longitudinal de explante cultivado *in vitro* (ápice caulinar de pupunheira adulta), evidenciando o início da formação de estrutura rizomatosa (rz), gema adventícia (gad) e gema apical (gap)

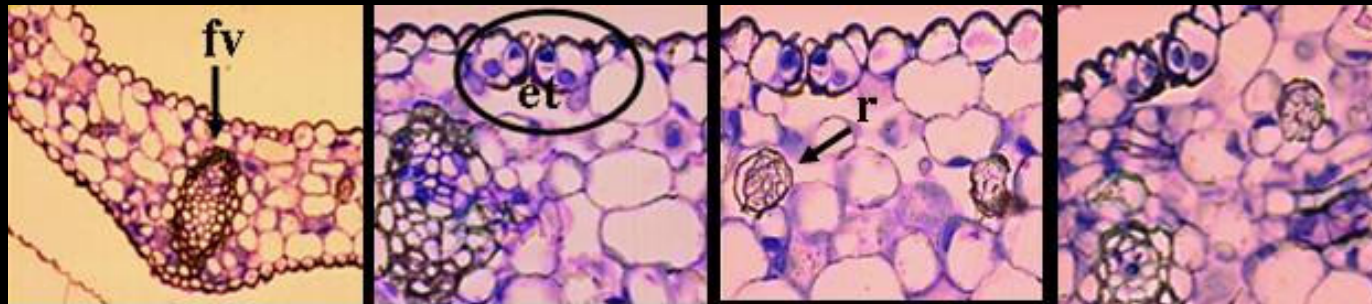


Figura 13: Corte transversal da lâmina foliar de pupunheira em microscopia de luz destacando mesofilo homogêneo, epiderme uniestratificada, com cutícula delgada em ambas as superfícies, anfiestomática com estômatos tetracíticos (et), feixe vascular colateral (fv) e presença de feixes de ráfides (r).

Estudo em microscopia eletrônica de varredura (MEV: A, B, C, D e F) e transmissão (MET: G, H e I) de plantas micropropagadas

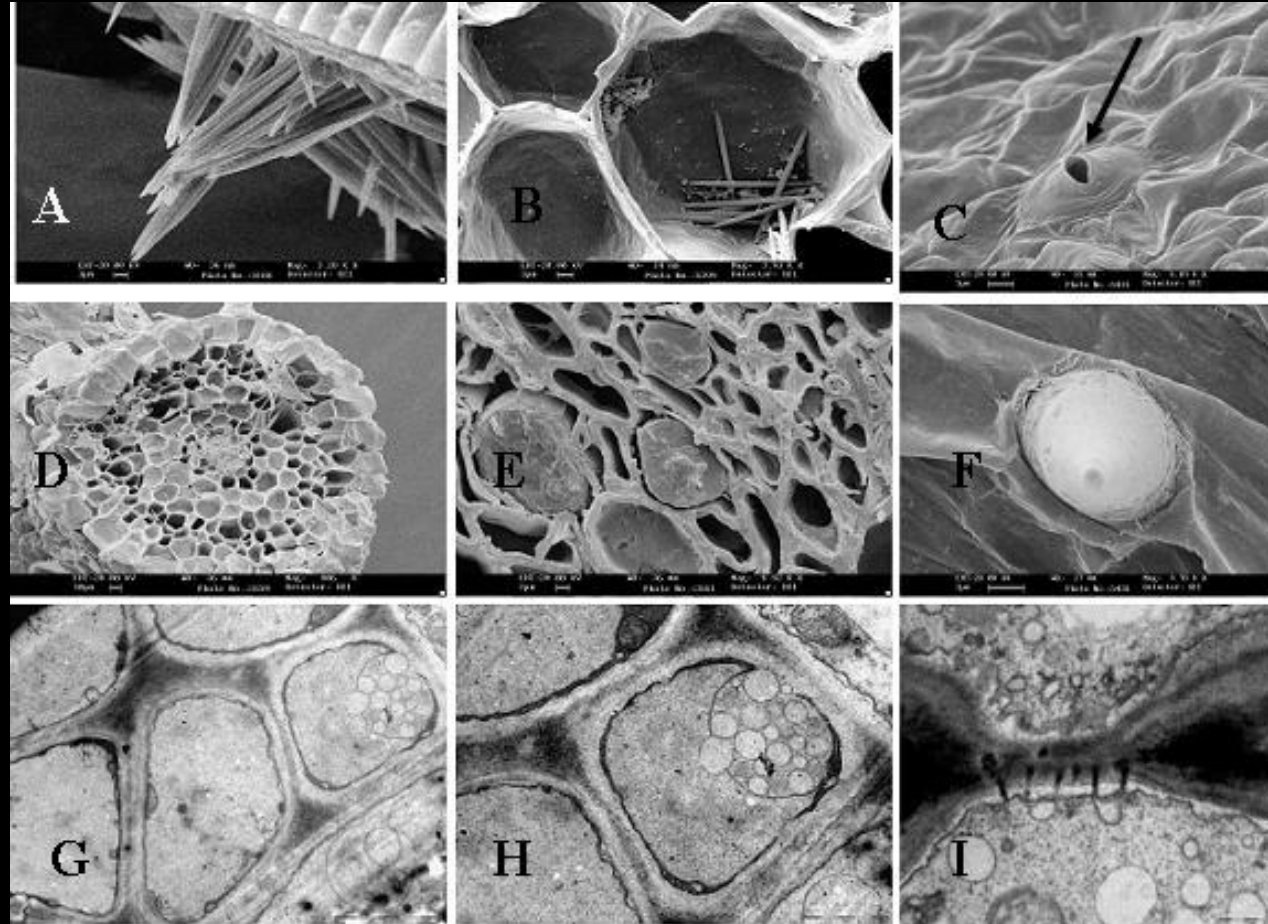


Figura 14: A e B: Ráfides; C: estômato (seta); D: raiz; E: células condutoras obstruídas; F: tricoma tector; G e H: microrganismos intracelulares; I: Plasmodesmos.

Apresentação de painel na Reunião de Genética de microrganismos - REGEN) em março de 2004 em Gramado

Endopartículas celulares de plantas de pupunha (*Bactris gasipaes* Kunth) cultivadas “in vitro” há 6 anos

Plantas de pupunha (*Bactris gasipaes*) obtidas a partir de embriões excisados de sementes, germinados e mantidos em cultura “in vitro” há 6 anos, foram avaliadas por meio de microscopia óptica, observando-se a presença de endopartículas em células do parênquima clorofiliano, próximas aos feixes vasculares no mesófilo da bainha das folhas, e também em células da endoderme e corticais das raízes. Para a identificação destas estruturas em plantas teoricamente axênicas, estas serão avaliadas com maior rigor através de aplicação de antibióticos, microscopia eletrônica de transmissão, aplicação de técnica de DGGE baseada nas análises de perfis de 16S e 18S rDNA. [Painel anexo](#)

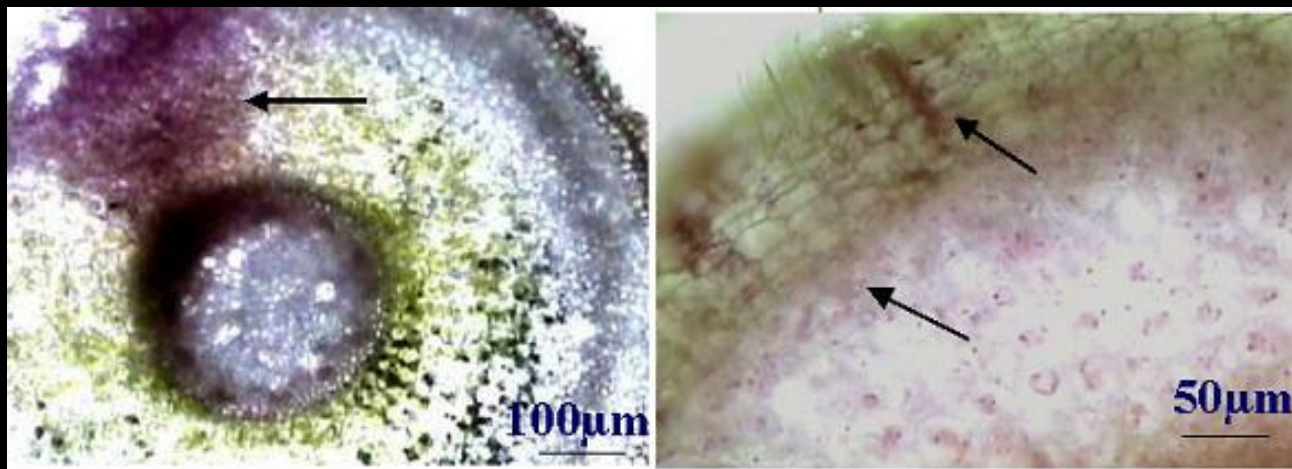


Figura 15: Corte transversal da raiz de plantas tratadas com glifosato e submetidas a tetrazólio, evidenciando intensa atividade metabólica (seta).

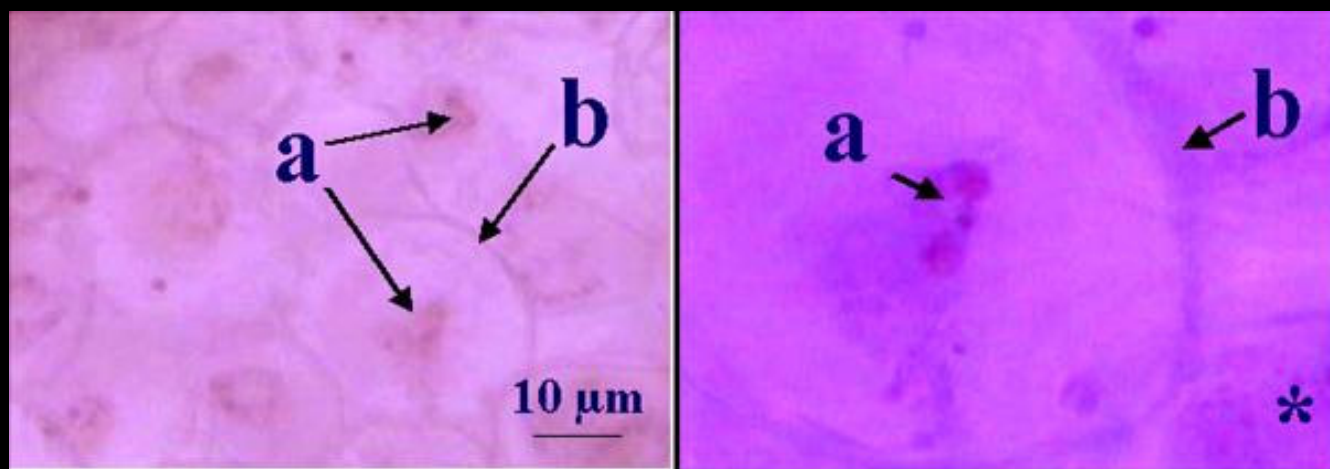


Figura 16: Observa-se nitidamente a presença de endopartículas (a) e a integridade da parede celular (b). * foto ampliada

Painel apresentado no XII SIICUSP (Simpósio Internacional de Iniciação Científica da USP/Piracicaba - 2004) – Prêmio “Menção Honrosa”

Avaliação histológica em microscopia óptica e eletrônica de varredura em plantas de pupunha (*Bactris gasipaes* Kunth) micropropagadas.

A pupunheira apresenta notável precocidade e capacidade de perfilhamento, conferindo-lhe um caráter perene, embora a ocorrência de partenocarpia e polinização deficiente colabore para a dificuldade de propagação. A técnica de micropropagação é fundamental para a clonagem de matrizes selecionadas. O objetivo do trabalho foi avaliar histologicamente, por meio de microscopia óptica e eletrônica de varredura, plantas de pupunha micropropagadas. Para tanto, cortes transversais de folhas e raízes foram realizados em material a fresco ou embocado em historesina, conforme metodologia convencional em microtecnia vegetal. As análises em microscopia de varredura, seguiram o protocolo utilizado no NAP/MEPA/ESALQ/USP. A microscopia óptica evidenciou folhas com mesofilo homogêneo, feixes vasculares colaterais e anfiestomática com estômatos tetracíticos, presença de tracomias tectores e glandulares em ambas as epidermes. A análise por MEV destacou a presença de tricomas nas folhas, feixes de ráfides em folhas e raízes além de obstrução de células dos elementos vasculares das folhas e raízes. Conclui-se que aparentemente o processo de micropropagação não altera as estruturas anatômicas da pupunheira, porém, o alto índice de tricomas glandulares e ráfides, merecem melhor atenção, e a presença de células condutoras obstruídas pode estar relacionada com a dificuldade de aclimação das mudas ao campo, observada em nossos experimentos, por diminuir a absorção e o transporte de nutrientes. [Painel anexo](#)

Considerações finais:

➤ O protocolo para produção de mudas de pupunha por organogênese e embriogênese somática diretas, a partir de plantas adultas está definido, podendo-se considerar que é viável a utilização da técnica *in vitro* para a multiplicação maciça dessa espécie. Porém, a adaptação das mudas no campo, ainda representa o maior problema encontrado devido ao apodrecimento do sistema radicular e clorose foliar.

Dificuldades encontradas para a aclimação das plantas micropropagadas

Fatores abióticos:

- substrato
- umidade
- adubação

Fatores bióticos:

- Utilização de controle biológico (pesquisa em andamento)
- avaliação histológica do sistema radicular (possíveis anomalias) em andamento
- avaliação histológica das folhas (funcionalidade e índice estomático e demais anexos epidérmicos)

Os trabalhos de embriogênese e organogênese somática estão sendo encaminhados para publicação, e as avaliações referentes à otimização dos meios de cultura, serão apresentadas na 13^a SIICUSP (Simpósio Internacional de Iniciação Científica da USP), realizado em novembro próximo, pelos estagiários dos Cursos de Agronomia e Ciências Biológicas.