

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE FEIRA DE SANTANA

Autorizada pelo Decreto Federal nº 77.496 de 27/04/76
Recredenciamento pelo Decreto nº 17.228 de 25/11/2016

PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
COORDENAÇÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

XXIII SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UEFS SEMANA NACIONAL DE CIENTÍFICA E TECNOLÓGICA - 2019

ESTABELECIMENTO E MULTIPLICAÇÃO *IN VITRO* DE *Vellozia punctulata*

Tainah Reis de Souza Teixeira¹; Bárbara Paula dos Santos Borges²; Alone Lima Brito³

1. Bolsista PIBIC/CNPq, Graduanda em Bacharelado em Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: tainahreis.bio@gmail.com
2. Bióloga, Doutoranda em Recursos Genéticos Vegetais, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: barbarapsborges@gmail.com
3. Professora, Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: alone@uefs.br

PALAVRAS-CHAVE: Estresse hídrico; Plantas ornamentais; Cultura de tecidos.

INTRODUÇÃO

A *V. punctulata* Seub (*Velloziaceae*) é uma espécie endêmica do campo rupestre da Chapada Diamantina, Bahia encontrada em moitas sob ambientes rochosos (rupícolas), podendo ser consideradas também terrícolas (MELLO-SILVA, 2015; NEVES, 2009). A espécie possui alto potencial ornamental devido a beleza das suas flores muito vistosas e coloridas que formam belos campos de floração. Na literatura não há trabalhos sobre a sua propagação, sendo observado apenas um trabalho na área ecológica (Neves, 2009).

Nesse contexto, a cultura de tecidos surge como uma alternativa para a propagação e conservação da espécie. Dentre suas técnicas, a micropropagação se destaca por possuir vantagens como rápida produção de grande número de plantas em espaço reduzido e livres de contaminação (PASSOS, 2010). Essa técnica apresenta quatro fases, estabelecimento, multiplicação, enraizamento e aclimatização, sendo interdependentes para o sucesso do protocolo. No estabelecimento da cultura *in vitro*, uma dos fatores mais importante é a seleção do meio nutritivo, o qual varia em sua composição para atender as demandas específicas de cada espécie. A etapa de multiplicação visa maximizar a produção de brotos, sendo dependente das características dos vegetais e do meio de cultura. Desse modo, para espécies tolerantes ao estresse tem sido explorado o seu uso como estímulo a propagação, tendo em vista que o contato prolongado dos vegetais com estresse pode induzir modificação no período reprodutivo seja com a antecipação da floração e/ou emissão de brotos, mecanismo adaptativo relacionado a perpetuação da espécie. Neste sentido, substâncias como o sorbitol e a sacarose podem interferir no potencial osmótico do meio e provocar estresse hídrico, podendo resultar em alterações nas respostas fisiológicas dos vegetais (GRATTAPAGLIA; MACHADO, 1998; FLORES *et al.* 2013).

Dado o exposto, o objetivo do presente trabalho foi estabelecer a espécie *V. punctulata in vitro* e avaliar o estresse osmótico como estímulo para a multiplicação da espécie.

MATERIAL E MÉTODOS

Estabelecimento *in vitro*

1.1 Local de realização dos experimentos e condições de cultivo

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais (LCTV), localizado na Unidade Experimental Horto Florestal da Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS). As culturas foram mantidas em sala de crescimento com temperatura de $25 \pm 3^\circ\text{C}$, sob fotoperíodo de 16 horas e radiação fotossintética ativa de $60\mu\text{mol.m}^{-2}\text{s}^{-1}$. Para todos os experimentos o pH do meio foi ajustado para 5,7 e autoclavado à temperatura de 121°C por 15 minutos.

1.5 Efeito de diferentes concentrações de meio e sacarose na germinação e crescimento inicial de *V. punctulata*.

As sementes foram desinfestadas de acordo com Borges (2015) e inoculadas em diferentes concentrações do meio MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962) com metade e um terço das concentrações salinas (MS/2; MS/3) e de sacarose (0,0; 15; 30 g). O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado, com arranjo fatorial de 2×3 (duas concentrações de meio e três concentrações de sacarose) compostos por 6 repetições cada uma com 5 tubos. A germinação foi observada diariamente, sendo após 20 dias avaliada a porcentagem de germinação (%G). Após 120 dias foram mensurados comprimento da parte aérea (CPA), a matéria fresca (MFPA) e seca (MSPA) da parte aérea, matéria fresca (MFR) e seca (MSR) da raiz, número de folhas (NF) e número de raízes (NR).

2. Multiplicação *in vitro*

2.1 Efeitos do estresse hídrico na multiplicação de *Vellozia punctulata*.

Plântulas germinadas *in vitro* com 2 meses de idade foram inoculadas em meio MS com um terço das concentrações salinas (MS/3), composto por diferentes concentrações de sacarose (15; 30 g.L^{-1}) combinadas com manitol ou sorbitol (0,0; 3,9; 7,8; g.L^{-1}). O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado, com arranjo fatorial de 2×3 (duas concentrações de sacarose e três de manitol ou sorbitol) compostos por 5 repetições, cada uma com 3 tubos.

2.2 Efeito do estresse salino na multiplicação de *Vellozia punctulata*.

Plântulas germinadas *in vitro* com 2 meses de idade foram inoculadas em meio MS com diferentes concentrações salinas (25%, 50%, 75%, 100%, 125% 150%), suplementado com 15 g.L^{-1} de sacarose. O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado, sendo 6 tratamentos compostos por 5 repetições, cada uma com 3 tubos. Aos 60 dias da montagem dos experimentos 2.1 e 2.2 foram avaliados a porcentagem de explante responsivo (%ER) e o número de brotos por explante (NB).

3. Análise Estatística

Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) utilizando o teste de Tukey a 5% de probabilidade com o programa SISVAR, v 5.3, desenvolvido pela UFPA (FERREIRA, 2011).

RESULTADOS E/OU DISCUSSÃO

Estabelecimento *in vitro*

A frequência germinativa da espécie em estudo variou entre os tratamentos testados. No T4 a germinação iniciou-se no 5º dia enquanto nos demais tratamentos a germinação foi iniciada a partir do 8º dia da semeadura. Entretanto as fontes de

variações testadas não foram significativas para porcentagem de germinação, de modo geral foi observada altas taxas de germinação para a espécie (63,33 a 100%).

A interação entre meio e sacarose foi significativa ($p < 0,05$) para número de folhas (NF) e comprimento da parte aérea (CPA). Para comprimento da parte aérea, foi observada médias superiores nas concentrações de 15g de sacarose combinada com o meio MS/2 não diferindo estatisticamente de todas as concentrações desse carboidrato utilizando com o meio MS/3 (Tabela 1). Dados que mostram que a maior disponibilidade hídrica pode ter interferido na incorporação de esqueleto de carbono da espécie. Em relação a variável número de folhas foram observadas maiores médias nas concentrações de 15 e 30g de sacarose para o meio MS/2 não diferindo estatisticamente de todas as concentrações desse carboidrato utilizando o meio MS/3 (Tabela 1). De acordo com Bandinelli *et al.* (2013) o aumento no número de folhas, é um dado importante a ser analisado pois está intimamente relacionado ao número de gemas, que verifica a provável indução de maior número de brotos, possibilitando elevar as taxas multiplicativas.

Tabela 1 - Número de folhas e comprimento da parte aérea de *Vellozia punctulata* submetida a diferentes concentrações de sacarose e meio de cultivo MS por 120 dias.

MEIO DE CULTURA		
SACAROSE (G)	Número de folhas	
	MS/2	MS/3
7,5	5,88bB	9,60aA
15	10,56aA	9,81aA
30	9,45aA	10,65aA
Comprimento da parte aérea (mm)		
7,5	4,45Bb	9,54aA
15	9,68aA	8,84aA
30	6,55bB	9,84aA

Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas na coluna e minúsculas nas linhas não se diferem entre si pelo teste de Tukey (5%).

A fonte de variação sacarose mostrou-se altamente significativa ($p < 0,01$) para matéria seca da parte aérea e da raiz. A matéria seca da parte aérea apresentou resultado superiores nas concentrações 15 e 30g de sacarose (Tabela 2). Dados que concordam com os encontrados por Sherlock (2009) que trabalhando com *Encyclia alboxanthina* Fowlie (Orchidaceae) obteve maior média para matéria seca utilizando 30g de sacarose. Para matéria seca da raiz observou-se maiores médias utilizando 30g de sacarose (Tabela 2). De acordo com Magalhães (1979) a razão de peso das folhas e raízes são variáveis fundamentais a serem estudadas quando se quer avaliar o desempenho de uma espécie cultivada.

Tabela 2 - Matéria seca da parte aérea (MSPA) e da raiz (MSR) de *Vellozia punctulata* submetida a diferentes concentrações de sacarose e meio de cultivo por 120 dias.

Sacarose (g)	Matéria seca da parte aérea (mg)	Matéria seca da raiz (mg)
7,5	0,0009b	0,0001c
15	0,0019a	0,0005b
30	0,0023a	0,0011a

Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey (1%)

Multiplicação *in vitro*

As fontes de variações analisadas para ambos os experimentos de multiplicação não foram significativas para nenhuma das variáveis avaliadas. No entanto, observou-se indução de brotos nos tratamentos, os quais obtiveram média geral de 1,28.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A espécie *Vellozia punctulata* apresenta alta taxa germinativa, sendo sua germinação influenciada pela redução do potencial osmótico no meio de cultivo. Para o crescimento *in vitro* da espécie indica-se o meio MS/3 acrescido de 15g de sacarose. As alterações osmóticas do meio nutritivo testadas neste estudo não são eficientes para induzir brotações *in vitro* em *V. punctulata*.

REFERÊNCIAS

- BANDINELLI, M.G. et al. 2013. Concentração dos sais e da sacarose do meio MS na multiplicação *in vitro* e na aclimatização de batata. *Horticultura Brasileira*, v.31, n.2, p.242-247.
- BORGES, B.P.S. 2015. Regeneração *in vitro* de *Vellozia sincorana* Ayensu & Smith. Universidade Estadual de Feira de Santana, Dissertação de Mestrado.
- FERREIRA, F.D. 2011. Sisvar: a computer statistical analysis system. *Ciência Agrotecnologia*, v. 35, n. 6, p. 1039-1042.
- FLORES, R; ULIANA, S.C; PIMENTEL, N; GARLET, PMB. 2013. Sucrose and sorbitol on the *in vitro* conservation *Pfaffia tuberosa* (Spreng) Hicken (Amaranthaceae). *Journal of Biotechnology and Biodiversity*. v.4, p.192-199.
- GRATTAPAGLIA. D.; MACHADO. M.A. Micropropagação. In: TORRES. A.C.; CALDAS. L.S.; BUSO. J.A. Cultura de tecidos e transformação genética de plantas. Brasília, EMBRAPA-SPI/EMBRAPA v.1 p.183-260, 1998.
- MELLO-SILVA, R. *Velloziaceae* em lista de espécies da flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. v.66, n.4, p.1085-1113. 2015.
- MURASHIGE, T, SKOOG, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures *Physiologia plantarum*, Copenhagen, v. 15, p. 473-497.
- NEVES, S.P.S. 2009. Fenologia, biologia floral e polinização de espécies de velloziaceae endl. em área de campo rupestre na Chapada Diamantina, Bahia, Brasil. Universidade Estadual de Feira de Santana, Dissertação de Mestrado.
- PASSOS, Leônidas Paixão; KOPP, M. M. Micropropagação e cultivo *in vitro* de gramíneas forrageiras tropicais. Embrapa Gado de Leite-Documentos (INFOTECA-E), 2010.
- SHERLOCK, E.M. 2009. Propagação *in vitro* de *Encyclia alboxanthina* Fowlie (Orchidaceae): Espécie endêmica da Chapada Diamantina- Bahia. Universidade Estadual de Feira de Santana, Dissertação de Mestrado.