



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

## XXVII SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UEFS SEMANA NACIONAL DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA - 2023

### INDUÇÃO E POTENCIAL REGENERATIVO DE CALOS DE *Neoregelia mucugensis*

**Vanessa Santana de Souza<sup>1</sup>; José Raniere Ferreira de Santana<sup>2</sup> e Fernanda de Jesus Oliveira Bastos<sup>3</sup>**

1. Bolsista PIBIC/CNPq, Bacharela em Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: [vanessasantanabio@gmail.com](mailto:vanessasantanabio@gmail.com)
2. Orientador, Departamento de Biologia, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: [raniere@uefs.br](mailto:raniere@uefs.br)
3. Mestranda em Recursos Genéticos Vegetais, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: [fernandabastos.uefs@gmail.com](mailto:fernandabastos.uefs@gmail.com)

**PALAVRAS-CHAVE:** Bromélia; Cultivo *in vitro*; Picloram;

### INTRODUÇÃO

*Neoregelia mucugensis* Leme é uma erva rupícola ainda não avaliada quanto ao risco de extinção, no entanto é nativa e endêmica do Brasil, com ocorrência confirmada apenas no estado da Bahia, em vegetação de campo rupestre (FLORA DO BRASIL, 2020) e cuja exploração é exclusivamente extrativista. Desse modo, é necessário estudar a aplicação de estratégias de propagação sustentável como a cultura de tecidos vegetais.

As publicações existentes com *N. mucugensis* retratam o estabelecimento e multiplicação *in vitro* realizadas por Bellintani et al. (2007a) e Bellintani et al. (2008), respectivamente. Estes autores atestaram o uso da cultura de tecidos para micropropagação via organogênese direta desta bromélia, contudo, não há publicações que retratem a via indireta.

Dessa forma, é necessário explorar o potencial desta via para *N. mucugensis* a fim de que outros métodos possam ser aplicados na propagação *in vitro* da mesma. Portanto, o objetivo geral deste trabalho foi avaliar o potencial de formação e regeneração de calos de *Neoregelia mucugensis*.

### MATERIAL E MÉTODOS

#### Obtenção de plantas matrizes

As sementes de *N. mucugensis*, foram coletadas no Parque Municipal de Mucugê – em Mucugê-BA, e estabelecidas *in vitro*. As plântulas germinadas *in vitro* com quatro meses de idade foram utilizadas como explantes.

#### Estímulo de picloram em explantes caulinares

Segmentos caulinares com 0,5 cm foram inseridos em tubos de ensaio contendo meio MS com metade das concentrações salinas (MS<sup>1/2</sup>), 30 g L<sup>-1</sup> de sacarose, 7 g L<sup>-1</sup> de ágar e acrescidos de diferentes concentrações de picloram (0; 10; 15; 20 e 25 µM). O delineamento foi inteiramente casualizado com 20 unidades experimentais por tratamento.

#### Estímulo de picloram e glutamina em explantes caulinares e foliares

Para os explantes caulinares foi utilizado 15 µM de picloram, já para os explantes foliares a concentração foi de 12,96 µM (LIMA, 2020). Em ambos os explantes, o picloram foi associado a diferentes concentrações de glutamina (0; 50; 100; 150 e 200 mg). O delineamento foi inteiramente casualizado com 20 unidades

experimentais por tratamento. Decorridos 60 dias da montagem dos experimentos foram avaliados a porcentagem de explantes com calos, massa fresca dos calos, porcentagem de calos com estruturas globulares, coloração e textura dos calos.

### **Potencial regenerativo dos calos oriundos de explantes foliares de *Neoregelia mucugensis***

Os calos, obtidos do melhor tratamento do experimento anterior, foram transferidos para meio de cultura MS com metade das concentrações salinas ( $MS\frac{1}{2}$ ), 30 g L<sup>-1</sup> de sacarose, 7 g L<sup>-1</sup> de ágar e diferentes concentrações de BAP (0,0; 1,0; 1,5; 2,0 e 2,5 µM). O delineamento foi inteiramente casualizado com 20 unidades experimentais por tratamento. Após 60 dias foram avaliadas a porcentagem de explantes responsivos a formação de brotos, número de brotos por calo, e coloração e textura dos calos.

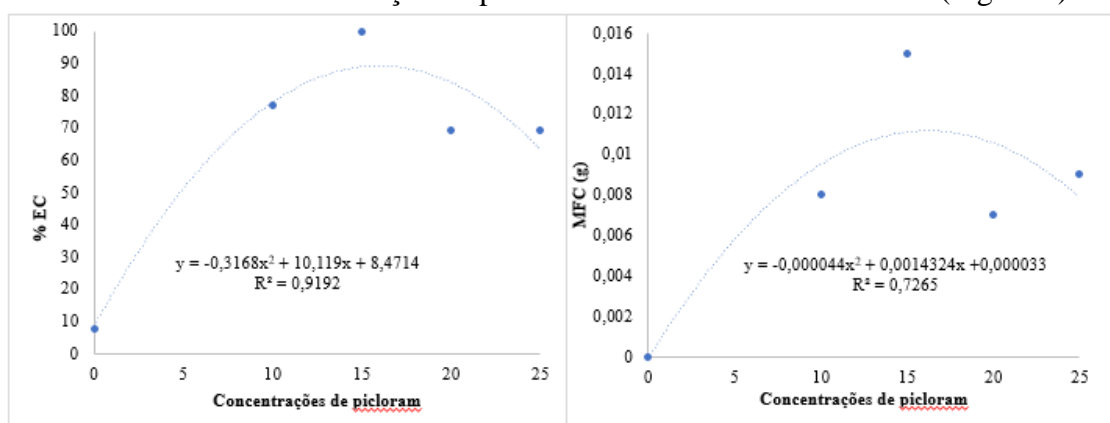
### **Condições de cultivo *in vitro* e análise estatística**

As amostras foram mantidas em sala de crescimento sob temperatura de 25°C ± 1, em ausência de luminosidade para os experimentos de indução de calos, e sob luz fluorescente branca com fotoperíodo de 14h para o experimento do potencial regenerativo. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) utilizando o programa estatístico SISVAR 5.6 (FERREIRA, 2019) e as médias comparadas pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade.

## **RESULTADOS**

Em geral, após 60 dias de cultivo *in vitro* foi observada a presença de calos com textura mista, ou seja, calos compactos e calos friáveis, com coloração amarelo-claro, principalmente na presença do picloram. A análise de variância demonstrou efeito significativo das concentrações de picloram ( $p \leq 0,05$ ) para as variáveis porcentagem de explantes com calos (%EC), massa fresca dos calos (MFC) e porcentagem de explantes com estruturas globulares (%CEG).

Para a variável % EC a análise regressão apresentou o modelo polinomial quadrático como o mais representativo, com a formação de calos em 100% dos explantes caulinares na concentração de 15 µM de picloram (Figura 1). Com relação à MFC a análise de regressão apresentou modelo polinomial quadrático como o mais adequado, indicando que a adição do picloram ao meio de cultura promoveu o aumento da massa fresca dos calos atingindo 0,015g na concentração 15 µM, desse valor em diante o aumento da concentração de picloram reduziu a massa dos calos (Figura 2).

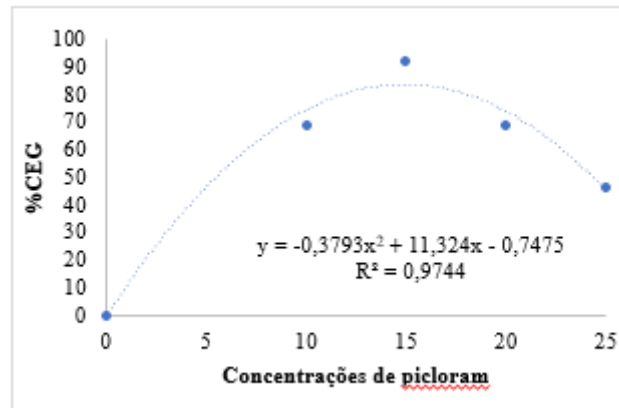


**Figura 1.** Efeito de diferentes concentrações de picloram na porcentagem de explantes com calos (%EC), em explantes caulinares de *Neoregelia mucugensis* após 60 dias de cultivo *in vitro*. \*Significativo a 5% de

**Figura 2.** Efeito de diferentes concentrações de picloram na massa fresca dos calos (MFC), em explantes caulinares de *Neoregelia mucugensis* após 60 dias de cultivo *in vitro*. \*Significativo a 5% de

Para a %CEG as concentrações testadas de picloram indicaram o modelo de regressão polinomial quadrático como o mais apropriado, demonstrando o aumento das estruturas globulares à medida em que as concentrações de picloram foram elevadas,

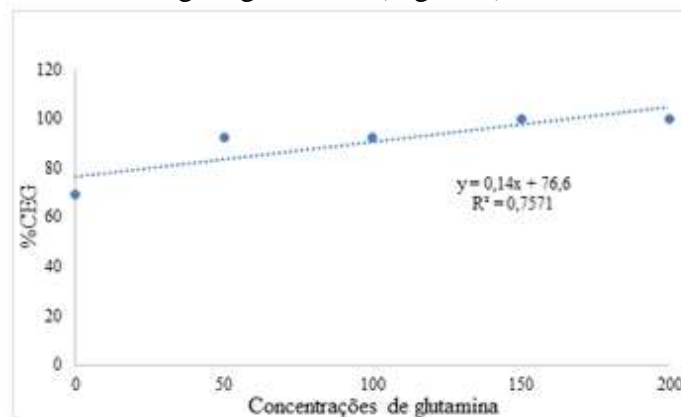
atingindo 92,30% na concentração de 15  $\mu$ M, a partir desse ponto o incremento do picloram ao meio de cultura reduziu a presença dessas estruturas (Figura 3).



**Figura 3.** Efeito de diferentes concentrações de picloram na porcentagem de calos com estruturas globulares (%CEG), em explantes caulinares de *Neoregelia mucugensis* após 60 dias de cultivo *in vitro*. \*Significativo a 5% de probabilidade.

Em relação ao uso do picloram em associação com a glutamina em explantes caulinares de *Neoregelia mucugensis* a análise de variância demonstrou efeito significativo ( $p \leq 0,05$ ) apenas para a variável porcentagem de calos com estruturas globulares (%CEG). Após 60 dias de cultivo foi observado o surgimento de calos de coloração amarela, com textura compacta e friável, além da presença de calos com estruturas globulares, principalmente na presença de glutamina.

Para a variável %CEG a análise de regressão apresentou o modelo linear crescente como o mais adequado indicando que com a elevação das concentrações de glutamina houve o aumento de calos com estruturas globulares atingindo 100% nas concentrações de 150 e 200 mg de glutamina (Figura 4).



**Figura 4.** Efeito de diferentes concentrações de glutamina na porcentagem de calos com estruturas globulares (%CEG), em explantes caulinares de *Neoregelia mucugensis* após 60 dias de cultivo *in vitro*. \*Significativo a

No que se refere a indução de calos em explantes foliares de *N. mucugensis* com o uso do picloram em associação com a glutamina a análise de variância indicou efeito significativo ( $p \leq 0,05$ ) apenas para a variável massa fresca dos calos (MFC). Decorrido 60 dias de cultivo foram observadas a presença de calos friáveis e com coloração amarelo-claro, com estruturas globulares em todos os tratamentos testados. As variáveis

%EC e %CEG nas concentrações de glutamina testadas não apresentaram diferença estatística entre si (Tabela 1).

**Tabela 1.** Porcentagem de explantes com calos (%EC), massa fresca dos calos (MFC) e porcentagem de calos com estruturas globulares (%CEG) em função das concentrações de glutamina em explantes foliares de *Neoregelia mucugensis*, após 60 dias de cultivo *in vitro*.

| Glutamina (mg) | %EC   | MFC (g)  | %CEG |
|----------------|-------|----------|------|
| 0              | 90 a  | 0,025 b  | 60 a |
| 50             | 100 a | 0,050 b  | 80 a |
| 100            | 80 a  | 0,031 ab | 80 a |
| 150            | 90 a  | 0,041 ab | 80 a |
| 200            | 100 a | 0,069 a  | 90 a |

Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

Já para a MFC a concentração de 200 mg de glutamina teve 0,069g de calos, que foi estatisticamente superior ao controle e a concentração de 50mg com 0,08g e 0,24g de calos respectivamente.

Com relação ao potencial regenerativo dos calos em explantes foliares não ocasionou a formação de brotos, apenas a presença de algumas áreas verdes nas concentrações (1,0;1,5;2,0  $\mu$ M) de BAP. De modo geral, após 60 dias os explantes apresentaram coloração marrom caracterizada pela oxidação.

## CONCLUSÃO

A concentração de 15  $\mu$ M de picloram é indicada para indução de calos em explantes caulinares de *Neoregelia mucugensis*.

A concentração de 15  $\mu$ M de picloram associada à 150 mg glutamina é indicada para indução de calos com estruturas globulares em explantes caulinares de *Neoregelia mucugensis*.

A concentração de 15  $\mu$ M de picloram associada à 200  $\mu$ M glutamina é indicada para indução de calos em explantes foliares de *Neoregelia mucugensis*.

As concentrações testadas de BAP não promovem a regeneração dos calos em explantes foliares de *Neoregelia mucugensis*.

## REFERÊNCIAS

- BELLINTANI, M. C. et al. Estabelecimento *in vitro* de *Orthophytum mucugense* e *Neoregelia mucugensis*, bromélias endêmicas da Chapada Diamantina, Bahia - Brasil. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 5, supl. 2, p. 1101-1103, jul. 2007.
- BELLINTANI, M.C. et al. Resposta regenerativa *in vitro* de explantes caulinares de bromélias endêmicas da Chapada Diamantina– Bahia. **Magistra**, v.20, n.4, p.328-337, 2008.
- FLORA DO BRASIL. **Bromeliaceae in Flora do Brasil 2020 em construção**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB66>.