



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 SEMIC - 2023

EFEITO DO ESTRESSE SALINO NO CULTIVO *in vitro* DE *Neoregelia mucugensis*, BROMÉLIA ENDÊMICA DA CHAPADA DIAMANTINA

Vitoria de Jesus Oliveira¹; Alone Lima-Brito²

1. Bolsista PIBIC/CNPq, Graduando em Licenciatura em Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: vitoria.residenciap@gmail.com
2. Orientadora, Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: alone@uefs.br

PALAVRAS-CHAVE: ornamentais, NaCl, morfogênese.

INTRODUÇÃO

A bromélia *Neoregelia mucugensis* Leme é uma espécie endêmica da Chapada Diamantina com potencial de utilização comercial e exploração exclusivamente extrativista. Estudos realizados por Bellintani *et al.* (2007) e Lima *et al.* (2021) demonstraram o potencial da cultura de tecidos para propagação e conservação *ex situ* da espécie, no entanto os resultados obtidos ainda são preliminares sendo necessário a realização de novas pesquisas para o estabelecimento de um protocolo de aplicação comercial bem como para a compreensão da fisiologia da espécie.

A utilização do estresse como indutor da regeneração de brotos *in vitro* tem sido relatado na literatura para plantas ornamentais da Chapada Diamantina (Lima *et al.*, 2021; Bastos *et al.*, 2020; Borges *et al.*, 2023) pela utilização de agentes osmóticos no meio de cultura como uma estratégia de baixo custo quando comparada ao uso convencional de reguladores vegetais. Entre os agentes osmóticos testados na modulação da multiplicação *in vitro* está o cloreto de sódio (NaCl), que limita a disponibilidade de água e nutrientes para a planta em decorrência da redução do potencial hídrico do meio (Alves *et al.*, 2011). Além disso o NaCl tem sido utilizado em estudos *in vitro* sobre as respostas das plantas a estresse hídrico e salino com o propósito de identificar genótipos resistentes para aplicação no melhoramento genético vegetal.

O objetivo deste trabalho foi testar o efeito do cloreto de sódio na germinação, cultivo e indução de brotações de *Neoregelia mucugensis*.

MATERIAL E MÉTODOS

As sementes de *Neoregelia mucugensis* foram coletadas no Parque Municipal de Mucugê – Mucugê-BA, Chapada Diamantina (12° 59' 47" Sul, 41° 22' 11" Oeste). No laboratório, foram lavadas em água corrente por 10 minutos e submersas em álcool a 70% por 1 minuto e em NaOH 3% por 10 minutos com adição de três gotas de detergente neutro (Bellintani *et al.* 2007), e em sequência, lavadas 4 vezes em água destilada esterilizada.

Experimento I: Efeito do NaCl na germinação

As sementes foram inseridas em tubos de ensaio (25 x 150 mm) contendo 15 ml de meio de cultura MS (Murashige & Skoog, 1962) com metade da concentração salina (MS ½) suplementado com 15 g L⁻¹ de sacarose, 7 g L⁻¹ de ágar e diferentes concentrações de Cloreto de Sódio - NaCl (T0-0; T1-50; T2-75; T3-100; T4-125 mM). O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, sendo

cinco tratamentos com cinco repetições de quatro amostras (sementes). Após 30 dias da montagem do experimento foi avaliado a porcentagem de sementes germinadas (%G).

Experimentos II: Efeito do NaCl no cultivo *in vitro* e indução de brotações

Plantas inteiras de *N. mucugensis* germinadas *in vitro* com três meses de idade foram inseridos em tubos de ensaio contendo meio de cultura MS ½, suplementado com 15 g L⁻¹ de sacarose, 7 g L⁻¹ de ágar e diferentes concentrações de NaCl (T0-0; T1-50; T2-75; T3-100; T4-125 mM). O delineamento experimental foi o DIC, sendo utilizados cinco repetições com quatro amostras, totalizando 20 unidades por tratamento. Após 90 dias da montagem dos experimentos foram avaliados as seguintes variáveis: porcentagem de sobrevivência das plantas (%S), massa fresca (MFPA) e seca da parte aérea (MSPA), comprimento da maior folha (MF) e da maior raiz (CR), número de folhas verdes (FV) e senescentes (FS) e de raízes (NR), porcentagem de explantes responsivos a formação de brotos (%ER) e números de brotos por explante (NB).

Os dados foram submetidos à análise de variância e ao teste de Tukey a 5% de probabilidade utilizando o programa SISVAR 5.6 (Ferreira, 2019). Os dados em porcentagem foram transformados em arc sen $\sqrt{x/100}$.

Condições de cultivo *in vitro*: O pH do meio de cultura foi ajustado para 5,8 e a esterilização foi realizada em autoclave a 121°C por 15 min. Os experimentos foram mantidas em sala de crescimento sob temperatura de 25°C ± 1, sob luz fluorescente branca com fotoperíodo de 14h.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Efeito de NaCl na germinação *in vitro* e crescimento inicial

A espécie *Neoregelia mucugensis* apresentou alta taxa germinativa no controle corroborando Bellintani *et al.* (2007) que relataram 93 a 95% de germinação *in vitro* para a mesma espécie. A alta taxa germinativa (%G) se manteve nos tratamentos suplementados com NaCl, com exceção da maior concentração utilizada (125 mM) que reduziu em 50% a germinação em relação ao controle e diferiu significativamente dos demais tratamentos (Tabela 1). Esses resultados estão relacionados a redução do potencial hídrico do meio decorrente do aumento de solutos visto que a disponibilidade de água é essencial para a embebição, primeira fase da germinação. Por outro lado, a manutenção da taxa germinativa nas sementes exposta a concentrações salinas baixas ou intermediárias demonstram a capacidade de ajustamento osmótico das sementes desta espécie.

Tabela 1. Média de porcentagem de germinação *in vitro* de *Neoregelia mucugensis* em função das concentrações de Cloreto de sódio (NaCl), após 30 dias da semeadura.

NaCl (mM)	0	50	75	100	125
% G	90	70	85	80	45

Em geral, após 90 dias de cultivo, as plantas de *N. mucugensis* mantiveram-se vistosas e com padrão de coloração verde apresentando 100% de sobrevivência em todos os tratamentos (Figura 1), o que reflete a tolerância dessa espécie ao estresse salino.

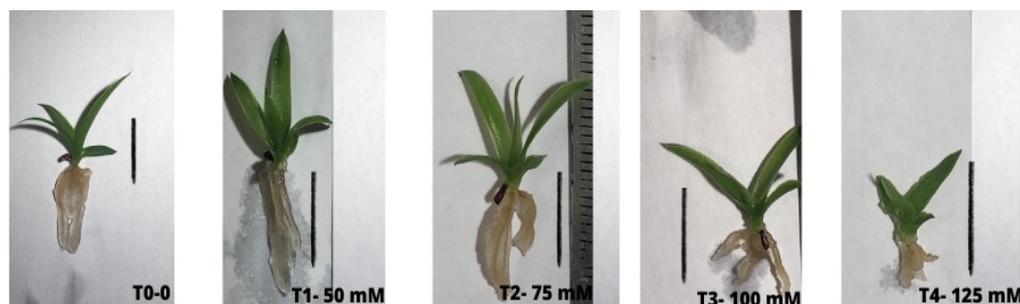


Figura 1. Efeito de diferentes concentrações de NaCl no cultivo *in vitro* de *Neoregelia mucugensis* por 90 dias.

A alta taxa de sobrevivência das plantas submetida ao estresse salino pode ser atribuída a adaptação da espécie ao local de ocorrência natural, os campos rupestres, caracterizados pela presença de substrato raso, suscetível a períodos de seca recorrentes e altas concentrações salinas (Conceição et al., 2007; Fernandes, 2016).

A presença de brotos em resposta ao estresse foi observada em todas as concentrações testadas (Figura 2), no entanto as médias obtidas para as variáveis %EB e NB foram baixas e não diferiram do controle. As médias para %EB variou entre 0 e 15% e para NB, entre 0,05 a 0,30, indicando que o estresse salino não é uma estratégia eficiente para a indução de brotos de *N. mucugensi*.



Figura 2. Efeito do NaCl na indução de brotos *Neoregelia mucugensis* após 90 dias de cultivo *in vitro*. T1- 50 mM, T2- 75 mM e T3- 100 mM.

As médias obtidas para as variáveis MF, MFPR e MR diferiram entre o controle e a maior concentração utilizada, em que foram observadas os menores valores; não houve diferença significativa entre o controle e as demais concentrações de NaCl testadas (Tabela 2). Estes resultados ratificam que esta bromélia possui tolerância ao estresse salino, o que é confirmado pela ausência de diferenças significativas para as demais variáveis analisadas e pela aparência das plantas que se mantiveram vistosas apresentando folhas com coloração verde-escuro e poucas folhas senescente (Figura 3).

Tabela 2. Médias para massa fresca da parte aérea (MFPA), massa seca da parte aérea (MSPA), maior folha (MF), número de folhas verdes (FV) e folhas senescentes (FS), massa fresca da raiz (MFPR), massa seca da raiz (MSPR), número de raízes (NR), comprimento da maior raiz (MR), explantes responsivos a formação de brotos (%ER) e número de brotos (NB) de *Neoregelia mucugensis* cultivada *in vitro* em diferentes concentrações de NaCl por 90 dias.

NaCl (mM)	MFPA	MSPA	MF	FV	FS	MFPR	MSPR	NR	MR	%ER	NB
0	0,17 a	0,13 a	1,65 a	7,70 a	0,10 a	0,25 a	0,02 a	5,0 a	1,25 a	0,00 a	0,00 a
50	0,22 a	0,13 a	1,71 a	8,40 a	0,05 a	0,14 ab	0,01 a	4,5 a	1,09 ab	0,15 a	0,30 a
75	0,20 a	0,15 a	1,34 ab	7,80 a	0,20 a	0,13 ab	0,03 a	6,0 a	0,83 ab	0,05 a	0,05 a
100	0,21 a	0,17 a	1,22 ab	7,85 a	0,30a	0,12 ab	0,01 a	6,8 a	0,85 ab	0,15 a	0,15a
125	0,23 a	0,18 a	1,03 b	8,40 a	0,30 a	0,09 b	0,01 a	6,2 a	0,63 b	0,10 a	0,10 a

Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey (5%)

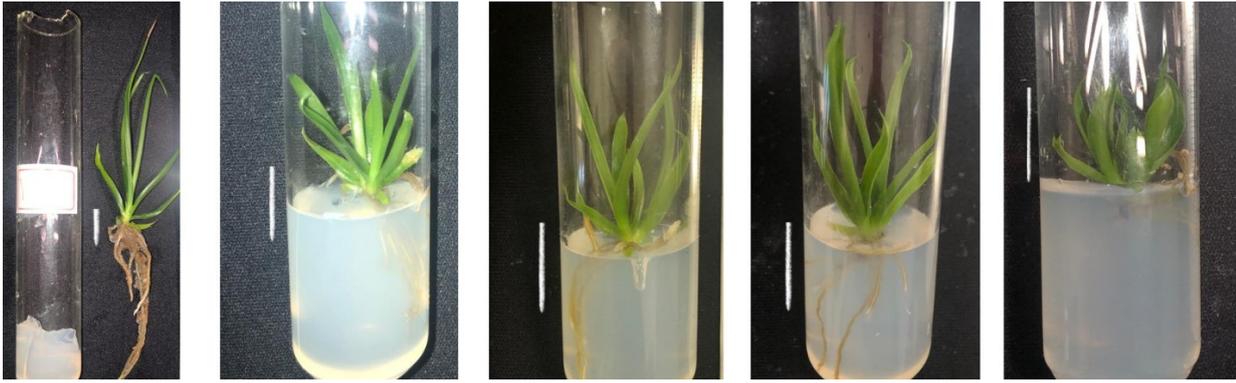


Figura 3. Efeito do NaCl na cultivo *in vitro* de *Neoregelia mucugensis* aos 90 dias. T0 -0,0; T1- 50; T2- 75, T3- 100; T4- 125 Mm.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A espécie *Neoregelia mucugensis* é tolerante ao estresse salino e suas sementes possuem uma alta capacidade de ajustamento osmótico para a germinação em condição de deficit hídrico. Embora a indução do estresse *in vitro* não seja indicado como estratégia para a sua multiplicação em escala comercial, a cultura de tecidos deve ser considerada para estudos de resistência ao estresse visando o melhoramento genético e a conservação da espécie.

REFERÊNCIAS

- BASTOS *et al.* 2020. Estresse como indutor da multiplicação *in vitro* de *Comanthera mucugensis*. In: XXIV SEMINÁRIO DE Iniciação Científica da UEFS. Semana Nacional da Ciência e Tecnologia.
- BELLINTANI, M.C. *et al.* 2007. Estabelecimento *in vitro* de *Orthophytum mucugense* e *Neoregelia mucugensis*, bromélias endêmicas da Chapada Diamantina, Bahia-Brasil. *Revista Brasileira de Biociências* 5(s2):1101-1103.
- BORGES *et al.* 2023. Role of water stress as a stimulus for in vitro multiplication and its effects on biochemical response in *Vellozia* species. *Ciência e Agrotecnologia*, 47:e003923, 2023
- CONCEIÇÃO, A. A. *et al.* 2016. Rupestrian grassland vegetation, diversity, and origin. In: FERNANDES, G.W. *Ecology and conservation of mountaintop grasslands in Brazil*. Gewerbestrasse, Switzerland: Springer International Publishing 1:3-14,
- FERNANDES, G.W. 2016. The Megadiverse Rupestrian Grassland. In. FERNANDES, G.W. *Ecology and Conservation of Mountaintop Grasslands in Brazil*, Gewerbestrasse, Switzerland: Springer International Publishing 1:3-14
- FERREIRA, F.D. 2011 Sisvar: a computer statistical analysis system. *Ciência e Agrotecnologia*, 35:1039-1042.
- LIMA, A.P.P.S. *et al.* 2021. Modulação do meio de cultura na conservação *ex situ* de *Neoregelia mucugensis* Leme (Bromeliaceae). *Revista Caatinga*, 34(4), 763-771.
- MURASHIGE T.; SKOOG, F.A. 1962. Revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiology Plant*, 15(3): 473-497.