



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

XXIV SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UEFS SEMANA NACIONAL DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA - 2020

ESTABELECIMENTO E MULTIPLICAÇÃO *INVITRO* DE *VELLOZIA JOLYI*

Verônica Santos de Andrade¹; Bárbara Paula dos Santos Borges²; Alone Lima-Brito³

1. Bolsista PIBIC/CNPq, Graduanda em Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: veronica.santosfsa@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: Plantas ornamentais; Estresse hídrico; Velloziaceae.

INTRODUÇÃO

Vellozia jolyi é uma herbácea endêmica da porção média da Cadeia da Serra do Espinhaço com alto potencial ornamental devido a beleza de suas flores (Neves, 2009; Silva, 2013). Na literatura não há estudo de propagação para a *V. jolyi*, sendo observados apenas trabalhos na área de fenologia e polinização (Neves, 2009).

Nesse sentido, a micropropagação surge como alternativa para a propagação da espécie. Esta técnica abrange pelo menos quatro fases: estabelecimento, multiplicação, enraizamento e aclimatização. Na etapa de estabelecimento ocorre a seleção e desinfestação do explante, e a determinação da concentração nutritiva do meio de cultura; sendo alicerce para a fase seguinte, a multiplicação que tem como principal objetivo a produção de grande número de plantas em período e espaço reduzidos (Grattapaglia; Machado, 1998). Em geral, para a indução de brotos *in vitro* utilizam-se os reguladores vegetais citocininas e auxinas; no entanto estudos vêm explorando o estresse como estímulo para a propagação por meio da suplementação do meio de cultura com agentes estressores, como o polietilenoglicol (PEG), o manitol e o sorbitol que reduzem o potencial hídrico do meio (Rai et al., 2011).

Esse trabalho teve como objetivo estabelecer e multiplicar *Vellozia jolyi in vitro* avaliando o estresse hídrico como estímulo a propagação da espécie.

MATERIAL E MÉTODOS

1.0 Estabelecimento *in vitro* de *Vellozia jolyi*

1.1 Coleta

As sementes de *Vellozia jolyi* foram coletadas no Projeto Sempre Viva em Mucugê, BA Chapada Diamantina (12° 59.466" W 041° 20.242"), retiradas das cápsulas e armazenadas em sacos de papel na geladeira com temperatura de 6 a 10 °C.

1.2 Condições de cultivo

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais da Universidade Estadual de Feira de Santana. As culturas *in vitro* foram

mantidas em sala de crescimento sob temperatura de $25\pm 3^{\circ}\text{C}$ e fotoperíodo de 16h, com radiação fotossintética de $60\ \mu\text{mol m}^{-2}\ \text{s}^{-1}$.

1.3 Desinfestação das sementes

As sementes foram lavadas com água e detergente para a retirada da sujeira superficial. Em câmara de inoculação, foram desinfestadas com álcool 70% por 1 minuto e hipoclorito de sódio com 2 gotas de detergente por 10 minutos, sendo posteriormente lavadas com água destilada estéril (3 vezes) (Borges, 2015).

1.4 Influência do meio de cultura na germinação e crescimento inicial de *Vellozia jolyi*

As sementes foram cultivadas em diferentes concentrações do meio de cultura MS (Murashige; Skoog, 1962) (MS/2 e MS/3) e sacarose (7,5; 15; 30 g.L^{-1}). O meio solidificado com 7,0 g.L^{-1} de ágar e pH ajustado para 5,7 foi autoclavado à temperatura de 121°C por 15 minutos. Os tratamentos foram compostos por 6 repetições de 5 tubos em delineamento experimental inteiramente casualizado com arranjo fatorial 2×3 (duas concentrações de meios e três concentrações de sacarose).

2.0 Multiplicação *in vitro* de *Vellozia jolyi* em resposta ao estresse hídrico

2.1 Efeito da sacarose, manitol e sorbitol na multiplicação *in vitro*

Plantas germinadas *in vitro* com 3 meses de idade foram inoculadas em meio de cultura MS/2, suplementado com diferentes concentrações de sacarose (7,5; 15,0 g.L^{-1}), combinadas com manitol ou sorbitol (0,0; 3,9; 7,8 g.L^{-1}). O meio solidificado com 7,0 g.L^{-1} de ágar e pH ajustado para 5,7 foi autoclavado à temperatura de 121°C por 15 minutos. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado com arranjo fatorial de 2×3 (duas concentrações de sacarose e três de manitol ou sorbitol), sendo 8 tratamentos com 8 repetições de 2 tubos.

2.2 Influência do polietilenoglicol na multiplicação *in vitro*

Plantas germinadas *in vitro* com 3 meses de idade foram inoculadas em meio MS/2, suplementado com diferentes concentrações de polietilenoglicol (PEG)(0,0; 15; 30; 45 g.L^{-1}). O meio foi solidificado com 7,0 g.L^{-1} de ágar e pH ajustado para 5,7 foi autoclavado à temperatura de 121°C por 15 minutos. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, compostos por 8 repetições de 3 tubos cada.

2.3 Variáveis analisadas

A germinação, constatada pela protusão da radícula, foi avaliada diariamente durante 20 dias, sendo contabilizada a porcentagem total de germinação (%G). Aos 120 dias foram mensurados o número de folhas (NF), % de microplanta com raiz (%MR), comprimento da parte aérea (CPA), matéria seca da parte aérea (MSPA) e matéria seca da raiz (MSR) das plantas. Os experimentos de multiplicação foram avaliados aos 60 dias de montagem, sendo contabilizados a porcentagem de microplanta responsiva (%MR), o número de brotos (NB) e o comprimento do maior broto (CMB).

2.4 Análise estatística

Os dados foram analisados de acordo com a análise de variância (ANOVA) comparando as médias através do teste de Tukey a 5% de probabilidade com o programa estatístico SISVAR, v 5,3 (Ferreira, 2011).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

1.0 Estabelecimento *in vitro*

A germinação de *Velloziajolyi* foi heterogenea com início no 3º dia e seus maiores picos foram observados no 4º, 7º e 10º dias. Os dados observados são similares aos de Silva (2013) que trabalhando com algumas espécies de *Vellozia* em câmara de germinação observou picos de germinação no 3º, 5º e 10º dias. A porcentagem de germinação de *Vellozia jolyi* não diferiu entre as fontes de variações testadas, em geral a espécie apresentou alta taxa germinativa (76,66 %).

A análise de variância mostrou influência da interação meio e sacarose ($p < 0,05$) para as variáveis número de folhas (NF), comprimento da parte aérea (CPA) e porcentagem de enraizamento (%R). As maiores médias para CPA e NF foram obtidas no meio MS/2 contendo 15g de sacarose (Tabela 1).

Tabela 1– Comprimento da parte aérea (CPA) e número de folhas (NF) de *Vellozia jolyi* sob diferentes concentrações de meio de cultura e de sacarose por 120 dias de cultivo.

Sacarose (g.L ⁻¹)	MS/2	MS/3
CPA (mm)		
7,5	6,72aAB	6,43aA
15	8,59aA	3,04 bAB
30	4,49aB	2,71aB
NF		
7,5	6,96aAB	6,46aA
15	7,83aA	2,50bB
30	4,93aB	3,63aB

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

A fonte de variação meio foi altamente significativa ($p < 0,01$) para as variáveis matéria seca da parte aérea (MSPA) e matéria seca da raiz (MR), com as maiores médias obtidas no meio MS/2. (Figura 1A, B). Esses dados provavelmente estão relacionados com a maior disponibilidade de nutrientes no meio de cultura MS/2 permitindo melhor desenvolvimento e crescimento da planta, pois a matéria seca mostra o real crescimento da espécie, representando a construção do esqueleto de carbono que constitui a planta. Dados que destacam a importância da seleção do meio de cultura e de seus constituintes para a garantia de um melhor resultado, desde que as concentrações atinjam as especificidades de cada espécie (Faria et al., 2002).

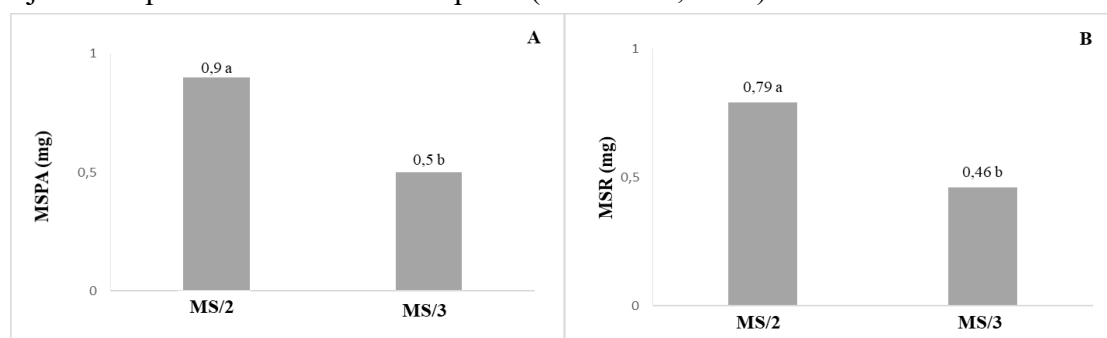


Figura 1 –Matéria seca da parte aérea –MSPA (A) e matéria seca da raiz – MSR (B) de *Vellozia jolyi* em função de diferentes concentrações de meio de cultura, aos 120 dias de cultivo. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

A influência da quantidade de sacarose e meio de cultura no crescimento inicial de *V. jolyi* corroboram Sasamori et al. (2016) que estudou diferentes concentrações de

macronutrientes e micronutrientes no desenvolvimento *in vitro* de *Vellozia incurvata* Gaudich (Bromeliaceae).

2.0 Multiplicação *in vitro*

2.1 Efeito da sacarose, manitol e sorbitol na multiplicação *in vitro* de *Vellozia*

Todas as variáveis analisadas foram influenciadas pelas fontes de carboidratos testadas. As maiores médias para NB (1,68), %MR (43,75%), e CMB (3,43) foram obtidas na combinação de sacarose com manitol, 30g e 7,8g, respectivamente. Esses resultados provavelmente estão relacionados a disponibilidade de carbono no meio proporcionado pela maior concentração de sacarose e a ação do manitol na redução do potencial hídrico do meio e consequente indução dos brotos em resposta ao estresse.

2.2 Influência do estresse hídrico com polietilenoglicol na multiplicação *in vitro* de *Vellozia*

A fonte de variação polietilenoglicol(PEG) não influenciou nenhuma das variáveis avaliadas.

CONCLUSÃO

Vellozia jolyi apresenta alta taxa germinativa *in vitro*. Sugere-se o meio de cultura MS/2 suplementado com 15g de sacarose para o desenvolvimento inicial das plantas.

A adição de sacarose (30g) e manitol (7,8g) ao meio de cultura MS/2 induz a multiplicação *in vitro* de *V. jolyi*, em resposta ao estresse osmótico.

REFERÊNCIAS

- BORGES, B. P. S. Regeneração *in vitro* de *Vellozia sincorana* Ayensu & Smith. 2015. 70 f. Dissertação (Mestrado Acadêmico em Recursos Genéticos Vegetais) - Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana, 2015.
- FARIA, R.T. et al. Preservation of the brazilian orchid *Cattleya walkeriana* Gardner using *in vitro* propagation. *Cropbreeding and applied biotechnology*, v. 2, n. 3, 2002.
- GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M.A.; Cultura de Tecidos e Transformação Genética de Plantas / editado por TORRES, C. A.; CALDAS, S. L.; BUSO, A. J., – Brasília: Embrapa-SPI / Embrapa-CNPQ, 1998, p. 208-209.
- MURASHIGE T.; SKOOG. F.A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, v.15, n.6 p. 473-479. 1962.
- NEVES, S. P. S. Fenologia, biologia floral e polinização de espécies de Velloziaceae Endl. em área de campo rupestre na Chapada Diamantina, Bahia, Brasil. 2009. Tese de Doutorado. Universidade Estadual de Feira de Santana, Bahia.
- RAI, M. K. et al. Developing stress tolerant plants through *in vitro* selection—an overview of the recent progress. *Environmental and Experimental Botany*, v. 71, n. 1, p. 89-98, 2011.
- SASAMORI, M.H. et al. Baixas concentrações de macronutrientes beneficiam a propagação *in vitro* de *Vriesea incurvata* (Bromeliaceae), uma espécie endêmica da Floresta Atlântica, Brasil. *Rodriguésia*, Rio de Janeiro, v. 67, n. 4, p. 1071-1081, 2016
- SILVA, S.A. et al. Germinação e morfoanatomia do desenvolvimento pós-seminal de espécies de *Vellozia* Vand. de campos rupestres brasileiros. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Uberlândia, programa de Pós- Graduação em Biologia Vegetal. Uberlândia – MG, 2013.