

## Desenvolvimento *in vitro* de brotos micropropagados de *Orthophytum mucugense* por organogênese direta, em diferentes fontes de carbono.

Lima, Carolina Oliveira de Cerqueira<sup>1,2\*</sup>; Santana, José Raniere Ferreira de <sup>2</sup>; Bellintani, Moema Cortizo <sup>3</sup>.

<sup>1</sup>Mestranda do Programa de Pós Graduação em Biotecnologia (UEFS) cerqueira.carolina@gmail.com; <sup>2</sup>Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais, Departamento de Ciências Biológicas Universidade Estadual de Feira de Santana. Avenida Presidente Dutra, s/n, Santa Mônica, Feira de Santana – BA, fone: (75) 3625-2300; <sup>3</sup>Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais, Instituto de Biologia, Universidade Federal de Bahia. Rua Barão de Geremoabo, s/n, Campus Universitário de Ondina, Salvador – BA, fone: (71) 3263-6544. mcbellintani@yahoo.com.br.

### INTRODUÇÃO

O Estado da Bahia, como o Nordeste de uma forma geral, possui uma flora bastante rica, com espécies pertencentes a diversas famílias com grande potencial para exploração econômica. Muitas destas inclusive já são exploradas de forma extrativista, o que vem acarretando uma perda genética significativa.

A família Bromeliaceae possui espécies com grande poder econômico no mercado alimentício e ornamental. Com cerca de 3.000 espécies constitui a maior família de plantas essencialmente americana, distribuindo-se do sul dos Estados Unidos até o Chile, com uma única exceção encontrada no Golfo da Guiné (Lema e Marigo, 1993; Kunha, 1995).

*Orthophytum mucugense* Wand. e Conceição pertencente à família Bromeliaceae destaca-se dentro do grupo de espécies de inflorescência séssil por possuir rosetas pequenas, folhas estreitas, atingindo aproximadamente 4mm de largura, presença de estolões, formando densas populações em paredões rochosos verticais, em beira de rios e cachoeiras (Wanderley e Conceição, 2006). Suas folhas de coloração verde tornam-se parcial ou completamente vermelhas, no período de floração, conferindo notável valor ornamental.

Apesar de formar densas populações e ocorrer em Unidade de Conservação, *O. mucugense* pode ser categorizada como vulnerável por ser encontrada em uma única localidade – Mucugê/BA (Wanderley e Conceição, 2006), o que salienta a importância de estudos que permitam a produção da espécie em grande escala.

A cultura de tecidos vegetais vem expandindo fronteiras nas pesquisas básicas possibilitando sua aplicação em diversas áreas, tais como melhoramento genético de plantas, farmacologia, obtenção de culturas isentas de doenças, micropropagação e conservação de germoplasma (Cid, 2001). O sucesso para uma boa produção em larga escala de plantas micropropagadas é resultado do estabelecimento de protocolos eficientes de multiplicação, desenvolvimento e de aclimatização das mudas. A condição *in vitro* é desfavorável para a realização de fotossíntese por plantas micropropagadas, sendo essas plantas praticamente heterotróficas e necessitando de fontes exógenas de carbono (Caldas; Haridasam; Ferreira, 1998).

O objetivo desse trabalho foi avaliar o efeito de diferentes fontes de carbono no desenvolvimento de brotos micropropagados via organogênese direta.

### METODOLOGIA

O experimento foi realizado no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais (LCTV) da Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS).

Foram utilizados brotos provenientes de organogênese direta, regenerados a partir de rizomas de *Orthophytum mucugense*. O meio de cultura utilizado foi o de Murashige e Skoog (1962), com metade da concentração salina (MS/2) e 7g.L<sup>-1</sup> de agar.

Utilizou-se cinco fontes de carbono na concentração de 87,64 mM: a sacarose, maltose, glicose, açúcar cristal e açúcar mascavo. O pH dos meios de cultura foi ajustado

---

\* Apoio FAPESB

para 5,8 antes da autoclavagem Os brotos foram inoculados em frasco de 250mL contendo 80 mL de meio autoclavado sob a temperatura de 120°C por 15 minutos.

Após a inoculação os frascos do experimento foram fechados com película polivinilcloreto (PVC) e mantidos em laboratório sob a temperatura de  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ , fotoperíodo de 16h de luminosidade/dia e densidade de fluxo de fótons fotossinteticamente ativos de  $40 \text{ mol. } \mu\text{m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  durante 60 dias.

O delineamento estatístico utilizado foi o inteiramente casualizado utilizando 12 repetições com cinco amostras cada. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste Tukey (0,05), utilizando o programa estatístico SISVAR v. 4.3, desenvolvido pela UFPA.

Decorridos dois meses da inoculação foram avaliados: o tamanho da parte aérea e da raiz, e o peso seco da parte aérea e da raiz.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os cinco tipos de fonte de carbono avaliados não apresentaram diferenças significativas em relação ao crescimento e ao ganho de matéria seca da parte aérea durante os 60 dias de avaliação (Tabela1).

Nos brotos desenvolvidos em meio com presença de açúcar mascavo como fonte de carbono foi observada uma diferença na coloração das folhas novas em relação as antigas. As folhas desenvolvidas após a exposição dos brotos ao meio de cultura com açúcar mascavo apresentaram coloração verde clara quando comparadas com as folhas antigas e de outros tratamentos, que apresentaram coloração verde escura (Figura 1B - F). Em bananeira também foi observada uma alteração na coloração das plantas desenvolvidas na presença de açúcar mascavo quando comparadas com plantas procedentes de meio com açúcar cristal ou sacarose (Bernardi, *et al.*, 2004).

Sacarose e açúcar cristal apresentaram o melhor resultado para a variável tamanho da raiz (Tabela 1). Na figura 1.G pode ser observado em destaque a raiz de uma broto desenvolvida em meio com sacarose. Quanto à matéria seca das raízes, não foram observadas diferenças para os tratamentos utilizados.

Tabela1. Valores médios para tamanho inicial dos brotos, tamanho final dos brotos, crescimento dos brotos (tamanho final – inicial), tamanho da raiz, matéria seca dos brotos e matéria seca das raízes de *Orthophytum mucugense* em função de diferentes fontes de carbono.

Fonte de Carbono	Tam. inicial brotos (mm)	Tam. final brotos (mm)	Crescimento brotos (mm)	Tamanho da raiz (mm)	Matéria seca brotos (g)	Matéria seca raiz (g)
Sacarose	7,65a	22,05a	14,40a	16,65a	0,03a	0,007a
Glicose	7,65a	19,03a	11,38a	8,65b	0,08a	0,004a
Maltose	7,43a	18,50a	11,07a	8,77b	0,03a	0,006a
Açúcar cristal	6,38a	21,84a	15,46a	13,83ab	0,03a	0,007a
Açúcar mascavo	6,22a	16,85a	10,63a	9,42b	0,02a	0,006a

Média seguida pela mesma letra minúscula, não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Dentro da cultura de tecidos vegetais tem se observado cada vez mais o interesse na diminuição dos altos custos apresentados a produção de muitas micropropagadas (Kozai e Kubota, 2001) O bom desenvolvimento observado nos brotos cultivados em meio com açúcar cristal permite a substituição da sacarose por essa fonte de carbono comercialmente mais acessível. No Brasil a diferença no preço entre o açúcar comercial e a sacarose é de 45 vezes e a substituição da sacarose P.A. por açúcar cristal reduz em 50,2% o custo de produção de 1L de meio de cultura (Bernardi, *et al.*, 2004).

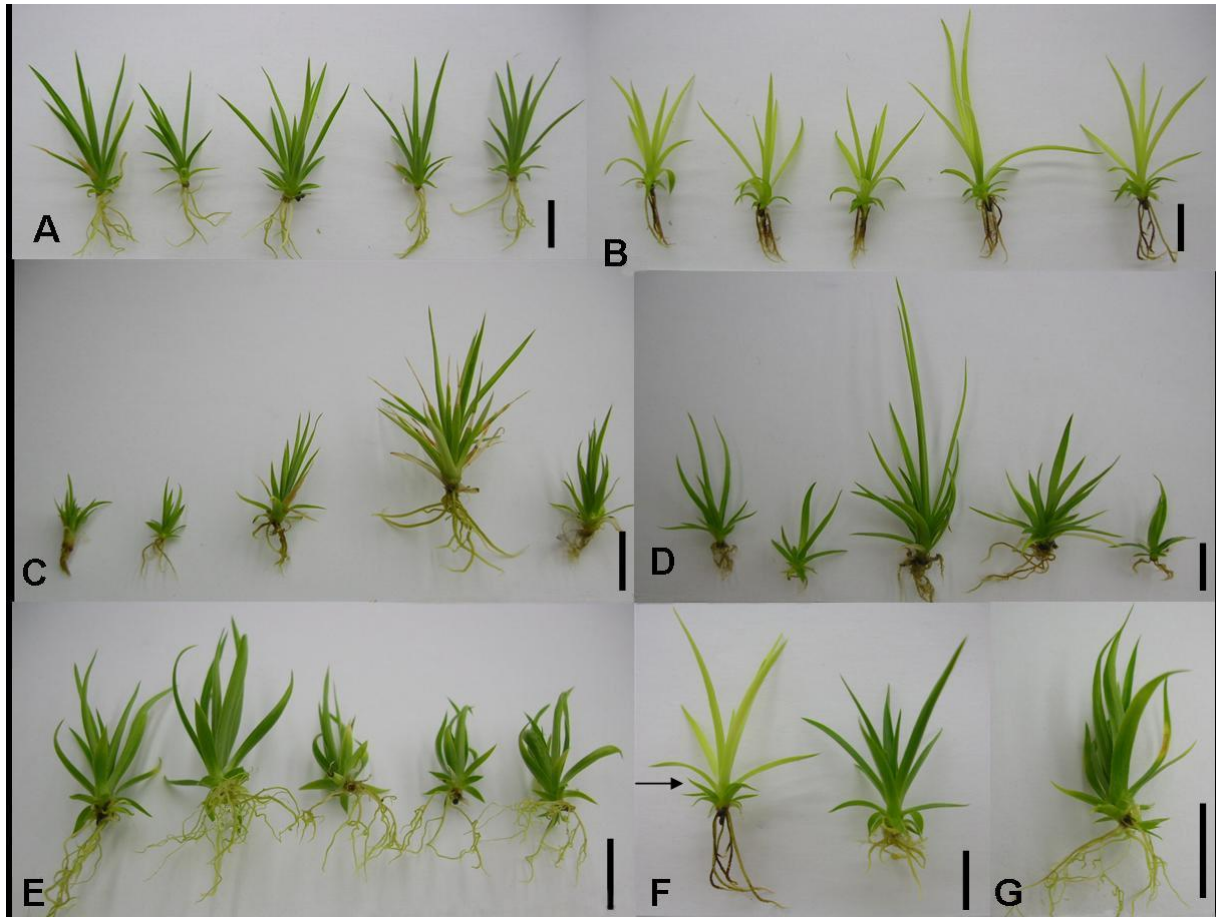


Figura 1. Brotos de *Orthophytum mucugense* desenvolvidas em meio de cultura MS/2 na presença de diferentes fontes de carbono na concentração de 87,64 mM. A - Açúcar cristal; B - Açúcar mascavo; C - Maltose; D - Glicose; E - Sacarose; F - diferença na coloração das plantas desenvolvidas em meio com açúcar mascavo; G: Destaque da raiz do meio com sacarose. As barras representam 1cm.

## CONCLUSÕES

A espécie *Orthophytum mucugense* não apresentou diferença significativa em relação ao crescimento da parte aérea em função das fontes de carbono estudadas (sacarose, maltose, glicose, açúcar cristal e mascavo). A sacarose e o açúcar cristal mostraram ser as melhores fontes de carbono para brotos micropropagados de *Orthophytum mucugense* por proporcionar o maior desenvolvimento do sistema radicular.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BERNARDI, Walter Fernando; RODRIGUES, B. I.; CASSIERE NETO, P.; ANDO, A.; TULMANN NETO, A.; CERAVOLO, L. C. & MONTES, S. M. N. M.. Low cost of micropropagation of banana cv. Maçã in media with different carbon source and evaluation of performance of shoot production in field. **Rev. Bras. Frutic.**, Jaboticabal, v. 26, n. 3, 2004.

CALDAS, L. S.; HARIDASAM, P.; FERREIRA, M. E. Meios nutritivos. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: Embrapa/SPI, 1998. v.1, p. 87-132.

CID, L. Pedro Barrueto. A Propagação *in vitro* de plantas, o que é isso? **Biotecnologia Ciências e Desenvolvimento**. Ano 3, nº 19, mar-abr., 16-21, 2001.

KOZAI, T; KUBOTA, C. Developing a photoautotrophic micropropagation system for woody plants. **Journal of Plant Research**, Tokyo, v.114, p.525-537, 2001

KUNHA, N. **América das Bromélias**. Nova ciências, 26:32-39, 1995.

LEME, E.M.C., & MARIGO, L.C., **Bromeliads in the Brazilian wilderness**. Rio de Janeiro: Marigo Comunicação visual. 183p, 1993.

WANDERLEY, Maria das Graças Lapa & CONCEIÇÃO, Abel Augusto. Notas Taxonômicas e uma nova espécie do gênero *Orthophytum* Beer (Bromeliaceae) da Chapada Diamantina, Bahia, Brasil. **Sitientibus Série Ciências Biológicas**, v. 6, n. 1, p.3-8, 2006.

PALAVRAS-CHAVE:

*Orthophytum mucugense*; Bromeliaceae; Fonte de carbono; crescimento *in vitro*.