

Anais do XIV Seminário de Iniciação Científica da Universidade Estadual de Feira de Santana, UEFS, Feira de Santana, 18 a 22 de outubro de 2010

## REDUÇÃO DE CUSTOS NA MICROPROPAGAÇÃO DE *SYNGONANTHUS MUCUGENSIS* GIUL. SUBSP. *MUCUGENSIS*

**Mara Márcia S. Albuquerque<sup>1</sup>; Bruno Freitas Matos Alvim<sup>2</sup>; Alone Lima-Brito<sup>3</sup> e José Raniere Ferreira de Santana<sup>4</sup>**

1. Estagiária voluntária, Graduando em Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: maramarcia\_uefs@yahoo.com
2. Bolsista PROBIC/CNPq, Graduando em Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: brunoalvim18@hotmail.com
3. Programa de Pós Graduação em Botânica, Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: lima\_brito@yahoo.com.br
4. Orientador, Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: raniere@uefs.br

**PALAVRAS-CHAVE:** sempre-viva; cultivo *in vitro*; ornamentais.

### INTRODUÇÃO

*Syngonanthus mucugensis* Giul. subsp. *mucugensis* é uma planta endêmica do município de Mucugê muito utilizadas no comércio de flores secas ornamentais; razão de ser apontada como uma alternativa econômica para a região da Chapada Diamantina - Bahia (Giullieti *et al.*, 1996; Parra, 2000; Ramos, 2005).

O alto grau de endemismo associado à coleta predatória tem levado essa espécie ao risco de extinção. A cultura de tecidos possibilita a produção de um grande número de plantas a partir de um único indivíduo, podendo ser utilizada como uma alternativa para a propagação dessa espécie em escala comercial, assegurando a sua conservação. De acordo com Lima-Brito (2007) a micropropagação de *S. mucugensis* subsp. *mucugensis* pode ser obtida por organogênese direta pela inoculação do caule em meio de cultura MS (Murashige & Shoog, 1962).

Apesar de já ser bastante utilizada para a produção de plantas ornamentais, o uso comercial da micropropagação é ainda limitado, especialmente pelo elevado custo dos reagentes e equipamentos utilizados, além do alto consumo de energia (Naik *et al.*, 2001; Erig *et al.*, 2004; Costa *et al.*, 2007).

Alguns polissacarídeos alternativos e mais baratos que o ágar, como o amido de milho e de mandioca, têm sido testados com bons resultados para algumas culturas (Naik *et al.*, 2001; Costa *et al.*, 2007). Como fonte de carbono alternativa, o açúcar cristal tem sido utilizado em função do menor preço quando comparado com a sacarose P.A.

Muitos trabalhos de micropropagação baseiam-se no uso de meios de cultura semi-sólidos, entretanto, a utilização de meios de cultura líquidos e com metade das concentrações salinas tem proporcionado igual ou até maior eficiência para diversas espécies vegetais (Escalona *et al.*, 1999; Feuser *et al.*, 2001), além de promover uma redução significativa no preço final das mudas micropropagadas.

Com o propósito de disponibilizar um protocolo para a micropropagação de mudas com custo reduzido, objetivou-se neste trabalho avaliar agentes gelificantes, fonte de carboidratos e consistência e concentração de sais do meio de cultura no cultivo *in vitro* de *S. mucugensis* subsp. *mucugensis*.

### MATERIAIS E MÉTODO

#### Condições de cultivo

Os experimentos foram conduzidos sob condição de crescimento de  $26 \pm 2^\circ\text{C}$ , fotoperíodo 16h e radiação fotossintética ativa de  $60 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ .

O meio de cultura utilizado em todos os experimentos foi o MS. O pH do meio foi ajustado para 5,7 antes da autoclavagem, realizada à  $121^\circ\text{C}$  por 15 minutos. A inoculação dos explantes foi feita em tubo de ensaio (150x15mm) contendo 15mL de meio de cultura.

Nos experimentos I e II, foi utilizado como fonte de explante caule seccionado transversalmente e inoculado na posição horizontal, conforme recomendado por Lima-Brito *et al.* (2007) e no terceiro experimento foram utilizadas plantas cultivadas *in vitro* com 60 dias de idade.

Anais do XIV Seminário de Iniciação Científica da Universidade Estadual de Feira de Santana, UEFS, Feira de Santana, 18 a 22 de outubro de 2010

**Experimento I – Efeito da consistência e concentração de sais do meio MS na indução de brotações**

Os explantes foram inoculados em meio de cultura com duas concentrações de sais (MS completo e MS $\frac{1}{2}$ ) e duas consistências (líquido, utilizando uma ponte de papel filtro como suporte para o explante; e semi-sólido, suplementado com 7g.L $^{-1}$  de agar). O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com arranjo fatorial 2x2. Aos 60 dias da montagem do experimento avaliou-se a porcentagem de explantes que formaram brotos, o número de brotos por explante e o comprimento dos brotos (cm).

**Experimento II – Efeito da fonte de carboidratos na micropropagação**

Os explantes foram inoculados em meio de cultura MS suplementado com 15 g.L $^{-1}$  de diferentes tipos de carboidrato: sacarose P.A., açúcar cristal e açúcar mascavo. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado. Ao final de 60 dias da montagem, foram avaliadas as seguintes variáveis: porcentagem de explantes com brotos, número de brotos por explante e a porcentagem de explantes com calo.

**Experimento III - Efeito de agentes gelificantes no crescimento de plantas *in vitro*.**

Plantas com 60 dias de cultivo *in vitro* foram transferidas para os meios de cultura com diferentes tipos de agentes gelificantes: ágar (7 g .L $^{-1}$ ) amido de milho (60 g .L $^{-1}$ ) e amido de mandioca (135 g .L $^{-1}$ ). O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado. Ao final de 60 dias foram analisadas as seguintes variáveis: % de folhas verdes, comprimento da maior raiz e comprimento da parte aérea.

Nos três experimentos, cada tratamento foi formado por dez repetições, sendo cada unidade experimental composta por quatro amostras. Os resultados foram submetidos a análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste Tukey a 5% de probabilidade, utilizando o programa SISVAR (Ferreira, 2003).

**RESULTADOS E DISCUSSÃO**

**Efeito da consistência e concentração de sais do meio MS na indução de brotações**

As médias obtidas para porcentagem de explantes com brotos e número de brotos por explantes no meio semissólido foram significativamente superiores às encontradas em meio líquido, independente da concentração de sais do meio MS (Tabela 1, Figura 1). Estes resultados corroboram os obtidos para as espécies *Watsonia gladioloides* Schltr. e *W. vanderspuyiae* L. Bolus (Aschough *et al.*, 2007). A utilização do meio líquido em agitação tem sido relatada como uma técnica eficiente para a redução da oxidação em espécies herbáceas e lenhosas, por isso sugere-se que esta técnica seja testada para a espécie estudada.

Tabela 1. Regeneração de brotos de *S. mucugensis* via organogênese direta em meio de cultura MS em duas consistências (semissólido e líquido) e duas concentrações (MS completo e MS  $\frac{1}{2}$ ).

Consistência do meio de cultura	Concentração do meio de cultura	
	MS	MS $\frac{1}{2}$
	Explantes com brotos (%)	
Semi-sólido	48 Aa	52 Aa
Líquido	20 Ba	17 Ba
	Número de brotos por explante	
Semi-sólido	33 Aa	38 Ab
Líquido	5 Aa	3 Ab
	Comprimento dos brotos (cm)	
Semi-sólido	1,2 Aa	1,1 Aa
Líquido	1,0 Aa	1,0 Aa

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula nas linhas e minúsculas nas colunas não diferem entre si pelo teste Tukey 5%.



**Figura 1.** Regeneração de plantas de *S. mucugensis* via organogênese direta. A – meio líquido com ponte de papel; B - meio semissólido.

### Efeito de fontes de carbono na multiplicação

Os resultados obtidos demonstram que a sacarose e o açúcar cristal são as melhores fontes de carbono para estimular a indução de brotações em *S. mucugensis*, diferindo significativamente do açúcar mascavo tanto na porcentagem de explantes com brotos como no número de brotos por explante (Tabela 2). As altas taxas de multiplicação e o bom aspecto dos brotos produzidos em meio com açúcar cristal indicam que essa fonte de carbono, economicamente mais viável, pode ser utilizada com sucesso na propagação *in vitro* de *S. mucugensis* subsp. *mucugensis*. De acordo com Bernardi *et al.* (2004), no Brasil a diferença de 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. O açúcar mascavo proporcionou os piores resultados, além da formação de poucos brotos, estes eram pequenos e as folhas apresentavam coloração amarelada, além da formação de calos sem a regeneração de brotos.

Tabela 2. Multiplicação de *S. mucugensis* a partir do caule inoculado em meio MS ½ suplementado com diferentes fontes de carbono.

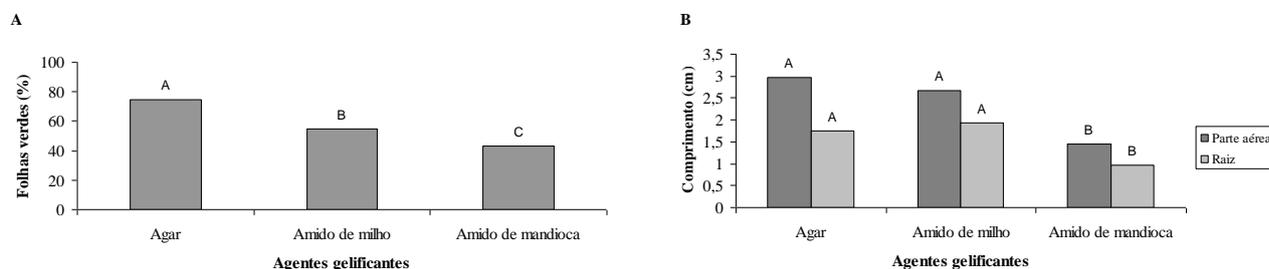
Fonte de carbono	Explantes com brotos (%)	Nº de brotos/explante	Explantes com calo (%)
Sacarose	64 A	58 A	-
Açúcar cristal	62 A	55 A	-
Açúcar mascavo	14 C	4 B	26 A

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

### Crescimento *in vitro* de *Syngonanthus mucugensis* subsp. *mucugensis*: efeito de agentes gelificantes

O amido de milho apresentou resultado intermediário para as variáveis % de folhas verdes em relação às senescentes e comprimento da parte aérea, com 55% de folhas verdes em relação às senescentes e um valor médio de 2,66cm para o comprimento da parte aérea das plantas. O amido de mandioca proporcionou os piores resultados com valores médios de 43% de folhas verdes em relação às senescentes e 1,46cm para comprimento da parte aérea, enquanto que o ágar possibilitou uma taxa de 75% para a relação folhas verdes/senescentes e uma média de 2,96cm para o comprimento da parte aérea, ao final dos 60 dias. A taxa de sobrevivência das plantas no meio com amido de mandioca foi de 70%, diferindo significativamente dos outros dois tratamentos que proporcionaram uma taxa de sobrevivência de 100%.

O amido de milho apresentou melhor consistência e capacidade de reter água quando comparado com o amido de mandioca. A dificuldade no preparo do meio foi encontrada nos dois tipos de agente gelificante alternativo, devido à alta densidade dos amidos durante o cozimento e à propriedade colante do amido de mandioca.



Anais do XIV Seminário de Iniciação Científica da Universidade Estadual de Feira de Santana, UEFS, Feira de Santana, 18 a 22 de outubro de 2010

**Figura 2.** Porcentagem de folhas verdes em relação às senescentes (A) e Comprimentos da parte aérea e raiz das plantas (B) de *Syngonanthus mucugensis* Giul. subsp. *mucugensis* após 60 dia de cultivo *in vitro*.

## CONCLUSÃO

Os resultados obtidos neste trabalho indicam que a redução de custos na micropropagação de *S. mucugensis* subsp. *mucugensis* pode ser obtida pela substituição da sacarose pelo açúcar comum, entretanto a eliminação do ágar ou sua substituição total pelos agentes gelificantes testados não foi eficiente no cultivo *in vitro* da espécie estudada.

## REFERÊNCIAS

- ASCHOUGH, Glendon D.; ERWIN, J.; STANDEN, J. *In vitro* propagation of four *Watsonia* species. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, Netherlands, v.88, p.135-145, jan. 2007.
- BERNARDI, Walter F.; RODRIGUES, Benedita I.; NETO, Paulo C.; ANDO, Akihiko; NETO, Augusto T.; CERAVOLO, Leonardo C.; MONTES, Sônia M. N. M. Micropropagação de baixo custo em bananeira cv.Maçã em meios com diferentes fontes de carbono e avaliação da performance em campo das mudas produzidas. *Rev. Bras. Frutic., Jaboticabal*, V. 26, n. 3,dez. 2004.
- COSTA, Frederico H da S.; PEREIRA, Maria A.A.; OLIVEIRA, Janiffe P.; PEREIRA, Jonny E.S. Efeito de agentes geleificantes alternativos no meio de cultura no cultivo *in vitro* de abacaxizeiro e bananeira. *Ciência e Agrotecnologia*, v.31, n. 1, p.41-46, jan./feb. 2007.
- ERIG, Alan C.; SCHUCH, Márcia W.; SILVA, Luciane C. da. Multiplicação *in vitro* de macieira (*Malus domestica* Borkh) cv. Galaxy: meio de cultura e agentes solidificantes alternativos. *Revista Brasileira de Agrociência*, v.10, n. 3, p. 297-302, jul./set. 2004.
- ESCALONA, M.; LORENZO, J. C.; GONZÁLEZ, B.; DAQUINTA, M.; GONZÁLEZ, J. L.; DESJARDINS, Y.; BORROTO, C. G. Pineapple (*Ananas comosus* L. Merr) micropropagation in temporary immersion systems. *Plant Cell Reports*. v.18, n. 9, p. 743-748, mai. 1999.
- FERREIRA, D. F. 2003. SISVAR Sistema de análises estatísticas. Versão 4.3. Lavras: UFLA.
- FEUSER, S.; NODARI, R. O.; GUERRA, M. P. 2001. Eficiência comparativa dos sistemas de cultura estacionária e imersão temporária para a micropropagação do abacaxi. *Revista Brasileira de Fruticultura, Jaboticabal*, v. 23, n.1, p. 6-10, 2001.
- GIULIETTI, A. M.; WANDERLEY, G. L.; WAGNER, H. M.; PIRANI, J. R.; PARRA, L. Estudos em sempre vivas: Taxonomia com ênfase nas espécies de Minas Gerais, Brasil. *Acta Botânica Brasílica, Porto Alegre*, v. 10, n. 2, p. 329-377, 1996.
- LIMA-BRITO, A. Micropropagação e conservação *in vitro* de *Syngonanthus mucugensis* GIUL. subsp. *mucugensis*. Tese (Doutorado), Univ. Estadual Feira de Santana, Bahia, 2009.
- MURASHIGE, T. e SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiologia Plantarum*, v. 15, p. 473-497, 1962.
- NAIK, P.S. e SARKAR, D. Sago: an alternative sheap gelling agent for potato *in vitro* culture. *Biologia Plantarum* v. 44, n.2, p.293-296. 2001.
- PARRA, L. R.. Redelimitação e revisão de *Syngonanthus* sect. *Eulepis* (Bong. Ex Koern)-Eriocaulaceae. Tese (Doutorado), Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil, 2000.
- RAMOS, C. O. C.. Fenologia e biologia reprodutiva de *Syngonanthus mucugensis* Giul. e *S. curralensis* Moldenke (Eriocaulaceae) nos municípios de Mucugê e Morro do Chapéu, Chapada

Anais do XIV Seminário de Iniciação Científica da Universidade Estadual de Feira de Santana, UEFS, Feira de Santana, 18 a 22 de outubro de 2010

Diamantina, Bahia, Brasil. Dissertação (Mestrado), Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana, Bahia, Brasil, 2005.