

# ESTABELECIMENTO *IN VITRO* DE *COMANTHERA CURRALENSIS* MOLDENKE

**Andressa Priscila Piancó Santos Lima<sup>1</sup>; Mara Márcia Sampaio Albuquerque<sup>2</sup>; Alone Lima Brito<sup>3</sup>; José Raniere Ferreira de Santana**

1. Bolsista PIBIC/CNPq, Graduanda em Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: a.pianco@hotmail.com
2. Mestranda, Programa de Pós Graduação em Recursos Genéticos Vegetais, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: maramarcia\_uefs@yahoo.com.br;
3. Bióloga do Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais da Unidade Experimental Horto Florestal. Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS), 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:** Eriocaulaceae; crescimento *in vitro*; meio de cultura.

## INTRODUÇÃO

"Sempre-vivas" são plantas da família Eriocaulaceae, cujas escapos florais e inflorescências conservam a aparência *in natura* depois de destacadas e secas; fato que lhes confere um alto valor comercial no mercado florístico (GIULIETTI et al., 1988). É principalmente nos campos rupestres, especialmente nos estados de Minas Gerais (MG), Bahia (BA) e Goiás (GO), que crescem as espécies de maior valor de revenda (GIULIETTI et al., 1996). Dentre as espécies de sempre-viva está *Comanthera curralensis* Moldenke L.R. Parra & Giul., que ocorre na Chapada Diamantina-Bahia (CERQUEIRA et al., 2008; PARRA et al., 2010). A atividade exploratória da *C. curralensis* é inteiramente baseada em extrativismo e realizada por pessoas da própria região, como meio de subsistência. Os escapos e inflorescências são coletados antes do completo desenvolvimento dos frutos, o que afeta sensivelmente a reprodução por sementes (GIULIETTI et al., 1996). Dessa forma, esta espécie está sendo extinta de seu ambiente natural, o que coloca em risco a diversidade da flora regional e a continuidade da tradicional atividade econômica da região (NUNES et al., 2008). O desenvolvimento de técnicas de cultura de tecidos vegetais tem sido uma das contribuições mais significativas para o avanço do processo de conservação e multiplicação de espécies nativas que estejam em vias de extinção, como é o caso das sempre-vivas (SOARES et al., 2007; LIMA-BRITO, 2009). Dentre as ferramentas da cultura de tecidos, tem-se observado que a micropropagação é a técnica de maior impacto e de resultados mais concretos por permitir a multiplicação de plantas em larga escala, em curto período, em pequeno espaço físico e em qualquer época do ano (SOARES et al., 2011; TEREZINHA et al., 2011). O estabelecimento *in vitro* é primeira etapa da micropropagação, (GRATTAPAGLIA & MACHADO, 1998; ASSIS et al., 2012). Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar a germinação e o crescimento inicial *in vitro* de *C. curralensis*.

## MATERIAIS E MÉTODOS

As sementes de *C. curralensis*, coletadas no entorno da cidade de Morro do Chapéu - BA foram desinfestadas em álcool 70% por 1 minuto e hipoclorito de sódio 2,5% por 10 minutos. Posteriormente, as sementes foram lavadas em água destilada autoclavada, quatro vezes, e semeadas em frascos de 250 mL contendo 60 mL de meio de cultura Murashige & Skoog (1962) completo (MS) ou com metade da concentração salina (MS ½). Os dois tipos de meio de cultura foram suplementados com 7,5; 15 ou 30 g.L<sup>-1</sup> de sacarose e gelificados com 7g.L<sup>-1</sup> de ágar. O pH do meio foi ajustado para 5,7 antes da autoclavagem a 120°C por 15 minutos. Foi utilizado o delineamento experimental inteiramente casualizado, com arranjo fatorial 2x3, (concentrações de sais do meio de cultura x concentrações de sacarose), com 10 repetições por tratamento e duas amostras por repetição. Cada amostra foi constituída de um frasco contendo 30 sementes. A avaliação da germinação foi realizada diariamente e foram consideradas germinadas as sementes que apresentaram primórdios foliares. Ao final de 63

dias foi avaliada a porcentagem de germinação e aos 90 dias após o início da germinação das sementes, foram avaliados: porcentagem de sobrevivência das plantas, coloração das folhas, número de folhas e de raízes, comprimento da maior folha e da maior raiz e matéria fresca e seca das plantas. A análise da coloração das folhas foi realizada utilizando-se uma escala de 0 a 4: 0 = pardo; 1 = amarelado; 2 = verde claro; 3 = verde e 4 = verde escuro. As culturas foram mantidas em sala de crescimento com temperatura de  $25\pm 3^{\circ}\text{C}$ , fotoperíodo de 16h e radiação fotossintética ativa de  $60 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ . Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias foram comparadas pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro, com a utilização do programa SISVAR 5.3 (FERREIRA, 2003).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A germinabilidade de *C. curralensis* foi influenciada pela interação entre os fatores concentrações de sais e concentrações de sacarose no meio de cultura ( $p \leq 0,05$ ) (Tabela 1).

**Tabela 1.** Germinabilidade (%G) de sementes de *C. curralensis*, em função das concentrações dos sais e da sacarose no meio de cultura.

Concentração dos sais	Concentração de sacarose ( $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )		
	7,5	15	30
MS $\frac{1}{2}$	66,50 A a	62,75 A a	55,75 A a
MS	23,50 B b	61,67 A a	25,25 B b

\* Médias seguidas pela mesma letra, maiúscula nas colunas e minúscula nas linhas, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

As maiores médias para essa variável corresponderam aos tratamentos com meio MS  $\frac{1}{2}$ , independentemente das concentrações de sacarose no meio. Deve-se notar que a concentração de  $15 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  manteve altos valores para a germinabilidade independentemente das concentrações salinas do meio. Já as menores médias foram obtidas com o meio MS suplementado com 7,5 e  $30 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  de sacarose. Os resultados obtidos para *C. curralensis* são semelhantes aos observados para outras espécies do mesmo gênero na natureza, que possuem taxas de germinação relativamente baixas: Simões *et al.* (2007) observaram germinabilidade de 62% em *Syngonanthus venustus* e de 25% em *S. elegans*, sob mesma temperatura ( $25^{\circ}\text{C}$ ). No crescimento inicial houve efeito significativo da interação concentrações de sais x concentrações de sacarose para as variáveis: porcentagem de sobrevivência ( $p \leq 0,01$ ), coloração ( $p \leq 0,01$ ), número de folhas ( $p \leq 0,05$ ), comprimento da maior folha ( $p \leq 0,01$ ), número de raízes ( $p \leq 0,05$ ) e comprimento da maior raiz ( $p \leq 0,05$ ) (Tabela 2). Em geral, o melhor desenvolvimento das plantas foi proporcionada pelos tratamentos com metade da concentração salina (MS  $\frac{1}{2}$ ), suplementados com as maiores concentrações de sacarose (15 e  $30 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ ). Para a variável porcentagem de sobrevivência as maiores médias foram observadas nos tratamentos com meio MS  $\frac{1}{2}$  suplementado com  $15 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  e  $30 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  de sacarose e corresponderam a 42,45% e 34,25%, respectivamente (Tabela 2). Esses tratamentos também foram significativamente superiores aos demais, para a coloração, bem como para o número de folhas e comprimento da maior folha (Tabela 2).

**Tabela 2.** Efeito dos sais do meio Murashige & Skoog (MS) e sacarose no crescimento *in vitro* de *Comanthera curralensis*, aos 90 dias de inoculação.

Concentração dos sais	Sacarose $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$		
	7,5	15	30
	% Sobrevivência		
MS $\frac{1}{2}$	24,25 A b	42,45 A a	34,25 A a

MS	8,25 B a	1,67 B b	0,00 B b
Coloração			
MS ½	2,80 A b	4,00 A a	3,90 A a
MS	2,87 A a	1,00 A b	0,00 B c
Nº de folhas			
MS ½	4,91 A a	5,37 A a	5,41 A a
MS	3,34 B a	3,00 B a	0,00 B b
Comprimento da maior folha (cm)			
MS ½	0,52 A b	0,85 A a	0,94 A a
MS	0,50 A a	0,33 B a	0,00 B b
Nº de raízes			
MS ½	0,74 A b	0,86 A b	0,74 A b
MS	0,16 A a	1,30 A a	0,16 A a
Comprimento da maior raiz (cm)			
MS ½	0,06 A b	0,08 A b	0,61 A a
MS	0,01 A a	0,10 A a	0,00 B a

A matéria fresca foi influenciada pelas concentrações de sais ( $p \leq 0,05$ ) e foi maior nas plantas submetidas ao MS ½; a matéria seca não apresentou diferenças significativas em relação a nenhum dos fatores analisados (Tabela 3).

**Tabela 3:** Matérias fresca (MF) e seca (MS) totais de plantas de *C. curralensis* cultivadas *in vitro* em função de diferentes concentrações de sais e sacarose no meio de cultura.

Concentração de sais	MF (mg)	MS (mg)
MS ½	5,6 A	0,5 A
MS	1,8 B	0,3 A

\* Médias seguidas pela mesma letra, nas colunas, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

Os resultados para matéria seca e fresca corroboram os encontrados por Pinto *et al.* (2011), que testando diferentes diluições dos sais do meio MS (2 x MS, MS, MS ½ e MS ¼), observaram que os meios com as menores concentrações de sais proporcionaram maior acúmulo de matéria fresca e seca em plantas de *Mentha arvensis*, e, por Bellintani *et al.* (2007), que também não observaram diferenças significativas no acúmulo de matéria seca, ao utilizar o meio MS completo e MS ½, no cultivo *in vitro* de *N. mucugensis*.

#### CONCLUSÃO

Sugere-se a utilização do meio de cultura MS ½ com 7,5 g.L<sup>-1</sup> de sacarose para a germinação *in vitro* das sementes de *C. curralensis*, e do MS ½ suplementado com 15 g.L<sup>-1</sup> de sacarose para o crescimento inicial da planta.

#### REFERÊNCIAS

- ASSIS, K. C. DE; PEREIRA, F. D.; CABRAL, J. S. R.; SILVA, F. G.; SILVA, J. W. & SANTOS, S. C. DOS. *In vitro* cultivation of *Anacardium othonianum* Rizz.: effects of salt concentration and culture medium volume. **Acta Scientiarum. Agronomy** Maringá, v. 34, n. 1, p. 77-83, Jan.-Mar., 2012
- BELLINTANI, M.C., LIMA, C.C., BRITO, A.L., SANTANA, J.R.F. & DORNELLES,

- A.L.C. Estabelecimento *in vitro* de *Orthopytum mucugense* e *Neoregelia mucugensis*, bromélias endêmicas da Chapada Diamantina, Bahia - Brasil. **Revista Brasileira de Biociências** 5:1101-1103, 2007.
- CERQUEIRA, C. O.; FUNCH L. S.; BORBA, E. L. Fenologia de *Syngonanthus mucugensis* Giul. subsp. *mucugensis* e *S. curralensis* Moldenke (Eriocaulaceae), nos municípios de Mucugê e Morro do Chapéu, Chapada Diamantina, BA, Brasil. **Acta bot. bras.**, v. 22, n. 4, p. 962 – 969, 2008.
- FERREIRA, D.F. SISVAR Sistema de Análises Estatísticas. Versão 4.3. Lavras: UFLA, 2003.
- GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A.C.; CALDAS, L.S.; BUSO, J.A. Cultura de tecidos e transformação genética de plantas. Brasília: Embrapa-SPI/ Embrapa-CNPq, 1998.
- GIULIETTI, N.; GIULIETTI, A. M.; PIRANI, J. R. & MENEZES, N. L. Estudos em sempre-vivas: importância econômica do extrativismo em Minas Gerais, Brasil. **Acta Botânica Brasilica**, v.1, n.2, p.179 – 193, 1988.
- GIULIETTI, A.M.; WANDERLEY, M.G.L.; LONGHI-WAGNER, H.M.; PIRANI, J.R. & PARRA, J.R. Estudos em “sempre vivas”: taxonomia com ênfase nas espécies de Minas Gerais, Brasil. **Acta Botanica Brasilica** 10: 329-384, 1996.
- HOFFMANN, A. **Enraizamento e aclimatização de mudas micropropagadas dos porta-enxertos de macieira ‘Marubakaido’ e ‘M-26’**. 1999. 1v. 240f Tese (Doutorado em Fitotecnia) – UFL, Lavras.
- LIMA-BRITO, A. Micropropagação e conservação *in vitro* de *Syngonanthus mucugensis* GIUL. subsp. *mucugensis*. 2009. Tese (Doutorado em Botânica), Universidade Estadual de Feira de Santana, Bahia.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised médium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiology Plant**, v. 15, p. 473-497, 1962.
- NUNES, U. R.; NUNES, S. C. P.; FONSECA, P. G.; PEGO, R. G. Efeito da época de colheita, irrigação e permanência de sementes em solo seco no desenvolvimento inicial de plântulas de *Syngonanthus elegans* (Bong.) Ruhland. **Revista Brasileira de Sementes**. V. 30, n. 3, p: 064-070, fev. 2008.
- PARRA, L. R. et al. Reestablishment and new circumscription of *Comanthera* (Eriocaulaceae). **Taxon**, v. 59, n. 4, p. 1135-1146, 2010.
- PINTO, J.E.D.P. et al. Crescimento *in vitro* de hortelã-japonesa em função de diferentes concentrações de sais e de número e tipo de explante. **Revista Ciência Agrárias**, Lavras, v.54, n.3, p. 267-273, 2011.
- SIMÕES, F. C. et al. Germinação de sementes de sempre-vivas (*Syngonanthus elegans* e *S. venustus*). **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, v. 13, n.1, p. 79-83, 2007.
- SOARES, F. P. et al. Organogênese direta em explantes caulinares de mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 31, n. 4, p. 1048-1053, 2007.