

13ª JORNADA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

BIOLOGIA

ESTABELECIMENTO IN VITRO DE PILOSOCEREUS ARRABIDAE (LEM.) BYLES & ROWLEY

¹ Tereza Cristina Chagas Muros (IC-UNIRIO); ¹ Aline Vieira Santos (orientadora).

1- Departamento de Botânica; Instituto de Biotecnologias; Laboratório de Cultura de Tecido Vegetal; Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro.

Apoio Financeiro: UNIRIO

Palavras-chave: Cultura in vitro, Restingas, Cactaceae, *Pilosocereus arrabidaei*.

INTRODUÇÃO

Micropropagação ou propagação vegetativa in vitro consiste na propagação clonal de um indivíduo geneticamente selecionado a partir de célula, segmento de tecido ou órgão vegetal (meristemas, ápices caulinares, segmentos nodais e embriões) cultivados in vitro, ou seja, sob condições assépticas, meio de cultura adequado e luz e temperatura controladas (Passos e Köpp, 2010; Alves et al., 2008).

A micropropagação segue uma sequência padrão proposta por Murashige (1974) apud Gattapaglia e Machado, (1990), que consiste em 3 estágios: O primeiro estágio corresponde a fase inicial e estabelecimento, o segundo a fase de multiplicação e o terceiro a fase de enraizamento, transplante e aclimatização.

Atualmente, a micropropagação tem sido muito empregada na produção em larga escala de plantas ornamentais para fins comerciais. Ela possibilita a obtenção de grande número de mudas geneticamente uniformes e livres de patógenos num período de tempo menor que os métodos convencionais e a produção pode ser mantida durante todo ano. Além de ser aplicada a plantas de difícil propagação é um método para conservação das Cactaceae (Carvalho et al., 2009; George e Debergh, 2008).

A família Cactaceae possui cerca de 170 gêneros e sua distribuição é exclusivamente restrita às Américas, com exceção do gênero *Rhipsalis* (Joly, 1998). No estado do Rio de Janeiro ocorrem 13 gêneros e 45 espécies (Calvente et al., 2005).

A propagação de cactáceas pode ser realizada através da germinação de sementes (reprodução sexuada), através de estacas de folhas, caules ou brotos via propagação vegetativa (reprodução assexuada), sendo a reprodução sexuada a principal propagação natural das cactáceas e também através da cultura de tecido in vitro (propagação in vitro) (Quiala et al., 2009; Paiva e Lessa, 2006).

Pilosocereus arrabidaei (Lem.) Byles & Rowley é uma espécie conhecida vulgarmente como mandacaru ou cardo que habita formações vegetais da costa arenosa do estado do Rio de Janeiro, Espírito Santo e sul da Bahia. São plantas arbustivas a arbóreas de 1 a 7m de altura (Freitas, 1992).

Diante das ameaças de extinção da família Cactaceae devido à destruição e a fragmentação de seus habitats, sendo a restinga o bioma mais ameaçado por causa dos desmatamentos, expansão urbana, agricultura, mineração, construção de rodovias e resorts, comércio e coleta ilegal (Zappi et al., 2011), estudos sobre propagação apresentam-se como uma alternativa para a conservação de cactáceas (Rojas-Aréchiga e Vázquez-Yanes, 2000).

OBJETIVO

Estabelecer o cultivo in vitro de *Pilosocereus arrabidaei* (Cactaceae).

METODOLOGIA

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais, no Departamento de Botânica do Instituto de Biologia da Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro (UNIRIO).

O experimento foi realizado em 3 etapas: germinação, alongamento/multiplicação e enraizamento, aclimatização das plantas.

Para germinação das sementes, as mesmas foram isoladas através da lavagem em água corrente para remoção da mucilagem dos frutos. Após o isolamento, as sementes foram postas para secar a temperatura ambiente e foram armazenadas. Para avaliar o efeito da concentração salina na germinação foram realizados 4 tratamentos em meio de cultura MS (Murashige e Skoog, 1962): MS/4, MS/2, MS e Água + Sacarose com 30 repetições cada, utilizando-se 120 sementes no total. As sementes foram desinfestadas em álcool etílico 70% (v/v) e imersas em solução de hipoclorito de sódio (NaOCl) 2,0 a 2,5 % (v/v) por 10 minutos e lavadas em água destilada. O meio de cultura foi acrescido de 30 g/L de sacarose, 1mL de cada vitamina (tiamina, pirodoxina, ácido nicotínico, mio-inositol e glicina) e solidificado com 7 g/L de ágar. Foram utilizados tubos de ensaio (1,5 cm x10 cm) com 4 mL de meio de cultura. Um tratamento adicional foi realizado em placa de Petri, com papel de filtro umidificado com água destilada estéril.

Foram realizadas 3 repetições com 100 sementes cada uma. Para desinfestação das sementes foi utilizado o mesmo procedimento acima descrito.

As sementes inoculadas foram mantidas em sala de crescimento sob fotoperíodo de 16 horas a 25µm de fotons/m² segundo, fornecido por lâmpadas fluorescentes luz/dia e temperatura de 25±1 °C. E decorridos 60 dias e 15 dias após inoculação das sementes em tubo de ensaio e placa de Petri, respectivamente, foram avaliados o percentual de germinação e contaminação.

Para multiplicação e enraizamento dos explantes foi testado o efeito de reguladores de crescimento nos segmentos apicais e basais foram realizados 4 tratamentos em meio MS/2 suplementados com BAP (0; 0,1; 1,0 mg/L) e ANA (0; 0,01mg/L), com 30 repetições em cada tratamento. O meio de cultura foi

13ª JORNADA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

acrescido de 30 g/L de sacarose e 7 g/L de ágar. Foram utilizados 6 frascos com 5 explantes para cada tratamento. A avaliação ocorreu a cada 40 dias num período de 80 dias os parâmetros analisados os números de brotos, altura (cm), presença de calos (%) e formação de raízes (%).

Para a aclimatização foram utilizadas 20 plântulas. Cada plântula foi lavada em água corrente e transferida para bandejas de plástico contendo o substrato vermiculita. Elas foram irrigadas com sais MS (Murashige e Skoog, 1962) uma vez a cada semana e com água a cada dois dias. O experimento foi conduzido em ambiente fechado, sob luz solar indireta, fotoperíodo de aproximadamente 16 horas e temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$. A aclimatização foi avaliada semanalmente durante 30 dias avaliando-se a porcentagem de plantas sobreviventes.

O delineamento estatístico foi inteiramente casualizado e as médias obtidas comparadas pelo teste de Turkey a 5% de probabilidade.

RESULTADOS

As sementes de *Pilosocereus arrabidaei* apresentaram, em papel de filtro, 48,7% de germinação após 15 dias e 17% de germinação em meio sólido (MS/2, MS/4, MS e água + sacarose) após 60 dias não houve diferença estatística entre os tratamentos.

Segundo Medeiros et al. (2006), a baixa porcentagem de germinação em meio sólido e sob condições assépticas pode ser devido a fatores como baixa viabilidade das sementes e potencial osmótico inadequado.

A contaminação foi nula. O uso das soluções de etanol 70% e hipoclorito de sódio a 2,0-2,5% por 10 minutos foi efetivo para desinfestação das sementes, com 100% das sementes livres de contaminantes. Resultados iguais foram encontrados por Quiala et al., (2009), que promoveram a desinfestação de sementes de *Pilosocereus robinii* utilizando uma solução de hipoclorito de sódio a 2,0% durante 10 minutos.

A análise do efeito dos reguladores de crescimento em segmentos caulinares após 40 e 80 dias indicou como melhor tratamento para promover o alongamento do segmento apical os meios MS/2 (controle) e MS/2 suplementado com 0,01 mg/L ANA e para o segmento basal não houve diferença significativa entre os tratamentos. Quanto ao efeito da origem do explante em relação ao alongamento em cada tratamento após 40 e 80 dias o melhor segmento foi apical nos tratamentos MS/2 e MS/2 suplementado com 0,01 mg/L ANA. Não houve diferença significativa entre os segmentos apical e basal nos tratamentos MS/2 suplementado com 0,1 e 1,0 mg/L BAP. Com relação ao enraizamento dos segmentos caulinares, não houve diferença significativa entre os tratamentos utilizando segmento apical, porém para o segmento basal a adição de 1,0 mg/L BAP influenciou negativamente. Na fase de aclimatização após, 30 dias obteve-se 85% de sobrevivência da espécie *Pilosocereus arrabidaei* utilizando vermiculita.

CONCLUSÃO

O processo de desinfestação foi efetivo, o meio contendo água (líquida) foi o mais eficiente em relação à germinação de sementes, tanto em velocidade quanto em porcentagem, foi possível promover o estabelecimento de cultivo in vitro de *P. arrabidaei* através de sementes, há diferença morfogênica quanto à origem do explante submetidos ao efeito de reguladores e o processo de aclimatização transcorreu sem grandes perdas.

REFERÊNCIAS

- ALVES, C.; OLIVEIRA, J. R.; REIS, E. S.; CORRÊA, R. M.; SOUZA, J.; SILVA, J. C. O.; PAULA, J. C. R.; RODRIGUES, L. H. F.; SOUZA, M. A.; MENDONÇA, M. R. A Cultura de Tecido na Agricultura. I Jornada Científica e VI FIPA do CEFET Bambuí – MG. 2008. Disponível em: <www.cefetbambui.edu.br>. Acesso em: 08 jul. 2013.
- CARVALHO, A. C. P. P.; TOMBOLATO, A. F. C.; RODRIGUES, A. A. J.; SANTOS, E. O.; SILVA, F. Panorama da Micropropagação no Brasil com Ênfase em Flores e Plantas Ornamentais. In: JUNGHANS, T. G.; SOUZA, A. S. Aspectos Práticos da Micropropagação de Plantas. 1ª Ed. Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical. 2009. 385 p.
- CALVENTE, A. M.; FREITAS, M. F.; ANDREATA, R. H. P. Listagem, distribuição geográfica e conservação das espécies de Cactaceae no estado do Rio de Janeiro. Rodriguésia, v. 56, p. 141-162, 2005.
- FREITAS, M. F. Cactaceae da Área de Proteção Ambiental da Massambaba, Rio de Janeiro Brasil. Rodriguésia, v. 42/44, p. 67-91, 1992.
- GEORGE, E. F.; DEBERGH, P. C. Micropropagation: Uses and Methods. In: GEORGE, E. F.; HALL, M. A.; GEERT-JAN, K. Plant Propagation by Tissue Culture. 3ª. Ed. Vol. 1, The Background, 2008. 501 p.
- GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S. Técnicas e Aplicações da Cultura de Tecidos de Plantas. ABCTP/EMBRAPA CNPH, 1990. 433 p.
- JOLY, A. B. Botânica – Introdução à Taxonomia Vegetal. 12ª Ed. Companhia Editora Nacional. 1998. 777p.
- MEDEIROS, L. A.; RIBEIRO, R. C. S.; GALLO, L. A.; OLIVEIRA, E. T.; DEMATTÊ, M. E. S. P. In vitro propagation of *Notocactus magnificus*. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, n.84, p.165–169, 2006.
- PAIVA, P. D. O.; LESSA, M. A. Cultivo de Cactos e Suculentas. Textos Acadêmicos. UFLA/ FAEPE, 2006. 53p.
- PASSOS, L. P.; KÖPP, M. M. Micropropagação e Cultivo in vitro de Gramíneas Forrageiras Tropicais. 1ª Ed. Embrapa Gado de Leite, Documentos 142. 2010. 20 p.
- QUIALA, E.; MATOS, J.; MONTALVO, G.; FERIA, M.; CHÁVEZ, M.; CAPOTE, A.; PÉREZ, N.; BARON, R.; KOWALSKI, B. In vitro propagation of *Pilosocereus robinii* (Lemaire) Byles et Rowley, endemic and endangered cactus. J. PACD, n.11, p.18-25, 2009.
- ROJAS-ARÉCHIGA, M.; VÁZQUEZ-YANES, C. Cactus Seed Germination: a review. Journal of Arid Environments, n.44, p.85-104, 2000.