

## Efeito do BAP e ANA na micropropagação de caroá [*Neoglaziovia variegata* (Arr. Cam.) Mez.].\*

Silveira, Daniela Garcia<sup>1</sup>; Souza, Fernanda Vidigal Duarte<sup>2</sup>; Ledo, Carlos Alberto da Silva<sup>2</sup>; Morais Lino, Lucymeire Souza<sup>3</sup>; Santana, José Raniere Ferreira de<sup>4</sup>.

<sup>1</sup>Doutoranda da Pós-Graduação em Botânica (UEFS), Unidade Experimental Horto Florestal - Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais, Av. Presidente Dutra, S/N, Santa Mônica, CEP 44055-000, Feira de Santana, BA, Fone (75) 3625-2300, email: [danielags@ig.com.br](mailto:danielags@ig.com.br); <sup>2</sup>Pesquisadores da *Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical*, Caixa Postal 007, CEP 44380-000, Cruz das Almas, BA, Fone (75) 3621-8094, email: [fernanda@cnpmf.embrapa.br](mailto:fernanda@cnpmf.embrapa.br); [ledo@cnpmf.embrapa.br](mailto:ledo@cnpmf.embrapa.br); <sup>3</sup>Doutoranda da Pós-Graduação em Biotecnologia (UEFS) e-mail: [ismorais@yahoo.com.br](mailto:ismorais@yahoo.com.br); <sup>4</sup>Professor da Pós-Graduação da UEFS, Unidade Experimental Horto Florestal - Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais, email: [raniere@uefs.br](mailto:raniere@uefs.br).

### INTRODUÇÃO

*Neoglaziovia variegata* (Arr. Cam.) Mez. é uma espécie da família Bromeliaceae, nativa do estrato baixo da Caatinga Brasileira. Possui folhas listradas, flores protegidas por brácteas com coloração viva e frutos em bagas suculentas (Plantas do Nordeste, 2004). Essa espécie é conhecida na Região Nordeste do Brasil como caroá e constitui uma das matérias-primas mais utilizadas para o trabalho artesanal dessa região, gerando emprego e renda para diversas famílias. Suas folhas são utilizadas para extração de fibras, que são usadas na manufatura de barbantes, chapéus, bolsas, tapetes, redes de pesca e tecidos.

A planta do caroá, por sua vez, tem sido coletada diretamente na caatinga de forma extrativista, sem nenhuma sistematização de cultivo, já tendo praticamente desaparecido em algumas regiões. Isso pode ser explicado pelo sistema de corte das folhas adotado pelas artesãs e principalmente pela devastação da caatinga para desenvolvimento de atividade agropecuária na região, quando o caroá é considerado como uma planta invasora e sem valor comercial.

O estabelecimento de um sistema de produção para minimizar a atividade extrativista, depende prioritariamente do desenvolvimento de um sistema de propagação para produção de mudas. As técnicas de cultura de tecidos permite obter milhares de mudas a partir de uma única gema em pequeno período de tempo e totalmente livres de problemas fitossanitários (Barboza et al., 2004). Contudo, a utilização de sementes como explantes se constitui em uma estratégia interessante para propósitos de conservação, mantendo assim, a variabilidade das populações naturais, onde cada semente será uma planta matriz (Rech Filho et al., 2005). É importante, em espécies onde ainda não existe um sistema de cultivo, a manutenção da variabilidade genética natural, evitando dessa forma a intensificação da erosão genética causada pelo extrativismo acelerado ou pela seleção de poucos genótipos. Para tal, o desenvolvimento de protocolos de micropropagação partindo de sementes é uma alternativa de incentivo à conservação dessas espécies em bancos de germoplasma *in vitro*. Adicionalmente, é crucial para a produção ao nível comercial, contribuindo na produção de um número elevado de mudas com melhor desempenho agrônomo.

O desenvolvimento de um método de propagação eficiente, que permita a obtenção de mudas sadias a serem plantadas, se constitui no primeiro passo para o estabelecimento de um sistema de cultivo e produção, a fim de se evitar o extrativismo predatório. A utilização de auxina e citocinina têm sido testadas com sucesso na multiplicação *in vitro* em várias espécies de bromeliáceas (Arrabal et al., 2002; Barboza et al., 2004; Rech Filho et al., 2005). Diante do exposto, esse trabalho objetivou avaliar o efeito do BAP e ANA na micropropagação de plantas de caroá com a finalidade de estabelecer um protocolo de multiplicação *in vitro* para essa espécie.

### METODOLOGIA

---

\* Agradecimentos a CAPES pela concessão da bolsa de doutorado do primeiro autor e ao BNB e FAPESB pelo financiamento do projeto de pesquisa.

O trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais da *Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical*, em Cruz das Almas, BA.

Como explante de partida utilizou-se plântulas germinadas in vitro (Figura 1A) que foram distribuídas num delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2 (concentrações de ANA) x 2 (concentrações de BAP) + 1 (tratamento adicional - testemunha), com 8 repetições por tratamento.

Foram analisadas todas as combinações entre concentrações de ANA (0,05  $\mu\text{M}$  e 0,5  $\mu\text{M}$ ) com 2,2 e 4,4  $\mu\text{M}$  de BAP em meio de cultura MS suplementado com 30 g/L de sacarose, solidificado com 2 g/L de Phytigel®, pH 5,8 e esterilizado a 120°C. O tratamento adicional serviu como controle, pois as plântulas foram cultivadas no mesmo meio sem a presença de reguladores de crescimento.

Foram realizados cinco subcultivos para meio fresco, com intervalos de 35 dias, onde se procedia a uma subdivisão longitudinal dos brotos (Figura 1B) sempre que possível. As plantas foram mantidas sob condições de temperatura de  $27 \pm 1^\circ\text{C}$ , fotoperíodo de 16 horas e densidade de fluxo de fóton de  $22 \mu\text{E.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ .

Em cada subcultivo foi avaliado o número de brotos e de raízes dos cinco tratamentos. Para os dados obtidos das variáveis avaliadas nos cinco subcultivos, aplicou-se a transformação  $\log(x + 10)$  a fim de se corrigir desvios na distribuição normal dos mesmos.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A maior taxa de multiplicação foi observada no tratamento ANA (0,5  $\mu\text{M}$ ) + BAP (4,4  $\mu\text{M}$ ), com uma média de 60,58 brotos adventícios por explante após os cinco subcultivos (Tabela 1 e Figura 1C). Resultados semelhantes foram obtidos com a micropropagação de outras espécies; no abacaxizeiro, as maiores taxas de proliferação foram obtidas utilizando-se BAP em concentrações que variaram de 4,4 a 9,9  $\mu\text{M}$  em combinação com ANA (Hirimburegama & Wijesinghe, 1992; Macêdo et al., 2003) e em *Cryptanthus sinuosus* (L.B. Smith), uma bromélia ameaçada de extinção e endêmica do Brasil, os melhores resultados foram obtidos, em meio MS sem reguladores vegetais ou quando se adicionou 2,2  $\mu\text{M}$  de BAP e 0,05  $\mu\text{M}$  de ANA (Arrabal et al., 2002), tendo outras combinações exercido um efeito inibitório para o desenvolvimento de brotos. Ainda que a adição de ANA e BAP pareça favorecer a formação de brotos em bromélias (Mercier & Kerbauy, 1997), vale ressaltar que, a depender dos níveis endógenos desses reguladores nos explantes, as respostas obtidas podem ser indesejáveis (Hirimburegama & Wijesinghe 1992; Karp, 1995), indicando dessa forma a necessidade da otimização e ajustes de protocolos para cada espécie alvo. De qualquer forma, os resultados obtidos com a testemunha apontam para a necessidade do uso de reguladores de crescimento para a micropropagação dessa espécie.

Por outro lado, o uso desses reguladores, independente das combinações, afeta o processo da rizogênese de forma negativa, como pode ser observado também na Tabela 1. O meio utilizado como testemunha foi o que propiciou o maior número de raízes em relação aos outros tratamentos. Kukulczanka & Czastka (1989) propagando in vitro várias espécies da família Bromeliaceae no meio RM obtiveram brotos enraizados quando utilizaram ANA combinado com cinetina, enquanto a combinação ANA + BAP promoveu a formação de maior número de brotos adventícios, resultado similar ao que foi obtido nesse trabalho.

No que se refere à morfologia dos brotos produzidos, todos os tratamentos proporcionaram brotos normais, sem nenhuma anormalidade morfológica. No entanto, a presença de 4,4  $\mu\text{M}$  de BAP, apesar de ter proporcionado a maior taxa de multiplicação, induziu a formação de brotos pequenos e com poucas raízes, dificultando a individualização no momento da repicagem (Figura 1D). Em diversos trabalhos de micropropagação de bromeliaceaes, constatou-se esse problema quando foram utilizadas combinações de BAP com doses acima ou igual a 4,4  $\mu\text{M}$  e ANA com doses superiores ou iguais a 2,5  $\mu\text{M}$  (Macedo et al., 2003; Barboza et al., 2004).



**Figura 1.** Etapas da micropropagação do caroá [*Neoglaziovia variegata* (Arr. Cam.) Mez.]: plântula após 60 dias de inoculação em meio de cultura (A); plântula subcultivada em meio de cultura (B); brotos adventícios provenientes de meios com ANA + BAP (C); brotos pequenos e sem raízes provenientes do meio de micropropagação com ANA (0,5  $\mu\text{M}$ ) + BAP (4,4  $\mu\text{M}$ ) (D).

**Tabela 1.** Valores médios para números de brotos adventícios e de raízes na micropropagação de caroá [*Neoglaziovia variegata* (Arr. Cam.) Mez.] após cinco subcultivos realizados a cada 35 dias.

ANA ( $\mu\text{M}$ )	Número de brotos		Número de raízes	
	BAP ( $\mu\text{M}$ )		BAP ( $\mu\text{M}$ )	
	2,2	4,4	2,2	4,4
0,05	15,825 aA*	18,975 bA	4,075 aA	1,400 bB
0,5	11,729 bB	60,575 aA	3,000 aA	4,200 aA
Testemunha	5,902		6,536	

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

## CONCLUSÃO

Pode-se concluir que o tratamento ANA (0,5 µM) + BAP (4,4 µM) foi o mais eficiente para a obtenção de um maior número de brotos, apesar de não apresentarem raízes.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARRABAL, R.; AMANCIO, F.; CARNEIRO, L.A.; NEVES, L.J.; MANSUR, E. Micropropagation of endangered endemic Brazilian bromeliad *Cryptanthus sinuosus* (L.B. Smith) for *in vitro* preservation. **Biodiversity and Conservation**, v.11, p.1081-1089, 2002.

BARBOZA, S.B.S.C.; CALDAS, L.S.; SOUZA, L.A.C. Micropropagação do híbrido PExSC-52 e da cultivar Smooth Cayenne de abacaxizeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.39, n.8, p.725-733, 2004.

HIRIMBUREGAMA, K.; WIJESINGHE, L.P.J. *In vitro* growth of *ananas comosus* L. Merr (pineapple) shoot apices on different media. **Acta Horticulturae**, v.319, p.203-208, 1992.

KARP, A. Somaclonal variation as a tool for crop improvement. **Euphytica**, v.85, p.295-302, 1995.

KUKULCZANKA, K.; CZASTKA, B. Propagation of some species of the bromeliaceae family cultured *in vitro*. **Acta Horticulturae**, v.251, p.167-172, 1989.

MACÊDO, C.E.C. de; SILVA, M.G. da; NOBREGA, F.S. da ET AL.. Concentrações de ANA e BAP na micropropagação de abacaxizeiro L. Merrill (*Ananas comosus*) e no cultivo hidropônico das plântulas obtidas *in vitro*. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.25, n.3, p. 501-504, 2003.

MERCIER, H; KERBAUY, G.B. Micropropagation of ornamental bromeliads (Bromeliaceae). In: Bajaj, Y.P.S. (Ed.). **Biotechnology in Agriculture and Forestry v. 40, High-Tech and Micropropagation VI**. Berlin: Springer-Verlag, 1997. p. 43–57.

Plantas do Nordeste (2004). Caroá. <http://plantasdonordeste.org>. Acesso em: 03 set. 2004.

RECH FILHO, A; DAL VESCO, L.L.; NODARI, R.O.; LISCHKA, R.W.; MULLER, C.V.; GUERRA, M.P. Tissue culture for the conservation and mass propagation of *Vriesea reitzii* Leme and Costa, a bromeliad threatened of extinction from the Brazilian Atlantic Forest. **Biodiversity and Conservation**, v.14, p.1799-1808, 2005.

## PALAVRAS-CHAVE

Bromeliaceae, cultura de tecidos, micropropagação, produção de mudas.