

Efeito do potencial osmótico na germinação e crescimento *in vitro* de *Syngonanthus mucugensis* Giulietti visando à conservação *in vitro*.

Nepomuceno, Cristina Ferreira¹; Fonseca, Priscila Tavares²; Silva, Tecla dos Santos²; Lima-Brito, Alone³; Santana, José Raniere Ferreira⁴

¹Bióloga, MSc. em Botânica, Bolsista DTI/CNPq/M (UEFS), Unidade Experimental Horto Florestal, Avenida Presidente Dutra, Bairro Santa Mônica, S/N, CEP: 44055-000 email: nepomucenocf@yahoo.com.br; ²Graduanda em Ciências Biológicas, email: priscilauefs@yahoo.com.br; teclabio@yahoo.com.br; ³Doutoranda do Programa de Pós-graduação em Botânica da UEFS, email: lima_brito@yahoo.com.br; ⁴Professor da Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS), Departamento de Ciências Biológicas, email: raniere@uefs.br.

INTRODUÇÃO

Syngonanthus mucugensis pertence à família Eriocaulaceae, está entre as espécies do gênero *Syngonanthus* com grande valor ornamental e alto valor econômico devido ao bellissimo aspecto das inflorescências. As quais apresentam textura paleácea com cor bege e inflorescência em forma de capítulos com flores muito pequenas. É uma espécie endêmica da região da Chapada Diamantina, localizada mais precisamente na Serra do Sincorá, mas devido ao extrativismo encontra-se ameaçada de extinção.

O cultivo *in vitro* de *S. mucugensis* (sempre-viva) tem por meta viabilizar o aumento da produtividade, utilizando técnicas de cultura de tecidos vegetais que permitem a coleção de germoplasma, preservação e o cultivo em escala comercial (Paixão-Santos et al., 2006).

A análise da interferência do potencial osmótico constitui um processo importante na micropropagação e na conservação *in vitro* de germoplasma à medida que está associada à absorção de nutriente e H₂O, interferindo nas reações metabólicas e, portanto, nos processos morfológicos e fisiológicos da planta. No processo de conservação *in vitro* é necessário que as plantas tenham o crescimento reduzido, ou seja, que a sua atividade metabólica seja reduzida, contudo sem afetar sua viabilidade, isto pode ser alcançado alterando-se o potencial osmótico do meio de cultura, reduzindo então a disponibilidade de água (Castro e Hilhorst, 2004).

A conservação *in vitro* possui grande importância não só sob o ponto de vista econômico como também prático, possibilitando a manutenção da fidelidade genética, além de facilitar a disponibilidade de material para o melhoramento genético e o intercâmbio de germoplasma (Withers e Williams, 1998; Faria et al., 2006).

Este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito do potencial osmótico do meio de cultura na germinação e crescimento *in vitro* de *Syngonanthus mucugensis*, permitindo o estabelecimento de estratégias para a conservação *in vitro*.

METODOLOGIA

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais, localizado na Unidade Experimental Horto Florestal da Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS).

As sementes foram desinfestadas através da imersão em álcool 70% por 1 minuto, seguido de solução de hipoclorito de sódio - NaOCl (2,5%) por 10 minutos e lavadas 4 vezes em água estéril. Em seguida foram inoculadas em frascos contendo 60 mL de meio de cultura MS (Murashige e Skoog, 1962) com a metade da concentração dos sais, suplementado com 0,7% de ágar e diferentes potenciais osmóticos (-0,1085; -0,2170; -0,3255; -0,4340 MPa), estes potenciais foram obtidos através da equação Van't Hoff's (Paiva Neto e Otoni, 2003) utilizando-se diferentes concentrações sacarose (15, 30, 45 e 60 g.L⁻¹).

As culturas foram mantidas em sala de crescimento, com temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, sob fotoperíodo de 16 horas, com umidade relativa de 60% e radiação fotossintética ativa de $30 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$.

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, composto por quatro tratamentos (diferentes potenciais osmóticos: -0,1085; -0,2170; -0,3255; -0,4340 MPa), cada tratamento com sete repetições e cada uma constou com cinquenta sementes.

Foi avaliada a porcentagem de germinação a partir da emissão da primeira folha, seguido de observações semanais, por um período de 60 dias. Após esse período foi iniciada a análise de crescimento, através das seguintes variáveis: comprimento da maior folha e da maior raiz (mm), sendo que para a realização da medida utilizou-se régua graduada em mm; número de folhas e raízes, as quais foram realizadas através de contagem. Para matéria seca da parte aérea e das raízes (mg), inicialmente separou-se a parte aérea da raiz e estes foram acondicionados em sacos de papel e mantidos na estufa com ventilação forçada, com temperatura mantida em 60°C , até que atingissem o peso constante. Foram retiradas dez plantas por frasco nas sete repetições para cada tratamento. Os experimentos foram repetidos por três vezes.

Os dados foram avaliados estatisticamente mediante a análise de variância, testando-se as médias pelo teste de Tukey. Os dados foram analisados usando o programa SISVAR, v 4.3, desenvolvido pela UFLA (Ferreira, 2003).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As sementes de *S. mucugensis* germinaram aos dez dias da inoculação, em todos os potenciais osmóticos testados. Entretanto apresentaram diferença significativa para a porcentagem de germinação *in vitro*. Observa-se que na primeira semana na presença do potencial osmótico ($\Psi_0 = -0,1085$ MPa) ocorreu maior germinação das sementes (64,86%) em relação aos outros potenciais testados, indicando que o potencial osmótico interfere na porcentagem da germinação neste primeiro momento, mas não atua como fator limitante para a germinação *in vitro* de *S. mucugensis* (Figura 1). Resultados semelhantes foram encontrados para sementes de erva-de-touro, onde a restrição hídrica afetou o comportamento germinativo das sementes (Guimarães et al., 2002).

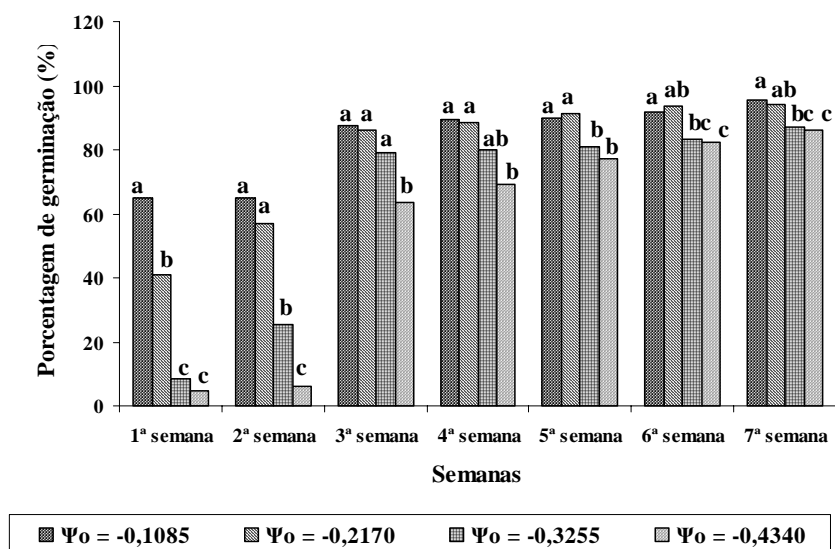


Figura 1: Porcentagem de germinação *in vitro* de *Syngonanthus mucugensis* submetidas a diferentes potenciais osmóticos (MPa) em meio de cultura MS $\frac{1}{2}$. Médias seguidas pela mesma letra para cada tratamento, não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey). Feira de Santana, 2007.

Com o aumento da restrição hídrica houve atraso na germinação *in vitro* de *S. mucugensis*. Na primeira semana, em meio com pouca restrição hídrica ($\Psi_o = -0,1085$ Mpa) ocorreu a germinação de mais de 60% das sementes, enquanto que nos meios com maior restrição hídrica ($\Psi_o = -0,3255$ e $\Psi_o = -0,4340$ Mpa) a germinação foi reduzida drasticamente. A baixa disponibilidade de água no meio de cultura ($\Psi_o = -0,4340$ MPa) não impede que a germinação de *S. mucugensis* ocorra, as sementes requerem apenas um período maior para atingir percentual de germinação elevado (Figura 1). Resultados semelhantes foram encontrados por Souza et al. (1999) em cultivos de *Eucalyptus camaldulensis* encontraram redução da germinação quando utilizaram o meio de cultura com potencial osmótico -0,75 MPa. Segundo Castro e Hilhorst (2004) para a semente germinar, é necessário que o conteúdo de água da semente, alcance um nível de platô, o qual é mantido relativamente constante, ou aumenta pouco e muito lentamente por um período conhecido como fase de preparação e ativação do metabolismo. Para as sementes de *S. mucugensis* esse nível é logo alcançado quando no potencial osmótico de -0,1085 MPa, pois a disponibilidade de água é maior favorecendo maior porcentagem de germinação quando comparado aos outros potenciais osmóticos testados.

De acordo com a análise de variância o potencial osmótico mostrou diferença significativa para todas as variáveis de crescimento estudadas.

Para o comprimento da maior folha obteve-se a menor média (4,3 mm) em meio com o maior restrição hídrica ($\Psi_o = -0,4340$ MPa), ocorrendo o mesmo para número de folhas (5,07) e matéria seca de parte aérea (0,615 mg) com este potencial (Figura 2 A, B e D). Resultados semelhantes foram encontrados para *E. camaldulensis* em relação ao comprimento da parte aérea que reduziu em função da diminuição do potencial osmótico do meio de cultura (Souza et al., 1999). Essa redução do crescimento acontece porque segundo Castro e Hilhorst (2004), sob baixos conteúdos de água, a atividade metabólica é reduzida.

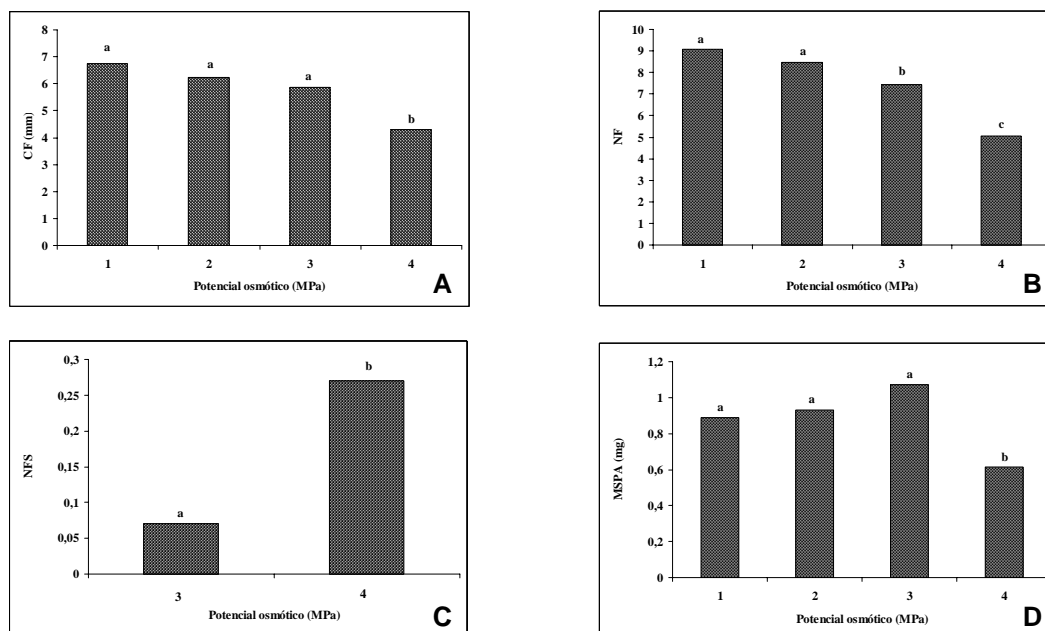


Figura 2: Médias do comprimento da maior folha (CF) (A), número de folhas (NF) (B), número de folhas senescentes (NFS) (C) e matéria seca de parte aérea (MSPA) (D) de plantas de *S. mucugensis* submetidas a diferentes potenciais osmóticos (1 = -0,1085; 2 = -0,2170; 3 = -0,3255 e 4 = -0,4340 MPa) em meio de cultura MS $\frac{1}{2}$. Médias seguidas pela mesma letra para cada tratamento, não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey). Feira de Santana, 2007.

Quando cultivadas em meios com potenciais osmóticos -0,1085 MPa e -0,2170 MPa, as plantas não apresentaram folhas senescentes, mas nos potenciais osmóticos -0,3255 MPa e $\Psi_o = -0,4340$ MPa começaram a aparecer os primeiros sinais de folhas senescentes aos setenta dias da inoculação (Figura 2C), isso acontece porque uma vez iniciado o crescimento as plantas tornam-se altamente vulneráveis aos estresses ambientais, tais como o estresse hídrico (Castro e Hilhorst, 2004).

Em relação ao sistema radicular as respostas encontradas foram semelhantes às respostas da parte aérea das plantas de *S. mucugensis*, apresentando menor comprimento da raiz (4,62 mm) em meio de cultura com maior restrição hídrica ($\Psi_o = -0,4340$ MPa), acontecendo também a menor média (0,31 mg) para matéria seca de parte aérea na presença deste potencial (Figura 3 A e C).

A maior média (4,65) para número de raízes foi encontrada quando as plantas estavam em meio de cultura com potencial osmótico -0,3255 MPa (Figura 3B). Esses resultados indicam que as plantas de *S. mucugensis* podem ser conservadas *in vitro* em potenciais osmóticos baixos, embora seja preciso avaliar o crescimento por período de tempo mais longo.

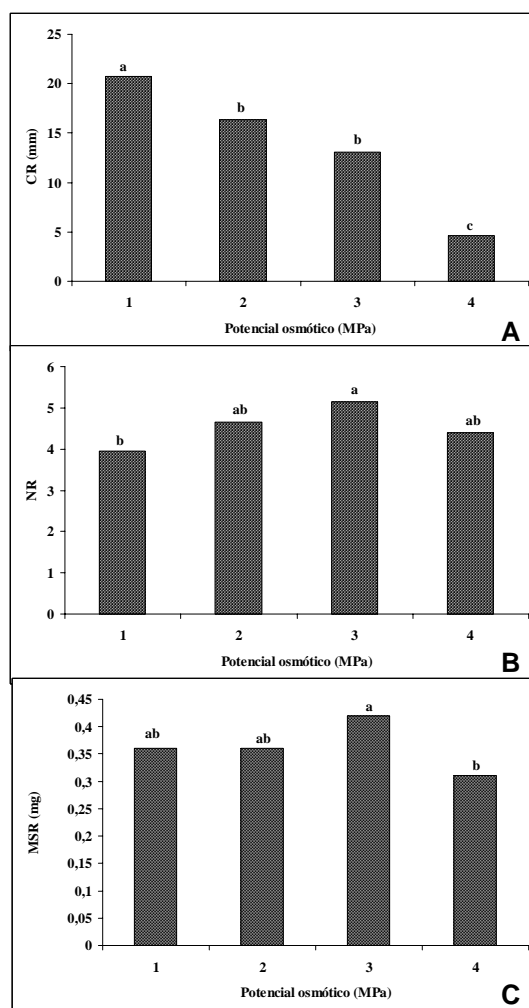


Figura 3: Médias do comprimento da maior raiz (CR) (A), número de raízes (NR) (B) e matéria seca de raiz (MSR) (C) de plantas de *S. mucugensis* submetidas a diferentes potenciais osmóticos (1 = -0,1085; 2 = -0,2170; 3 = -0,3255 e 4 = -0,4340 MPa) em meio de cultura MS½. Médias seguidas pela mesma letra para cada tratamento, não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey). Feira de Santana, 2007.

CONCLUSÃO

O potencial osmótico atrasou o processo germinativo das sementes de *S. mucugensis*. O menor potencial osmótico ($\Psi_0 = -0,4340$ MPa) reduziu o crescimento das plantas de *S. mucugensis*.

REFERÊNCIAS

Castro, R. D.; Hilhorst, H. W. M. Embebição e reativação do metabolismo. In: Ferreira, A. G.; Borghetti, F. (Orgs.). **Germinação do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, 2004.

Faria, G. A.; Costa, M. A. P. de C.; Junghans, T. G.; Ledo, C. A. da S.; Souza, A. da S. Efeito da sacarose e do sorbitol na conservação *in vitro* de *Passiflora giberti* N. E. Brown. **Revista Brasileira de Fruticultura**. v.28, n.2, p.267-270, 2006.

FERREIRA, D. F. **Sisvar** – Versão 4.3. DEX/UFLA – Lavras, MG, 2003.

Guimarães, S. C.; Souza, I. F. de; Pinho, E. V. de R. von. Efeito da restrição hídrica sobre a germinação de sementes de erva-de-touro. **Rev. Agr. Trop.** v.6, n.1, p.97-111, 2002.

Murashige, T.; Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiol. Plant.** 15:473-497.

Paiva Neto, V. B. de; Otoni, W. C. Carbon sources and their osmotic potential in plant tissue culture: does it matter?. **Scientia Horticulturae**. v. 97, p.193-202, 2003.

Paixão-Santos, J. da; Dornelles, A. L. C.; Silva, J. R. dos S.; Santana, J. R. F. de; Lima-Brito, Alone. Ajuste do meio MS para cultivo *in vitro* de *Syngonanthus mucugensis* Giulietti, espécie ameaçada de extinção. **Sitientibus Série Ciências Biológicas**. v. 6, n. 1, p. 36-39, 2006.

Souza, G. M.; Gonçalves, A. N.; Machado Neto, N. B. Crescimento *in vitro* de progênies de *Eucalyptus camaldulensis* Dehn. Sob condições de deficiência hídrica. **Sci. Agric.** v.56, n.3, 1999.

PALAVRAS-CHAVES

Syngonanthus mucugensis; Eriocaulaceae; sempre-viva; potencial osmótico.