



## Crescimento *in vitro* de *Alcantarea imperialis* (Carrière) Harms com diferentes concentrações de cálcio

**Priscila Primo Andrade Silva**<sup>(1)</sup> Flávia Maria Kazue Kurita<sup>(1,2)</sup> & Vívian Tamaki<sup>(1)</sup>

<sup>(1)</sup> Núcleo de Pesquisa em Plantas Ornamentais, Instituto de Botânica. São Paulo, SP, pri.primo@hotmail.com; <sup>(2)</sup> Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade Vegetal e Meio Ambiente, Instituto de Botânica

**Resumo:** A bromélia *Alcantarea imperialis* é muito utilizada no paisagismo, pois tem folhas vistosas e brilhantes, tornando-se alvo do extrativismo ilegal. Assim, as estratégias de preservação são importantes, e uma delas é o cultivo *in vitro*, que pode otimizar o crescimento com boa qualidade fitossanitária. A nutrição é um aspecto importante, sendo o potássio essencial para o crescimento da planta. O presente trabalho teve como objetivo estudar o crescimento *in vitro* de *A. imperialis* em diferentes concentrações de potássio. Neste estudo foram transferidas 10 plântulas germinadas *in vitro* para frascos de 250 mL, contendo 40 mL de meio Murashige & Skoog (MS) modificado com diferentes concentrações de potássio (5mM; 10 mM; 20 mM e 40 mM). Cada tratamento tinha cinco frascos, que foram mantidos em sala de cultura com fotoperíodo de 12 horas com luminosidade  $30 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  e a temperatura média de  $26 \pm 2$  °C. Após 6 meses, foram determinados o número de folhas, comprimentos dos eixos caulinares e radiculares, os teores de massa seca e fresca das partes aérea e radicular, além de conteúdo de pigmentos fotossintéticos (clorofila a, b e carotenóides). Os resultados sugeriram que na ausência de Ca, as plantas conseguem sobreviver, porém a taxa de multiplicação é bem alta, cerca de 90% das plantas. Os melhores resultados foram observados em 4,5 mM de Ca, pois as plantas tinham uma maior massa fresca e seca e o aspecto geral dessas plantas era melhor. Porém em 6 mM de Ca, as plantas tiveram o crescimento prejudicado. Conclui-se que fazendo ajustes no meio de cultura, pode-se melhorar o crescimento desta espécie, contribuindo para a sua conservação, já que se trata de uma espécie em perigo de extinção.

**Palavras-Chave:** bromélia, ameaçada de extinção, nutrição mineral

### INTRODUÇÃO

Bromeliaceae compreende 60 gêneros e 3.170 espécies (Luther 2008) e seus representantes possuem muitas características ornamentais, como a bromélia *Alcantarea imperialis* (Carrière) Harms (Nunes, 2006). O cultivo *in vitro* é uma ferramenta que tem sido utilizada nos últimos anos na conservação de espécies ameaçadas (Sarasán et al., 2006). Além disso, tem sido muito utilizado para a produção de plantas ornamentais (Kanashiro et al., 2009). Estes mesmos autores ressaltam que um aspecto importante do cultivo *in vitro* é o suprimento mineral do meio de cultura. O suplemento de macro e micronutrientes no meio de cultura é essencial no sistema *in vitro*.

Um desses nutrientes é o cálcio (Ca) que tem grande participação na morfogênese, devido às interações com substâncias reguladoras de crescimento (Araujo et al., 2009). Segundo Raven et al. (2007), o Ca é um componente importante da parede celular, está envolvido na permeabilidade da membrana celular, além de favorecer a transpiração com perda de turgescência. Para Prado (2008), é um elemento com pouca mobilidade dentro da planta sendo necessário o fornecimento frequente deste nutriente para o crescimento dos vegetais, o que o torna um elemento de grande importância nos estudos com cultivo *in vitro*. A deficiência de Ca nas plantas atinge primeiramente as regiões meristemáticas e as folhas jovens (Epstein & Bloom, 2006), sendo caracterizada, principalmente, pela morte dos ápices caulinares e radiculares, enquanto em doses elevadas pode causar clorose calcária e plantas menores (Paula et al., 1998 e Raven et al., 2007). Plantas de *G. paniculata* cultivadas em meio de cultura com diferentes concentrações de cálcio (0,5, 10, 15 e 20 mM de Ca) mostraram que a massa seca da parte aérea aumentou até 1,25 mM, entretanto a massa

fresca alcançou seu maior valor em 0,64 e 1,25 mM (Gribble *et al.*, 2002).

O objetivo deste trabalho foi estudar o crescimento de plantas de *Alcantarea imperialis* cultivadas *in vitro*, em diferentes concentrações de cálcio.

## MATERIAL E MÉTODOS

### *Material Vegetal*

Nos experimentos foram utilizadas sementes de *A. imperialis*, os frutos foram abertos manualmente e suas sementes foram acondicionadas em sacos de papel pardo e armazenadas em condições de refrigeração a 10 °C, vale ressaltar que a viabilidade foi confirmada.

### *Crescimento em diferentes concentrações de cálcio*

As plantas utilizadas foram obtidas por micropropagação a partir de sementes. Após a germinação, 10 plântulas foram transferidas para frascos de 250 mL cada um contendo 40 mL de meio Murashigue & Skoog (1962) (MS) modificado com diferentes concentrações de cálcio (0 mM; 0,75 mM; 1,5 mM; 3,0 mM (MS original); 4,5 mM e 6,0 mM). Cada tratamento tinha cinco frascos, que foram mantidos em sala de cultura com fotoperíodo de 12 horas com luminosidade de 30  $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  e a temperatura média de 26±2 °C durante seis meses, tendo sido realizado uma transferência para meios novos com as mesmas concentrações na metade deste período. Foram determinados o número de folhas, os comprimentos dos eixos caulinares e radiculares, os teores de massa seca e fresca das partes aérea e radicular, além da quantidade de pigmentos fotossintéticos (clorofila a, b e carotenóides) (Lichtenthaler, 1987).

### *Análise estatística*

Todos os dados foram avaliados pela análise de variância (ANOVA) e foi aplicado o teste Tukey em nível de 5% de probabilidade.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados sugeriram que na ausência de Ca, as plantas sobrevivem por seis meses sob cultivo *in vitro*, porém a taxa de multiplicação é bem alta, cerca de 90% das plantas (Figura 1). De modo geral *A. imperialis* se desenvolveu melhor nos tratamentos com 3 mM de Ca e 4,5 mM de Ca pois nestes dois tratamentos os comprimentos das

plantas foram maiores em comparação aos outros tratamentos (Tabela 1). Aranda-Peres *et al.* (2009), observaram nas bromélias *Vriesea hieroglyphica*, *V. friburgensis* e *V. unilateralis* sob cultivo *in vitro*, que em meios com incremento de cálcio (12 mM de Ca), as plantas apresentaram uma maior massa fresca e seca e o aspecto geral dessas plantas era melhor. Em outro trabalho, Kanashiro *et al.* (2009) ao estudarem o cultivo *in vitro* de uma bromélia terrestre, *Aechmea blanchetiana*, em diferentes concentrações de cálcio, observaram que em 9,38 mM de Ca as plantas acumularam mais massa fresca e seca, mas em 12 mM de Ca as plantas não tiveram um bom desenvolvimento. Observou-se, também, no presente trabalho, que diferentes concentrações de Ca não influenciaram nos teores de clorofilas a e b, nos teores de carotenóides nem na quantidade de folhas (Figura 2).

## CONCLUSÕES

Conclui-se que fazendo ajustes no meio de cultura, pode-se melhorar o crescimento desta espécie, contribuindo para a sua conservação, já que se trata de uma espécie em perigo de extinção.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (Processo 2009/03070-4) pelo apoio financeiro ao projeto.

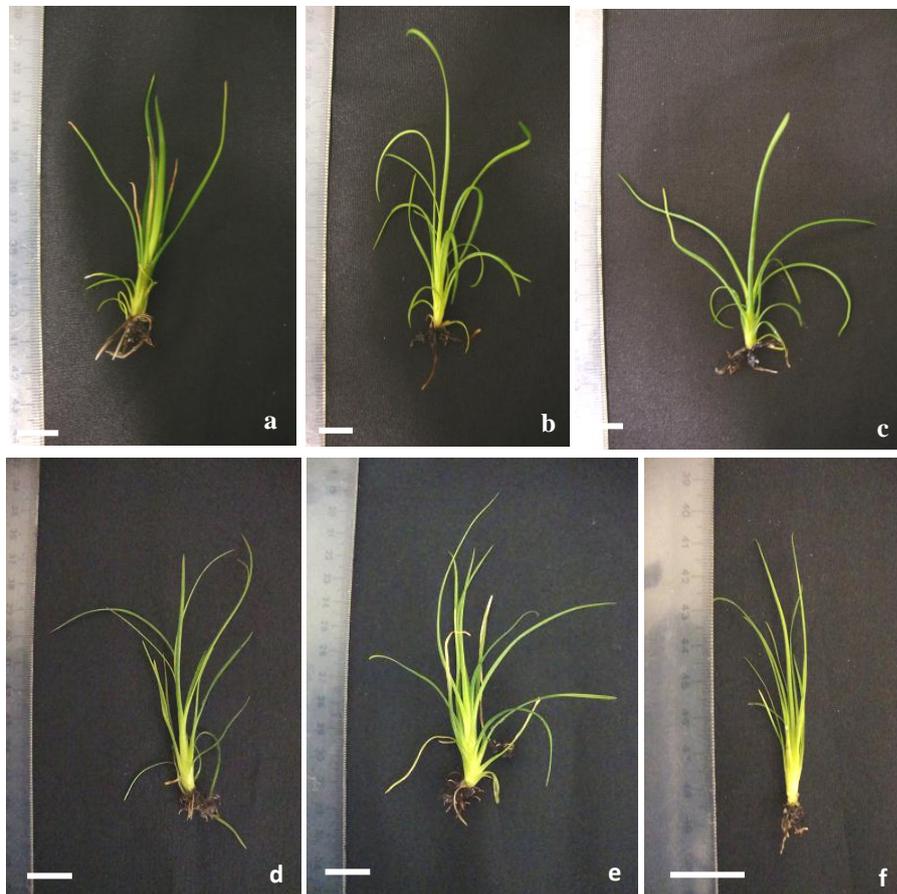
## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aranda-Peres, A.N., Peres, L.E.P., Higashi, E.N., Martinelli, A.P. 2009. Adjustment of mineral elements in the culture medium for the micropropagation of three *Vriesea* bromeliads from the Brazilian Atlantic Forest: the importance of calcium. *Hortscience* 44:106-112
- Araújo, A.G., Pasqual, M., Almendagna, F. R., Carvalho, J.G., Zarraga, D.Z.A. 2009. Fontes de nitrogênio no crescimento *in vitro* de plântulas de *Cattleya loddigesii* Lindl. (Orchidaceae). *Acta Scientiarum. Biological Sciences*. Maringá, v. 31, n. 1, p.35-39.
- Epstein, E., Bloom, A.J. 2006. Nutrição mineral de plantas: princípios e perspectivas. Ed. Planta, Londrina. p.58-64.
- Gribble, K., Conroy, J.P., Holdford, P., Milham, P.J. 2002. *In vitro* uptake of minerals by *Gypsophila paniculata* and hybrid eucalypts and relevance to media mineral formulation. *Australian Journal of Botany* 50: 713-723

- Kanashiro, S., Ribeiro, R.C.S., Gonçalves, A.N., Demétrio, V.A., Jocys, T., Tavares, A.R.** 2009. Effect of Calcium on the *in vitro* Growth of *Aechmea blanchetiana* (Baker) L. B. Smith Plantlets. *Journal of Plant Nutrition* 33:867-877
- Lichtenthaler, H.K.** 1987 Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods in enzymology* 148:350-382
- Luther, H.E.** 2008. An alphabetical list of bromeliad binomials. 11 th ed. Sarasota: Bromeliad Society Internacional. 123 p.
- Murashige, T., Skoog, F.** 1962. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum* 15: 473-497.
- Nunes, J.V.C.** 2006. Bromélias. *In: Simões, L.L.; Lino, C.F. Sustentável Mata Atlântica: a*

exploração de seus recursos florestais. 2.ed. São Paulo: Senac. p.119-132.

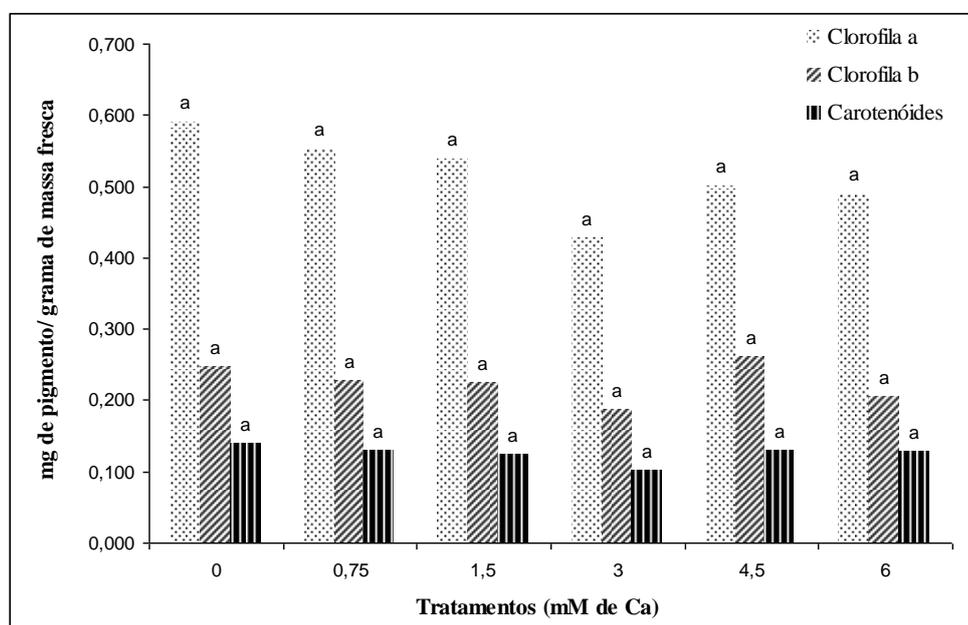
- Paula, M.B., Mesquita, H.A., Nogueira, F.D.** 1998. Nutrição de adubação do abacaxizeiro. *Informe agropecuário* 19 (195): 33-39
- Prado, R.M.** 2008. *Nutrição de plantas*. São Paulo – Ed. Unesp. p.407.
- Raven, P.H., Evert, R.F., Eichhorn, S.E.** 2007. *Biologia vegetal*. 7. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan.
- Sarasan, V.A., Cripps, R., Ramsay, M.M., Atherton, C., McMichen, M., Prendergast, G., Rowntree, J.K.** 2006. Conservation *in vitro* of threatened plants – progress in the past decade. *In vitro Cellular & Developmental Biology Plant* 42: 206-214.



**Figura 1:** Aspectos das plantas de *Alcantarea imperialis* após 6 meses de cultivo crescimento *in vitro* nos diferentes tratamentos de cálcio. (a) Plantas cultivadas em 0 mM de Ca. (b) Plantas cultivadas em 0,75 mM de Ca. (c) Plantas cultivadas em 1,5 mM de Ca. (d) Plantas cultivadas em 3 mM de Ca. (e) Plantas cultivadas em 4,5 mM de Ca. (f) Plantas cultivadas em 6 mM de Ca. Barra = 1 cm.

**Tabela 1:** Números de folhas, comprimentos das partes aérea e radicular, teores de massas frescas da parte aérea e radicular e teores de massas seca das partes aérea e radicular de plantas de *Alcantarea imperialis* (Carrière) Harms após seis meses de cultivo em diferentes concentrações de cálcio (0; 0,75; 1,5; 3; 4,5; e 6 Mm). Letras diferentes comparam os parâmetros na horizontal e indicam que os valores são significativamente diferentes de acordo com o teste Tukey a 5% de probabilidade.

	Tratamentos (mM de Ca)					
	0	0,75	1,5	3	4,5	6
Número de folhas	14 a	14 a	13 a	14 a	14 a	16 a
Comprimento da parte aérea (cm)	8,47 b	8,10 b	8,28 b	10,31 a	10,66 a	6,71 c
Massa fresca da parte aérea por planta (g)	0,277 b	0,259 b	0,259 b	0,548 a	0,627 a	0,430 ab
Massa seca da parte aérea por planta (g)	0,022 b	0,018 b	0,049 a	0,035 ab	0,045 a	0,037 ab
Comprimento da raiz (cm)	2,81 a	1,93 ab	1,71 ab	1,45 b	1,53 ab	1,36 b
Massa fresca da raiz por planta (g)	0,040 b	0,041 b	0,043 b	0,122 a	0,051 b	0,42 b
Massa seca da raiz por planta (g)	0,008 a	0,004 b	0,009 a	0,006 a	0,007 a	0,005 a



**Figura 2:** Quantidade de pigmentos fotossintéticos (clorofila a, b e carotenóides) de *Alcantarea imperialis* após 6 meses de cultivo nas concentrações 0; 0,75; 1,5; 3; 4,5; e 6 mM de cálcio. Letras diferentes indicam que os dados são significativamente diferentes de acordo com o teste Tukey a 5 % de probabilidade para um mesmo pigmento.