

Efeitos do déficit hídrico em plantas de *Acanthostachys strobilacea* (Schultz f.) Klotzsch (Bromeliaceae) cultivadas *in vitro*

Fernanda de Oliveira Menezes⁽¹⁾, Camila Pereira Carvalho⁽¹⁾ & Catarina Carvalho Nievola

⁽¹⁾ Núcleo de Pesquisa em Plantas Ornamentais, Instituto de Botânica de São Paulo. E-mail para contato: nanda_menez@hotmail.com

Resumo: Os eventos associados ao aquecimento global envolvem um cenário com ondas de calor mais frequentes e consequente menor disponibilidade hídrica. Devido à capacidade que as bromélias epífitas têm de sobreviver em ambientes sujeitos a episódios de falta de água, podem ser consideradas candidatas a serem tolerantes à essa condição. O objetivo deste trabalho foi avaliar a sobrevivência e crescimento de plantas da bromélia ornamental epífita *Acanthostachys strobilacea* mantidas em cultivo sob diferentes potenciais hídricos com uso de Polietilenoglicol (PEG-6000), de modo a simular a condição de falta de água. Foram utilizadas concentrações crescentes de PEG adicionadas ao meio MS/5 (macronutrientes reduzidos a 1/5) líquido durante 42 dias de cultivo. Os resultados revelaram 100% de sobrevivência nas plantas mantidas em todos os tratamentos, apesar de terem apresentado redução nos parâmetros foliar e radicular em número e comprimento. Conclui-se que *A. strobilacea* é uma espécie tolerante ao déficit hídrico imposto pelo PEG até valores de potencial de -6,93 MPa, condição que simula severa falta de água. Os resultados indicam que essa espécie pode constituir-se modelo para estudo de estresses ambientais relacionados ao déficit hídrico.

Palavras-Chave: Bromélia, polietilenoglicol, estresse e sobrevivência.

INTRODUÇÃO

O fornecimento de água adequado é um dos principais responsáveis pelo crescimento vegetal (Janská *et al.* 2010). A avaliação do crescimento das plantas pode indicar adaptações às condições de seca, pois a resistência a este tipo de estresse é um processo que envolve características complexas, que estão ligadas com a tentativa de adiar ao máximo um decréscimo no potencial hídrico do protoplasma (Paiva & Oliveira 2006). A

carência hídrica não limita apenas a dimensão das folhas individuais, mas também o número de folhas de uma determinada planta (Janská *et al.* 2010).

Considerando que os eventos associados ao aquecimento global envolvem um cenário com ondas de calor mais frequentes e consequente menor disponibilidade hídrica, investigar a influência da falta de água sobre o crescimento das plantas pode contribuir para identificar espécies a serem utilizadas como modelos para estudos fisiológicos. As espécies de Bromeliaceae podem ser candidatas a esse tipo de investigação, pois vários representantes da família ocupam uma diversidade de ambientes, desde mesofílicos até xéricos, apresentando diversas adaptações em relação a disponibilidade hídrica (Smith & Downs 1974). *Acanthostachys strobilacea* (Schultz f.) Klotzsch é uma espécie de ampla distribuição pertencente à subfamília Bromelioideae. Pode ser encontrada como saxícola ou epífita, desenvolvendo-se preferencialmente nas bifurcações dos troncos (Reitz 1983), nos domínios do Cerrado e Mata Atlântica (Stehmann *et al.* 2009), estando sujeita a episódios de falta de água, o que indica a existência de mecanismos de adaptações aos efeitos do déficit hídrico, o que torna interessante estudos relacionados a este aspecto com *A. strobilacea*, ainda mais considerando que a maioria dos estudos que investigam os efeitos da falta de água avaliam plantas terrícolas (Dias *et al.* 2008).

A partir de estudos realizados no Núcleo de Pesquisa em Plantas Ornamentais, foi estabelecido um protocolo para cultivo *in vitro* de *A. strobilacea* (Santos *et al.* 2010). Essa técnica tem permitido o desenvolvimento de estudos de fisiologia por estabelecer o controle de fatores como fornecimento de luz, nutrientes e temperatura, tornando possível inclusive simular a condição de menor disponibilidade hídrica por adição de polietilenoglicol (PEG 6000) ao meio de cultura (Barbero *et al.* 2011, Oliveira *et al.* 2009; Pereira *et al.* 2009; Stefanuto *et al.* 2002), estabelecendo as

condições de potenciais hídricos entre 1% e 45% de PEG.

O objetivo deste trabalho foi avaliar a sobrevivência e crescimento de plantas da bromélia ornamental epífita *Acanthostachys strobilacea* mantidas em cultivo sob diferentes potenciais hídricos com uso de polietilenoglicol (PEG-6000), de modo a simular a condição de falta de água.

MATERIAL E MÉTODOS

Obtenção das plantas a partir da germinação in vitro

Foram utilizadas sementes de *Acanthostachys strobilacea* (Schultz f.) Klotzsch provenientes de plantas existentes na Reserva Biológica e Estação Experimental de Mogi-Guaçu, região de Cerrado.

As sementes foram submetidas a um protocolo de desinfestação (Santos *et al.* 2010) e foram depositadas em frascos contendo 40 ml de meio nutritivo Murashige & Skoog (1962), cuja concentração dos macronutrientes foi reduzida a 1/5 da formulação original (MS/5), adicionado de 2% de sacarose, 100 mg L⁻¹ de myo-inositol, 0,1 mg L⁻¹ de tiamina e 5 mg de ágar. O pH foi ajustado para 5,8.

Foram utilizados 80 frascos contendo cinco sementes em cada, mantidos em câmaras de crescimento (tipo BOD) ajustada para 25 °C, fotoperíodo de 12 horas e irradiância de 40 μmol m⁻² s⁻¹, até que as plantas originárias da germinação das sementes atingissem em torno de 2 cm de altura, conforme descrito em Figueiredo (2003).

Cultivo in vitro sob diferentes potenciais hídricos: uso do PEG

Plantas provenientes da germinação de sementes (descrita anteriormente) com 2 cm de altura, foram transferidas para novo meio de cultura líquido (sem ágar) (MS/5) ao qual foram adicionadas diferentes quantidades de PEG 6000, compondo os seguintes tratamentos: DH1= 7,5% de PEG (-0,73 MPa); DH2= 15% de PEG (-1,32 MPa); DH3= 30% de PEG (-6,93 MPa). Foram depositadas também plantas em frascos contendo somente água (DH4) e somente meio MS/5 líquido (DH5).

Para cada frasco foram adicionados 20 ml de meio de cultura. Em todos os tratamentos o pH foi ajustado para 5,8 e todos foram esterilizados em autoclave por 15 min a 120 °C. Foram utilizadas 30 repetições (frascos) por tratamento

contendo cinco plantas em cada, os frascos foram mantidos em temperatura de 25 °C ± 2 °C em câmaras do tipo BOD. Foram realizadas coletas semanais de 25 plantas por tratamento após os seguintes períodos de cultivo: 7, 14, 21 e 28 dias após o início do cultivo ao longo dos 42 dias de experimento.

Parâmetros avaliados e Análise estatística

As plantas foram avaliadas quanto à porcentagem de sobrevivência, número e comprimento das folhas e raízes, massa fresca e seca das partes aérea e radicular.

Os teores de clorofila (a e b) e carotenoides foram analisados segundo metodologia descrita por Lichtenthaler (1987).

As médias dos dados biométricos e dos resultados da avaliação dos pigmentos das plantas foram submetidas à análise de variância (ANOVA), seguida pelo teste de Tukey com nível de significância a 5%.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As plantas mantidas nas diferentes quantidades de PEG ao longo de 42 dias, apresentaram 100% de sobrevivência em todos os tratamentos.

As análises dos parâmetros de crescimento estão mostradas na Tabela 1, após o período de 42 dias de cultivo *in vitro*. Foi possível observar que as plantas de *A. strobilacea* mantidas sob os diferentes potenciais hídricos, apresentaram alterações no número de folhas e redução do comprimento foliar conforme descrito nos trabalhos de Bohnert (1995) e redução no número e comprimento da raiz nas plantas mantidas no tratamento DH3 quando comparadas aos tratamentos DH 1, 2, 4 e 5 (Tabela 1), o que pode estar relacionado a mecanismos adaptativos em casos de déficit hídrico severo (Pimentel 2004).

As avaliações de massa seca e fresca estão expressas nas Tabelas 2 e 3. Os resultados mostram que as plantas cultivadas no tratamento DH3 apresentaram os menores valores tanto para massa fresca como massa seca na parte aérea e radicular quando comparadas aos outros tratamentos.

De maneira a avaliar a influência de diferentes quantidades de PEG 6000 sobre o estado nutricional nitrogenado de *A. strobilacea*, foi realizada a comparação das quantidades de pigmentos fotossintéticos (Tamaki *et al.* 2007) após 42 dias de cultivo. A Tabela 3 mostra que as plantas submetidas ao estresse hídrico apresentaram alterações em seu nível de clorofila a e b e carotenoides (Stefanuto 2002). As plantas provenientes do tratamento DH3

apresentaram uma diminuição na produção de pigmentos fotossintetizantes, o que pode ter ocorrido devido ao déficit hídrico que pode afetar o potencial fotossintético das plantas (Pimentel 2004).

CONCLUSÕES

Concluiu-se que essa espécie é tolerante aos diferentes potenciais hídricos, durante 42 dias de cultivo até o valor de -6,93 MPa que simula condição de severa falta de água. Esta espécie pode constituir-se modelo de tolerância para estudo de estresses ambientais que resultem na falta de água.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao CNPq e CAPES pelas bolsas concedidas a F.O. Menezes e C.P. Carvalho, respectivamente.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Barbero, A.P.P., Barros, F., Silva, E.A. & Suzuki, R.M.** 2011. Influência do déficit hídrico na germinação de sementes e no desenvolvimento inicial de três espécies de Pleurothallidinae (Orchidaceae). *Revista Brasileira de Botânica* 34 (4): 593-601.
- Bohnert, H.J., Nelson, D.E. & Jensen, R.G.** 1995. Adaptations to environmental stresses. *The Plant Cell* 7: 1099-1111.
- Dias, L.B.** 2008. Água na planta. Monografia, Universidade Federal de Lavras, Lavras.
- Figueiredo, M.L.** 2003. Desenvolvimento de protocolos para propagação *in vitro* de três espécies de Bromeliaceae nativas do Brasil. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia). Universidade Federal de Viçosa. 57p.
- Janská, A., Marsík, P., Zelenková, S. & Ovesná, J.** 2010. Cold stress and acclimation – what is important for metabolic adjustment. *Plant Biology* 12: 395-405.
- Lichtenthaler, H.K.** 1987. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. *In: L. Packer & R. Douce (eds). Methods in enzymology.* Academic Press, London. pp. 350-382.
- Murashige, T. & Skoog, F.** 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum* 15: 473-497.
- Paiva, R & Oliveira, L.M.** 2006. Fisiologia e Produção Vegetal. Lavras. Ed.UFLA. 104 p.
- Pereira, A.R, Andrade, A.C. S, Pereira, T.S, Forzza, R.C & Rodrigues, A.S.** 2009. Comportamento germinativo de espécies epífitas e rupícolas de Bromeliaceae do Parque Estadual do Ibitipoca, Minas Gerais, Brasil.
- Pimentel, C.** 2004. A relação da planta com a água. Seropédica, Rio de Janeiro.
- Reitz, R.** 1983. Bromeliaceae e malária-bromélia endêmica. Série 983. Flora Ilustrada Catarinense, Itajaí.
- Santos, D.S., Tamaki, V. & Nievola, C.C.** 2010. *In vitro* propagation of the ornamental bromeliad *Acanthostachys strobilacea* (Schult. f.) Klotzsch via nodal segments. *In Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant.* 46: 524–529.
- Stefanuto, V.A.** 2002. Efeito do cálcio na homeostase de brotações de um clone de *Eucalyptus grandis* hill (*ex* Maiden) sob condições de deficiência hídrica induzida *in vitro*. Dissertação de Mestrado. Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba.
- Stehmann, J. R. Forzza R. C. Salino, A. Sobral, M. Costa, D.P & Kaino, L.H.Y.** 2009. Plantas da Floresta Atlântica. Jardim Botânico do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.
- Smith, L.B. & Downs, R.J.** 1974. Pitcairnioideae. *Flora Neotropica* 14: 1–658.
- Tamaki, V., Mercier, H. & Nievola, C.C.** 2007. Cultivo *in vitro* de clones de *Ananas comosus* (L.) Merrill cultivar ‘Smooth Cayenne’ em diferentes concentrações de macronutrientes. *Hoehnea* 34 (1): 69-73.

Tabela 1. Crescimento de *Acanthostachys strobilacea* (Schultz f.) Klotzsch sob diferentes concentrações de PEG. (NF) número de folhas, (CF) comprimento da maior folha, (NR) número de raízes, (CR) comprimento da maior raiz. Médias acompanhadas por letras distintas minúsculas que indicam diferenças significativas pelo teste de Tukey em nível de significância de 5%.

Tratamentos	NF (un)	CF (cm)	NR (un)	CR (cm)
DH 1	6,0 ab	4,1 b	3,0 b	6,8 a
DH 2	6,0 a	3,3 c	4,0 a	6,1 b
DH 3	2,0 d	1,9 d	3,0 b	2,6 d
DH 4	4,0 c	4,3 b	3,0 b	3,7 c
DH 5	5,0 d	6,2 a	4,0 a	6,4 a

Tabela 2. Acúmulo de massa fresca para plantas mantidas em 25 °C durante 42 dias de cultivo em diferentes concentrações de Polietilenoglicol (PEG 6000).

Tratamentos	Massa Fresca (g)		Massa Seca (g)	
	Parte aérea	Parte radicular	Parte aérea	Parte radicular
DH 1	0,1070	0,0550	0,0067	0,0053
DH 2	0,0928	0,0600	0,1699	0,0076
DH 3	0,0200	0,0333	0,0039	0,0048
DH 4	0,0640	0,0168	0,0040	0,0019
DH 5	0,1205	0,0320	0,083	0,0035

Tabela 3. Resultados de clorofila para plantas mantidas *in vitro* em meio MS/5, nas diferentes concentrações de Polietilenoglicol. Os resultados estão expressos em µg/g massa fresca.

Tratamentos	DH 1	DH 2	DH 3	DH 4	DH 5
Clorofila a	0,18	16,93	2,28	7,46	7,55
Clorofila b	0,07	6,57	1,00	0,54	3,09
Carotenoides	0,04	1,66	0,84	2,73	1,96