

ESTRATÉGIAS PARA O ESTABELECIMENTO DE CULTIVO *IN VITRO* DO BAMBU NATIVO *Guadua spp.* NO SUDOESTE DA AMAZÔNIA

Janaina Medeiros Vasconcelos¹; Renata Beltrão Teixeira²; Andrea Raposo³; Paulo Cesar Poeta Fermino Junior⁴

¹UNINORTE, Centro Universitário do Norte, graduação em Ciências Biológicas e-mail: janamv_88@hotmail.com

²Analista da Embrapa Acre, Laboratório de Morfogênese e Biologia Molecular e-mail: beltrão@cpafac.embra.br

³Pesquisadora da Embrapa Acre, Laboratório de Morfogênese e Biologia Molecular e-mail: andrea@cpafac.embrapa.br

⁴Universidade Federal do Acre, Centro de Ciências Biológicas e da Natureza e-mail: poetabio@hotmail.com

Resumo

O Bambu (*Guadua spp.*) é um recurso renovável que tem sido sugerido como alternativa para diminuição do desmatamento. Apresenta importância econômica, social e ambiental, podendo ser utilizado por vários setores tais como: papel e celulose, construção civil, móveis, artesanato, laminação e outros. O objetivo desse trabalho foi avaliar o efeito de diferentes concentrações de hipoclorito de sódio no estabelecimento *in vitro* desta espécie. Segmentos nodais foram coletados de plantas localizadas em casa de vegetação e conduzidos para o laboratório, onde foram lavados em água corrente por 10 minutos, enxaguados duas vezes com água destilada e autoclavada. O material foi conduzido para câmara de fluxo laminar onde foi mergulhado em álcool a 70% por um minuto. Após este procedimento os mesmos foram mergulhados em solução de hipoclorito de sódio contendo várias concentrações (0; 1; 1,5; 2 e 2,5%) por 24 horas. Em seguida, os explantes foram lavados cinco vezes com água destilada autoclavada, seccionados sob água e introduzidos em tubos de ensaio contendo meio de cultura MS, suplementado com sacarose (30 g.L⁻¹) e solidificado com ágar (6 g.L⁻¹). Após 30 dias os resultados indicam que apesar de alguns tratamentos terem apresentado baixos níveis de contaminação por fungos, a necrose pela exposição ao hipoclorito de sódio foi elevada. Observou-se o desenvolvimento de bactérias em todos os tratamentos. Com o presente trabalho pode se concluir que a imersão em solução de hipoclorito de sódio por 24 horas não foi eficiente para controlar as contaminações nesta espécie, além de promover a morte por necrose nos explantes.

Palavras-chave: desinfestação; micropropagação; estabelecimento *in vitro*

Abstract

Bamboo (*Guadua spp.*) is a renewable resource that has been suggested as an alternative to reduce deforestation. It has economic, social and environmental importance through use by various sectors, such as paper and cellulose, civil construction, furniture, handicraft, lamination, among others. The objective of this work was to evaluate the effect of different concentrations of sodium hypochlorite on *in vitro* establishment of this species. Nodal segments were collected from greenhouse plants that were brought to the laboratory, where they were washed in running water for 10 minutes and rinsed twice with sterile distilled water. The material was brought to the laminar flow chamber where it was immersed for one minute in a 70% alcohol solution. After this procedure, the nodes were immersed in a sodium hypochlorite solution of different concentrations (0; 1; 1.5; 2 and 2.5%) for 24 hours. After that, the nodes were washed five times with sterile distilled water, sectioned in water, and introduced in an assay tube that contained a MS medium supplemented with sucrose (30 g.L⁻¹) and solidified with agar (6 g.L⁻¹). After 30 days, results indicate that although some treatments presented low levels of fungal contamination, there was substantial necrosis from exposure to sodium hypochlorite. The development of bacteria was observed in all treatments. It can be concluded that immersion in the sodium hypochlorite solution for 24 hours was not sufficient to control contamination in this species and led to death through nodal necrosis.

Keywords: desinfestation; micropropagation; *in vitro* establishment

Introdução

O bambu espécie pertencente à família das gramíneas (Poaceas) é utilizado para diversos fins, desde o simples artesanato até a produção de papel de alta resistência e produção de energia. De acordo com Santos (2010) apesar de fazer parte da paisagem rural brasileira, a maior parte dos gêneros e espécies de bambus encontrados no Brasil é de origem asiática, tendo sido trazidos por colonos portugueses (*Dendrocalamus* e *Bambusa*) e, a mais recentemente, por imigrantes asiáticos (*Phyllostachys*). Apenas algumas espécies de bambus ocorrem naturalmente no Brasil, sendo denominadas por tabocas (BERALDO et al., 2003)

Os bambus do gênero *Guadua* são endêmicos das Américas (SILVA, 2005), apresentam grande importância social, econômica e cultural. Estas espécies podem ser consideradas como uma alternativa devido as suas características de adaptabilidade, versatilidade, além de ser um recurso totalmente renovável, caracterizando-se assim como uma alternativa viável de baixo custo econômico, podendo ser utilizado desde a construção civil até preservação ambiental (SANTOS, 2010). É com ele que se obtém no reino vegetal a maior rapidez e produtividade de biomassa. Inclusive é uma das plantas de maior eficiência no resgate de CO₂, podendo contribuir significativamente para a diminuição do efeito estufa, prestar uma grande diversidade de serviços ambientais, como a recuperação de áreas ambientalmente degradadas, o controle da erosão e do assoreamento de corpos d'água, o enriquecimento físico e químico de solos e outros (FIALHO et al., 2005).

Embora seja uma gramínea, apresenta características agrônômicas e tecnológicas que o torna uma matéria-prima alternativa a madeira capaz de fazer frente às demandas emergente de diversos setores da indústria de base florestal. Na Ásia, Colômbia e Equador existe produção em grande escala de painéis, móveis, papel e tecidos provenientes do bambu. Na Índia, China e Colômbia esta planta está inclusa em programas governamentais e pesquisas relacionados ao seu cultivo e aproveitamento industrial (SILVA, 2005).

O uso de bambu em construção de casas populares e residências rurais poderá ser um instrumento valioso na preservação ambiental e de reservas naturais, uma vez que não há restrições para seu corte, que pode ser realizado por mais de 100 anos (SANTOS, 2010).

Segundo Ghavami e Marinho (2002) citado por Santos (2010), no Brasil, existem inúmeras espécies de bambu, atestadas por alguns pesquisadores, como material de grande potencial, baixo custo, fácil de ser trabalhado, caracterizando-se, portanto, como uma opção viável, além de se tratar de recurso auto-sustentável.

A propagação do bambu por sementes se torna inviável para a maioria das espécies, por exemplo, o gênero *Guadua* floresce entre 30 a 100 anos, sendo 95% das sementes inférteis (UBIDIA, 2006; citado por FONSECA, 2007), sendo a propagação vegetativa é a única alternativa, podendo ser realizada por separação de colmos, rizomas, galhos ou através do cultivo *in vitro*.

Dentre as metodologias existentes, a cultura de tecidos *in vitro* surge como uma ferramenta que possibilita a multiplicação rápida de plantas de um mesmo genótipo a um custo reduzido e com menor tempo do que os sistemas convencionais, além da alta qualidade sanitária (GEORGE, 1996). Tudo realizado sob condições assépticas e controladas independentemente das influências sazonais (MATOS JUNIOR, 2004).

O cultivo de tecidos vegetais é fundamentado em alguns princípios, sendo os mais importantes: a capacidade de totipotência celular, ou seja, cada célula pode gerar uma nova planta com as mesmas características da planta matriz, e a hipótese do balanço hormonal (SKOOG & MILLER, 1957), onde o desenvolvimento do explante depende do controle da interação entre as concentrações de auxinas e citocininas (GEORGE, 1996).

O objetivo desse trabalho foi avaliar o efeito de diferentes concentrações de hipoclorito de sódio no estabelecimento *in vitro* de explantes visando a micropropagação da espécie.

Material e Métodos

Segmentos nodais foram coletados de plantas localizadas em casa de vegetação do campo experimental da Embrapa Acre e conduzidos para o Laboratório de Morfogênese e Biologia Molecular.

Para a desinfestação o material foi lavado em água corrente por 10 minutos, enxaguados duas vezes com água destilada e autoclavada. Foi então conduzido para câmara de fluxo laminar onde foi mergulhado em álcool etílico a 70% por um minuto. Após este procedimento os segmentos nodais foram imersos em solução de hipoclorito de sódio (NaOCl) contendo várias concentrações por um período de 24 horas (Tabela 1) onde permaneceram a temperatura ambiente e em câmara de fluxo laminar.

Tabela 1: Tratamentos com varias concentrações de hipoclorito de sódio (NaOCl).

TRATAMENTOS	CONCENTRAÇÕES DE NaOCl
T1	0
T2	1%
T3	1,5%
T4	2%
T5	2,5%

Em seguida, o material foi lavado cinco vezes com água destilada autoclavada, seccionado sob água e introduzidos em tubos de ensaio (25 x 150mm) contendo 10 mL de meio de cultura MS, suplementado com sacarose (30 g.L⁻¹) e solidificado com ágar (6 g.L⁻¹). As condições de cultivo foram em sala de crescimento, sob temperatura 25±2°C, fotoperíodo de 16 horas e irradiância de 30 μmol. m⁻².s⁻¹, fornecidas por lâmpadas do tipo fluorescente branca fria.

As avaliações foram realizadas após 30 dias, as variáveis analisadas foram: a porcentagem de contaminações por fungos e bactérias, necrose e germinação dos explantes. Os dados foram tabulados e o gráfico foi gerado no Excel.

Resultados e Discussão

A micropropagação de espécies lenhosas tem sido um dos grandes desafios para a área da Biotecnologia, principalmente na fase inicial do estabelecimento do cultivo *in vitro*. Tem-se dificuldades na obtenção de tecidos livres de contaminações provocadas por fungos, bactérias e também a oxidação provocada pelos compostos fenólicos (GRATTAPAGLIA & MACHADO, 1998; THORPE et al., 1991).

Vários autores têm descrito dificuldades na micropropagação destas espécies, principalmente quando se trata da organogênese direta onde as plantas são oriundas do campo. No presente trabalho estas dificuldades também foram encontradas. Como mostra a Figura 1 alguns tratamentos apresentaram baixos níveis de contaminação por fungos e necrose pela exposição ao hipoclorito de sódio elevada.

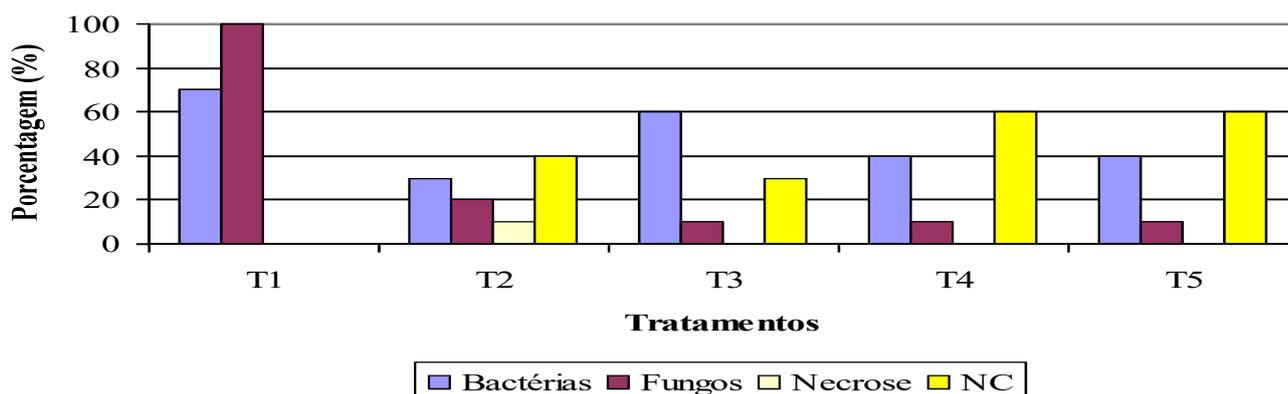


Figura 1. Porcentagem de contaminação e necrose em explantes retirados de segmentos nodais de bambu (*Guadua spp.*) submetidos aos diferentes tratamentos de desinfestação. NC – não contaminado.

Observou-se o desenvolvimento de bactérias em todos os tratamentos, os explantes que não foram contaminados morreram por necrose. Deste modo, o hipoclorito de sódio não foi eficiente na desinfestação e sobrevivência dos explantes primários de *Guadua spp* durante seu estabelecimento *in vitro* nas concentrações e tempo testado. Diferentemente do que foi observado por García et al. (2004), onde o método de desinfestação baseado na utilização de hipoclorito de sódio a 2% durante 5 minutos foi adequado para o estabelecimento *in vitro* dos explantes primários de *Guadua angustifolia* Kunth.

Segundo Mantovani et al. (1999), o cultivo de plantas fornecedoras de explantes em condições controladas é essencial para o estabelecimento *in vitro*. Estes autores verificaram que segmentos nodais de caixeta, oriundos de plantas estabelecidas em casa de vegetação apresentam menores índices de contaminação do que o material vindo do campo. A retirada do material da casa de vegetação minimizou a contaminação por fungos, porém não a bacteriana o que indica possivelmente que estas são endógenas a espécie. Estudos com a finalidade da eliminação destas bactérias já estão em andamento, para que em um futuro próximo possa se ter um protocolo de micropropagação desta espécie.

Conclusões

Com o presente trabalho pode se concluir que a imersão em solução de hipoclorito de sódio por 24 horas não foi eficiente para controlar as contaminações desta espécie, além de promover a morte por necrose nos explantes.

Agradecimentos

Ao financiador do projeto CNPq e a EMBRAPA ACRE pela oportunidade.

Referencias Bibliograficas

GARCIA, M. B.; ARALUCE, C. R.; RUBIO, Y. C.; RODRIGUEZ, S. M.; FERIA, R.V. Efecto de diferentes métodos de desinfección em El estabelecimento in vitro de *Guadua angustifolia* Kunth. **Biotechnologia Vegetal**, v. 4, n. 237-242, Oct./Dic., 2004.

GEORGE, E.F. **Plant propagation by tissue culture**. Exegetics, Edington. v.1, 555p. 1996.

GRATTAPAGLIA, D. ; MACHADO, M. Micropropagação. In: TORRES, A.C.; CALDAS, L.S.; BUSO, J.A. [e.d.]. **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: EMBRAPA, 1998, p.183-260. v.1.

FIALHO, E. G.; TONHOLO, J.; SILVA, A. L. P. Desenvolvimento da Cadeia Produtiva do Bambu: Uma Oportunidade Para Empreender. Disponível em: <<http://www.redetec.org.br/publique/media/cadeia%20produtiva%20de%20bambu.pdf>>. Arquivo capturado em 22 de julho de 2010 às 15h e 30min.

FONSECA, F. .K.P. da. *Produção de mudas de bambu Guadua angustifolia* Kunth (Poaceae) por propagação vegetativa. (Dissertação: Mestrado em Agronomia – Produção Vegetal) - Universidade Federal de Alagoas, Rio Largo, 1997. 58p.

MANTOVANI, N.C.; FRANCO, E.T.H.; GUERRA, M.P.; HOPPE, J.M. Micropropagação de caixeta, *Didymonax morototoni* (Albl.) Dcne. Et Planch. **Revista Florestal**. v. 9, n. 1, p. 47-61. 1999.

MATOS JUNIOR, S. M. S. Bambus como recurso florestal suas aplicações, manejo, silvicultura, propagação, entomologia e a situação no DF. Disponível em: <<http://www.bambubrasileiro.com/arquivos/Bambus%20Recurso%20Florestal%20DF%20-%20Sergio%20Safe%202004.pdf>>. Arquivo capturado em 22 de julho de 2010 às 17h e 30 min.

SANTOS, D. O. Combinação da técnica de divisores de água e casamento de modelos para contagem de carunchos. Disponível em: <<http://www.gpec.ucdb.br/pistori/orientacoes/planos/douglas2010.pdf>>. Arquivo capturado em 22 de julho de 2010 às 15h.

SILVA, R. M. de C. O BAMBU NO BRASIL E NO MUNDO. Disponível em: <http://www.embambu.com.br/imagens/bambu_brasil_mundo.pdf>. Arquivo capturado em 22 de Julho de 2010 às 16h e 30min.

SKOOG, F. & MILLER, C.O. Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissue cultured *in vitro*. **Symp. Soc. Exp. Biol.**, **11**: 118-130. 1957.

THORPE, T.A.; HARRY, I.S.; KUMAR, P.P. Application of micropropagation to forestry. In: DEBERGH, P.C.; ZIMMERMAN, R. H. Micropropagation: technology and application. Dordrecht: Kluwer Academic Press, 1991. p. 311-336.