

Propagação *in vitro* de espécies da caatinga

Ana Valéria Vieira de Souza¹, Micaele da Costa Santos^{2*}

RESUMO - A Caatinga é o único bioma exclusivamente brasileiro, o principal da região Nordeste, e ocupa 11% do território do país, nele são encontradas varias espécies endêmicas. A atividade antrópica de forma desordenada e indiscriminada tem levado muitas espécies a serem incluídas na lista de vulneráveis a extinção. Apesar da importância biológica, a Caatinga é um dos biomas que possuem menos áreas de unidades de conservação e os estudos científicos ainda são mínimos se comparado ao seu imenso acervo genético vegetal, o que torna necessário o estabelecimento de ações voltadas à preservação e conservação deste bioma. Diante dessa problemática, a biotecnologia se insere como instrumento de promoção de desenvolvimento sustentável, dentre as técnicas biotecnológicas, a cultura de tecidos de plantas se apresenta como forma auxiliar e complementar aos métodos convencionais. A micropropagação se baseia na totipotencialidade das células vegetais, onde uma célula se diferencia e forma uma planta. Como o sucesso na tecnologia e aplicação de métodos *in vitro* está diretamente ligado a um maior conhecimento das exigências das células e tecidos cultivados são essas necessidades que vem guiando as pesquisas na busca da otimização de protocolos para muitas espécies vegetais.

Termos para indexação: biodiversidade, biotecnologia e nativas.

In vitro propagation of caatinga species

ABSTRACT - The Caatinga is the only exclusively Brazilian biome, the principal of the Northeast, and occupies 11% of the territory of the country, there are many endemic species found. The anthropogenic disorderly and indiscriminate has led many species to be listed as vulnerable to extinction. Despite the biological importance, is one of the Caatinga biomes that have fewer areas of conservation and scientific studies are still minimal compared to its immense plant gene pool, which makes it necessary to establish actions for preservation and conservation of this ecosystem . Faced with this problem, biotechnology falls as a tool to promote sustainable development, among biotechnological techniques, tissue culture

¹Embrapa Semiárido, Caixa Postal 23, 56302-970 – Petrolina, PE, Brasil.

²Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais, UEFS, 44036-900 – Feira de Santana, BA, Brasil.

*Autor para correspondência < micacostal@hotmail.com>

plants is presented as a way to assist and complement conventional methods. Micropropagation is based on totipotentiality plant cells, where a cell differentiates and forms a plant. Because success in technology and application of *in vitro* methods is directly linked to a greater knowledge of the requirements of cultured cells and tissues are those needs that has guided research in the quest for optimization of protocols for many plant species.

Index terms: biodiversity, biotechnology and native.

Introdução

O bioma Caatinga

A Caatinga é o único bioma exclusivamente brasileiro e o principal da região Nordeste, abrangendo também parte do Norte do Estado de Minas Gerais. Com uma área de aproximadamente 844.453 Km² compreende 11% do território do país e possui uma população de 27 milhões de pessoas (Prado, 2003; MMA, 2012). É um ecossistema onde os estudos científicos ainda são incipientes e estão aquém do necessário, quando comparados ao imenso acervo genético vegetal aí existente.

Nesse ecossistema são encontrados 932 espécies de plantas, em que diversas são endêmicas. A Caatinga tem sido apontada como o bioma brasileiro mais crítico no que se refere à conservação. Aproximadamente, 80% de sua área já foi antropizada, com extensas áreas degradadas e sua biodiversidade significativamente reduzida (MMA, 2012). Essas atividades antrópicas estão mudando fundamentalmente, às vezes, de forma irreversível, a diversidade da vida no planeta (Boff, 2010; MCT, 2010).

Como consequência da degradação ambiental e da falta de preservação, muito já se perdeu em biodiversidade da Caatinga, levando várias espécies a serem classificadas como vulnerável a extinção dentro dos parâmetros da legislação brasileira através das Portarias do IBAMA n° 83 (26/09/91) e n° 37-N (3/04/1992) que lista várias espécies da flora e fauna da Caatinga.

O estabelecimento de ações voltadas para a preservação e conservação deste bioma são urgentes e necessárias. Porém, não é uma tarefa simples e vários obstáculos precisam ser superados. Apesar da Caatinga ser o único bioma exclusivamente brasileiro e intensamente antropizado, isso não tem sido considerado efetivamente nas políticas para o estudo e a conservação da biodiversidade do país, além deste ser o bioma que possui menos áreas de unidades de conservação.

De acordo com Silva et al. (2003), apesar de sua biodiversidade ainda ser mal conhecida, é mais diversa que qualquer outro bioma no mundo, que esteja exposto às mesmas condições de clima e de solo. A diversidade de

espécies vegetais da Caatinga é riquíssima e sua vegetação pode ser caracterizada como florestas arbóreas ou arbustivas, compreendendo principalmente árvores e arbustos baixos, muitos dos quais apresentam espinhos, microfilia e algumas características xerofíticas. Entre as famílias mais representativas encontradas neste bioma, destacam-se a Leguminosae, Apocynaceae, Euphorbiaceae, Anacardiaceae, Bignoniaceae, dentre outras (Andrade et al. 2007).

A produção de plantas in vitro

Entre os diversos procedimentos biotecnológicos, o ramo da biologia celular e particularmente a cultura de tecidos é o que mais êxito alcançou, inclusive por ser o que vem sendo estudado há mais tempo. A cultura de tecidos envolve um grupo heterogêneo de técnicas que têm sido empregadas não apenas em estudos básicos da biologia das plantas como também abrange recentes e importantes métodos que permitem a propagação de plantas isentas de vírus e outros patógenos sistêmicos ou não e a geração de novos genótipos em laboratório (Souza et al., 2006). Permite ainda aperfeiçoar a interação entre fatores abióticos (nutricionais, luminosos, temperatura etc.) e bióticos (hormonais e genéticos), resultando em plantas saudáveis, vigorosas e geneticamente superiores, que podem ser multiplicadas massivamente.

A manipulação de plantas *in vitro* possui inúmeras finalidades, como manipulação genética, estudos em fisiologia vegetal, estudos das rotas metabólicas para produção de metabólitos secundários daquelas espécies com potencial medicinal, cultura de células e tecidos, dentre outras.

A propagação *in vitro* de plantas, também é conhecida como micropropagação devido o tamanho dos propágulos utilizados. A técnica é baseada na totipotencialidade da célula vegetal, ou seja, na sua capacidade de, por si só, originar uma nova planta, devido às mesmas encerrarem em seu núcleo, toda informação genética para isto (Grattapaglia e Machado, 1998), o que confere a manutenção das características de interesse da planta matriz e possibilita a obtenção de elevado número de plantas em curto período de tempo e espaço reduzido em excelentes condições fitossanitárias.

A micropropagação se baseia em utilizar um fragmento de tecido vegetal, retirado de uma planta matriz, que permitirá a regeneração de novas plantas em meio nutritivo e condições assépticas, com condições controladas de temperatura e luminosidade. Estes propágulos (explantes) poderão ser meristemas, gemas apicais e laterais, sementes e outros explantes com tecido meristemáticos.

A via de regeneração *in vitro* pode ocorrer de duas maneiras – organogênese direta e organogênese indireta. Na primeira, ocorre a formação de nova planta de maneira direta, sem passar pela fase intermediária de calos. Na segunda via, pode ocorrer a formação de calos (aglomerado desordenado de células), e posteriormente a regeneração. Quando o objetivo é a produção de mudas mantendo as características de interesse da planta de onde se retirou o explante, deve-se dar preferência para a organogênese direta, pois durante a passagem intermediária pela fase de calos, poderão ocorrer alterações na constituição genética do material, devido o fenômeno da variação somaclonal. Nesse caso, os novos indivíduos regenerados *in vitro*, poderão não ser idênticos à planta matriz e, portanto, a manutenção das características de interesse poderá ser afetada (Grattapaglia e Machado, 1998).

O sucesso na tecnologia e aplicação de métodos *in vitro* depende de um maior conhecimento das exigências das células e tecidos cultivados, ou seja, otimização de protocolos que permitirão a propagação em larga escala da espécie de interesse. Contudo, o sucesso no estabelecimento desses protocolos de micropropagação, está diretamente relacionado à diversos fatores como o genótipo estudado, a concentração endógena de hormônios e exógena dos reguladores vegetais, a condição nutricional e fitossanitária da planta matriz de onde obteve-se o explante, o tipo de meio de cultura a ser utilizado em laboratório, dentre outros.

A fase inicial de estabelecimento do explante *in vitro*, é realizada em meio de cultura básico e, normalmente, isento de reguladores vegetais. Nas fases subsequentes de multiplicação e enraizamento, o meio é suplementado com reguladores de crescimento (citocininas e auxinas) que influenciarão diretamente o estágio de desenvolvimento que o material vegetal irá seguir. Na fase de multiplicação, o BAP (6-benzilaminopurina), a cinetina, a zeatina, o 2 iP (2-isopenteniladenina) são as citocininas mais utilizadas e, durante o enraizamento, as auxinas AIB (ácido indo butírico), ANA (ácido naftaleno acético) e AIA (ácido indol acético). No entanto, as respostas obtidas em cada fase, dependerão diretamente do genótipo estudado. Para algumas espécies é possível produzir mudas em escala comercial em meio isento de qualquer regulador vegetal em todas as fases *in vitro*.

Pesquisas visando à produção *in vitro* de plantas da Caatinga ainda são insipientes quando comparado à variedade de espécies vegetais deste bioma com relevante potencial de exploração comercial: Nos estudos já realizados o enfoque principal tem sido a micropropagação de espécies nativas com potencial medicinal e ornamental, algumas listadas pelo IBAMA como vulneráveis ao risco de extinção.

Na literatura existem estudos que resultaram no protocolo de micropropagação de aroeira (*Myracrodruon urundeuva*) desenvolvido por Andrade et al. (2000), seguindo os padrões de inoculação de sementes em meio isento de regulador vegetal, multiplicação e enraizamento *in vitro* em meio suplementado com BAP e ANA, respectivamente, protocolo de multiplicação de *Melocactus oreas* (Souza et al., 2012), e trabalho com a espécie *Syngonanthus mucugensis* que objetivou o estabelecimento *in vitro* para propagação e conservação nestas condições (Brito et al., 2011).

Estão disponíveis ainda pesquisas que objetivaram a otimização de protocolos de micropropagação para alecrim pimenta (*Lippia sidoides*), uma espécie de ocorrência no semiárido potencial utilização na indústria de cosméticos (Costa et al. 2007), angico (Kielse et al. 2009) e quixabeira (Beltrão et al. 2008).

Referências

- ANDRADE, M.W.; LUZ, J.M.Q.; LACERDA, A.S.; MELO, P.R.A. Micropropagação da aroeira (*Myracrodruon urundeuva* Fr. All). *Revista Ciência e Agrotecnologia*, v.24, n.1, p.174-180, 2000. <http://ciencialivre.pro.br/media/eeae5c31f0bce1fefff82c7fffd523.pdf>.
- ANDRADE, L.A.; OLIVEIRA, F.X.; NEVES, C.M.L.; FELIX, L.P. Análise da vegetação sucessional em campos abandonados no Agreste Paraibano. *Revista Brasileira de Ciências Agrárias*. v.2, n.2, p.135-142, 2007. <http://www.redalyc.org/redalyc/pdf/1190/119017355005.pdf>.
- BELTRÃO, A.E.S.; TOMAZ, A.C.A.; BELTRÃO, F.A.S.; MARINHO, P. *In vitro* biomass production of *Sideroxylon obtusifolium* (Roem & Schult). *Revista Brasileira de Farmacognosia*. v.18, p. 696-698, suplemento, 2008. <http://www.scielo.br/pdf/rbfar/v18s0/a10v18s0.pdf>.
- BRITO, A.L.; RESENDE, S.V.; LIMA, C.O. de C.; ALVIM, B.M.; CARNEIRO, C.E.; SANTANA, J.R.F. *In vitro* morphogenesis of *Syngonanthus mucugensis* GIUL. SUBSP. *Mucugensis*. *Revista Ciência e Agrotecnologia*, v.35, n.3, p.502-510, 2011. <http://www.scielo.br/pdf/cagro/v35n3/10.pdf>.
- BOFF, L. *Biodiversidade e novo paradigma*. Disponível: <http://www.terraul.m2014.net/spip.php?article339>. Acessado em 15 nov. 2010.
- COSTA, A.S.; ARRIGONI-BLANK, M.F.; BLANK, A.F.; MENDONÇA, A.B.; AMANCIO, V.F.; LEDO, A.S. Estabelecimento de alecrim-pimenta *in vitro*. *Horticultura Brasileira*, v.25, p.68-72, 2007. <http://www.scielo.br/pdf/>

hb/v25n1/a13v25n1.pdf.

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

KIELSE, P.; FRANCO, E.T.H.; PARANHO, J.T.; LIMA, A.P.S. Regeneração *in vitro* de *Parapiptadenia rigida*. *Ciência Rural*, v.39, n.4, p.1098-1104, 2009. <http://www.scielo.br/pdf/cr/v39n4/a152cr1223.pdf>.

MCT, Ministério da Ciência e Tecnologia. *Programa de biotecnologia e recursos genéticos*. Definição de Metas. Disponível: http://www.ctnbio.gov.br/upd_blob/0000/9.pdf. Acessado em 15 nov. 2010.

MMA. *Caatinga*. Disponível: <http://www.mma.gov.br/biomas/caatinga>. Acessado em 25 ago. 2012.

PRADO, D.E. As Caatingas da América do Sul. In: LEAL, I.R.; TABARELLI, M.; SILVA, J.M.C. *Ecologia e Conservação da Caatinga*. Recife. Ed. Universitária, p.4-73. 2003.

SILVA, J.M.C.; TABARELLI, M.; FONSECA, M.T.; LINS, L.V. *Biodiversidade da caatinga: áreas e ações prioritárias para a conservação*. Brasília, DF: Ministério do Meio Ambiente: Universidade Federal de Pernambuco, 2003.

SOUZA, A.S.; COSTA, M.A.P.C.; SANTOS-SEREJO, J.A.; JUNGHANS, T.G.; SOUZA, F.V.D. Introdução à cultura de tecidos de plantas. In: SOUZA, A. da S; JUNGHANS, T. G. *Introdução à micropropagação de plantas*. Cruz das Almas. Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical. p. 11-37, 2006.

SOUZA, A.V.V.; SOUZA, D.D.; SILVA, N.B.G.; OLIVEIRA, F.J.V. Produção *in vitro* de mudas de Coroa-de-Frade (*Melocactus oreas* Miq. - Cactaceae): *uma Espécie Nativa da Caatinga de Potencial Ornamental*. Petrolina, 2012, 29p. (Embrapa Semiárido. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 94).