

# ESTABELECIMENTO DE ESTRATÉGIAS DE CULTIVO IN VITRO PARA CONSERVAÇÃO DE *Cyathea bicrenata*

C. Marcon<sup>(1)</sup>; A. Droste<sup>(1)</sup>; J. L. Schmitt<sup>(1)</sup>; K. Mehlreter<sup>(2)</sup>

<sup>(1)</sup>Universidade Feevale, Programa de Pós-Graduação em Qualidade Ambiental. ERS 239, 2755, Vila Nova, 93525-075, Novo Hamburgo, RS. <sup>(2)</sup>Instituto de Ecología, Red de Ecología Funcional. Carretera antigua a Coatepec 351, El Haya, Xalapa 91070, Veracruz, México. e-mail: cati.marcon@hotmail.com

## INTRODUÇÃO

As samambaias são encontradas nos mais diferentes locais, porém a maioria cresce em ambientes tropicais úmidos, onde há uma variedade de microambientes que permitem completar seu ciclo de vida (Tryon & Tryon, 1982). Samambaias arborescentes são fundamentais para o estabelecimento e o desenvolvimento de outros grupos vegetais e animais (Schneider & Schmitt, 2011). Este grupo de plantas é sensível às mínimas variações das condições climáticas, sendo que a diversidade biológica e o estado de conservação de diferentes espécies dependem do estado de preservação dos ecossistemas onde se reproduzem. Na natureza, fatores como a temperatura, o fotoperíodo e o pH do substrato influenciam o desenvolvimento ontogenético. Dificilmente se consegue observar o início do processo germinativo no ambiente natural, por isso se recomenda o uso do cultivo *in vitro*. Por meio deste se pode avaliar a influência de fatores abióticos sobre o desenvolvimento inicial de samambaias, consequentemente gerando um banco de dados para o estabelecimento de métodos de propagação, com vistas à conservação das espécies raras, ameaçadas ou protegidas por lei.

## OBJETIVO

O objetivo foi avaliar a germinação de esporos e o desenvolvimento gametofítico de *Cyathea bicrenata* Liebm. cultivada *in vitro* em diferentes pH, relacionando com o valor do pH encontrado no ambiente onde foram coletados seus esporos.

## MATERIAIS E MÉTODOS

*Cyathea bicrenata* é uma samambaia arborescente com caule de 5 a 15 m de altura e folhas de 4 m de comprimento, bipinadas-pinadas com os segmentos extremamente lobados. A espécie habita em Florestas montanas úmidas com elevações médias (100-1800 m), com ocorrência registrada no México, Guatemala, Honduras, El Salvador, Nicarágua, Costa Rica e Panamá. De acordo com a Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010 que estabelece as espécies protegidas por lei, *C. bicrenata* encontra-se na categoria Pr – Sujeita a proteção especial.

Folhas férteis foram coletadas no Jardín Botánico Francisco Javier Clavijero, junto ao Instituto de Ecología, A.C. na cidade de Xalapa, Veracruz, México. Este local está localizado na Sierra Madre Oriental, a 2,5 km a sudoeste da cidade de Xalapa, com uma altitude de 1300 metros acima do nível do mar, em terras de montanhas tropicais, de clima temperado. Após coleta, as folhas férteis foram desinfestadas com hipoclorito de sódio a 2% por 10 minutos e acondicionadas em bandejas a temperatura ambiente para secagem e deiscência dos esporângios. Os esporos foram separados dos esporângios com uma peneira de 64 µm e armazenados em refrigerador a 7°C, no escuro. A germinação dos esporos e o desenvolvimento gametofítico a partir do cultivo em meio Meyer (Meyer *et al.* 1955) em diferentes pHs (4, 5 e 6) foram testados. Em câmara de fluxo laminar, foi realizada a assepsia dos esporos em 2,5% NaClO por 15 min. Para cada pH testado, foram semeados 5 mg de esporos em placa de petri contendo 30 mL de meio suplementado com nistatina 50.000 U L<sup>-1</sup>, totalizando 10 placas por tratamento. As culturas foram mantidas em câmara de germinação com temperatura (22°C) e fotoperíodo (12 h luz; 60 a 100 µmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>) controlados. Após 60 dias de cultivo *in vitro*, foi avaliado o desenvolvimento inicial por meio da confecção de uma lâmina microscópica de cada repetição, da qual os 100 primeiros indivíduos observados foram classificados em: não germinados e germinados (a partir da emergência do clorócito ou do rizóide). Dentre os germinados, aqueles em estágio laminar foram contabilizados. A normalidade dos dados foi avaliada pelo teste de Shapiro-Wilk, e as diferenças entre médias foram analisadas pelo teste t de student, a 5% de probabilidade.

Para determinar o pH do solo do Jardín Botánico, foi seguida a metodologia de Silva (2009), tendo sido a análise realizada em triplicata.

## DISCUSSÃO E RESULTADOS

Esporos de *C. bicrenata* não germinaram no meio com pH 4, fato este que também já foi observado para outras espécies de samambaias, pois determinadas condições de pH podem ser limitantes para o estabelecimento de samambaias *in vitro* (PETERSEN, 1985). Em pH 5, foram registrados 86,60% de esporos germinados, valor significativamente inferior ao registrado para o pH 6 (97,50%) (*t*: -7,64; *p*<0,001). Comportamento semelhante foi observado nos gametófitos laminares, pois no pH 5, 72,25% dos gametófitos encontravam neste estágio, valor significativamente inferior que em pH 6 (79,70%) (*t*: -3,44; *p* 0,003). Em relação ao solo do ambiente de ocorrência das plantas doadoras de esporos, foi observada uma média de pH de 5,82. Para o cultivo de diferentes espécies de samambaias, há uma gama bem variada de valor ideal de pH. No entanto, há uma tendência deste grupo de plantas germinar e se desenvolver preferencialmente em substratos com pH levemente ácido (RAGHAVAN, 1980).

## CONCLUSÃO

Diante dos dados acima expostos, foi possível observar que a germinação dos esporos, e consequentemente, o desenvolvimento de gametófitos de *C. bicrenata* foram diretamente afetados pelo pH do meio de cultura. Além disso, as culturas com pH ajustado em 6 apresentaram os melhores resultados, estando este próximo ao valor de pH do solo de ocorrência dos indivíduos doadores de esporos.

#### **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

**MEYER, B. S.; ANDERSON, D. B.; SWANSON, C. A.** 1955. Laboratory Plant Physiology. New York: Van Nostrand.

**PETERSEN, R. L.** 1985. Towards an appreciation of fern edaphic niche requirements. In **DYER, A. F.; PAGE, C. N.** (eds.). Biology of Pteridophytes. Edinburgh: The Royal Society of Edinburgh.

**RAGHAVAN, V.** 1980. Cytology, physiology, and biochemistry of germination of fern spores. International Revist of Cytology 62: 69-118.

**SILVA, F. C.** 2009. Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes. 2 ed. Brasília: Embrapa.

**TRYON, R. M.; TRYON, A. F.** 1982. Ferns and allied plants with special reference to Tropical America. New York: Springer Verlag.

#### **AGRADECIMENTOS**

Os autores agradecem a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Capes pela concessão da bolsa de doutorado sanduiche da autora principal (Edital 47/2017 – Processo: PDSE 88881.186959/2018-01).