

## GERMINAÇÃO *IN VITRO* DE *Angelonia integrerrima* Sprengel.: CONCENTRAÇÕES DE SAIS DO MEIO DE CULTIVO E ARMAZENAMENTO DAS SEMENTES.

**MARA CÍNTIA WINHELMANN<sup>1</sup>; MARÍLIA TEDESCO<sup>1</sup>; CLAUDIMAR SIDNEI  
FIOR<sup>1</sup>; GILMAR SCHAFER<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Programa de Pós-graduação em Fitotecnia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Av. Bento Gonçalves, 7712, CEP 91540-000, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil – marawinhelmann@yahoo.com.br

### 1. INTRODUÇÃO

O gênero *Angelonia* é originário da região neotropical, que se estende do centro do México até o extremo sul da América do Sul (BOFF *et al.*, 2014). Atualmente compõe-se de, aproximadamente, 50 espécies (TROPICOS, 2016), as quais possuem diversidade de morfologia e coloração das flores, que variam de azul a violeta, e de branco a pink (GOSCH *et al.*, 2014). As plantas desse gênero podem ser herbáceas, subarbustivas, arbustivas e trepadeiras. Pertencem à família Plantaginaceae (anteriormente Scrophulariaceae), sendo registradas 18 espécies no Brasil e em todos os biomas brasileiros. São encontradas nos diferentes tipos de vegetação: Caatinga, Campo de Altitude, Campo Limpo, Campo Rupestre, Cerrado, Floresta de Terra Firme, Floresta Ombrófila e Restinga (LISTA DE ESPÉCIES DA FLORA DO BRASIL, 2016).

*Angelonia integrerrima* Sprengel, conhecida popularmente como violeta-do-campo, é uma espécie herbácea, perene e que ocorre em afloramentos rochosos e campos pedregosos. As folhas são verdes, oblongas e opostas, o caule apresenta coloração bordô e a planta atinge em média 40 cm de altura. As flores possuem coloração branca a lilás claro, com alguma coloração púrpura, estando dispostas em ramos terminais. A floração ocorre de outubro a março, sendo que essa espécie possui potencial ornamental, podendo ser cultivada em canteiros, floreiras e vasos, bem como sua utilização em arranjos florais (BURKART, 1979; STUMPF *et al.*, 2009). No entanto, não foram encontradas informações na literatura sobre aspectos da propagação da espécie, tanto por sementes como clonal.

O objetivo do presente trabalho foi testar concentrações de sais no meio de cultivo MS para germinação *in vitro* de *A. integrerrima*, a partir de sementes de uma mesma procedência, armazenadas em diferentes locais desde a coleta até a semeadura.

### 2. METODOLOGIA

O experimento foi conduzido no Laboratório de Biotecnologia em Horticultura (LBH) da Faculdade de Agronomia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) em Porto Alegre – RS. As sementes foram coletadas *in situ* em fevereiro de 2015, no município de Barão do Triunfo – RS. Após a coleta as sementes foram divididas em dois lotes, sendo o primeiro armazenado em bancada de laboratório, sem controle de umidade e temperatura, e o segundo em câmara fria (4 a 6°C) até o momento da semeadura (outubro de 2015). O teste com meios de cultivo consistiu de quatro concentrações dos sais (100%, 75%, 50% e 25%) do meio MS (MURASHIGE & SKOOG, 1962), acrescido de 30 g L<sup>-1</sup> de sacarose e 7 g L<sup>-1</sup> de ágar. Antes da semeadura as sementes foram

desinfestadas por 2 minutos em álcool 70%, seguido de 15 minutos em hipoclorito de sódio 1,5% (i. a.) e, em seguida, no fluxo laminar foi realizada a tríplice lavagem com água deionizada autoclavada. O delineamento foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial (concentração de MS e local de armazenamento), com 4 repetições, 5 frascos por repetição e 5 sementes em cada frasco. Os frascos com as sementes foram mantidos em sala de crescimento com fotoperíodo de 16 horas, temperatura de 24 a 29°C e intensidade luminosa de 27 a 33,75  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ . Foram avaliados a porcentagem, o tempo médio e o índice de velocidade de germinação, sendo as avaliações realizadas a cada dois dias. Foram consideradas germinadas as sementes que apresentavam radícula visível a olho nu. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e após as médias foram submetidas à regressão polinomial pelo SigmaStat 11.0.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise estatística mostrou interação para as variáveis porcentagem de germinação e índice de velocidade de germinação (IVG) para local de coleta e concentração de sais do meio MS, já para a variável tempo médio de germinação (TMG) não houve interação (Tabela 1).

Tabela 1. Valores P da análise de variância da germinação de sementes de *Angelonia integrifolia* Sprengel. sob diferentes concentrações de sais do meio MS e diferentes locais de armazenamento.

Variáveis analisadas	LA valor p	CS MS valor p	Interação valor p	Média Geral	CV (%)	GL erro
<b>G (%)</b>	0,003	<0,001	0,003	51	40,58	24
<b>TMG (dias)</b>	0,001	0,033	0,477	7,15	25,62	23
<b>IVG</b>	<0,001	0,001	0,008	1,91	40,56	24

G = Germinação; TMG = tempo médio de germinação; IVG = índice de velocidade de germinação; LA = Local de armazenamento; CS MS = Concentração de sais do meio MS; CV = coeficiente de variação; GL = grau de liberdade.

Com relação a variável porcentagem de germinação para as sementes armazenadas sob temperatura ambiente observou-se que a medida que aumenta a concentração de sais do meio MS, aumentou a porcentagem de germinação, demonstrando um comportamento quadrático, onde o ponto de máxima foi em 97%. (Figura 1A). Para as sementes armazenadas sob temperatura controlada não foi possível ajustar uma curva de regressão (Figura 1A), sendo que a germinação média foi de 58%, independente da concentração de sais. Esses resultados diferem dos encontrados por MORAES *et al.* (2010), pois na germinação *in vitro* de alcachofra, esses autores verificaram que a concentração de sais não afetou a germinação, por outro lado, para *Mimosa scabrella* Bentham, ROSA *et al.* (2012) verificaram que a germinação foi reduzida a medida que aumentou a concentração de sais no meio.

Para o TMG, sementes armazenadas sob temperatura ambiente apresentaram um tempo maior para a germinação, com média de 8,12 dias, porém, não foi possível fazer o ajuste da curva de regressão (Figura 1B). As sementes armazenadas sob temperatura controlada apresentaram um comportamento linear, pois a medida que aumentou a concentração de sais no meio MS, também aumentou o TMG (Figura 1B).

Para sementes armazenadas à temperatura ambiente, o IVG foi maior a medida que aumentou a concentração de sais no meio MS demonstrando comportamento quadrático (Figura 1C). Já para as sementes armazenadas sob temperatura controlada, não foi possível ajustar a curva de regressão (Figura 1C), sendo que tiveram IVG médio de 2,35. Na germinação de *Syngonanthus elegans* (Bong.) Ruhland observou-se que a velocidade de germinação foi inversamente proporcional a quantidade de sais no meio WPM (Wood Plant Medium) (LLYOD & McCOWN, 1980), confirmando a sensibilidade das sementes à altas concentrações de sais (PÊGO *et al.*, 2014).

Na germinação *in vitro* de *Syngonanthus mucugensis* Giul. foi verificado que para a maioria das variáveis analisadas os resultados superiores foram obtidos com os meios com as menores concentrações de sais (SANTOS *et al.*, 2006). Já nesse trabalho foi verificado que para sementes armazenadas sob temperatura controlada, as diferentes concentrações de sais não tiveram efeito sobre as variáveis analisadas, podendo, dessa forma, ser utilizado o meio que contém a menor concentração, como uma forma de reduzir os custos com a utilização de reagentes. Com relação às sementes armazenadas em temperatura ambiente, a utilização de concentrações maiores de sais aumenta a porcentagem de germinação, bem como o IVG, sendo o ponto de máxima de 97 e 98% de concentração de sais do meio MS para essas variáveis respectivamente.

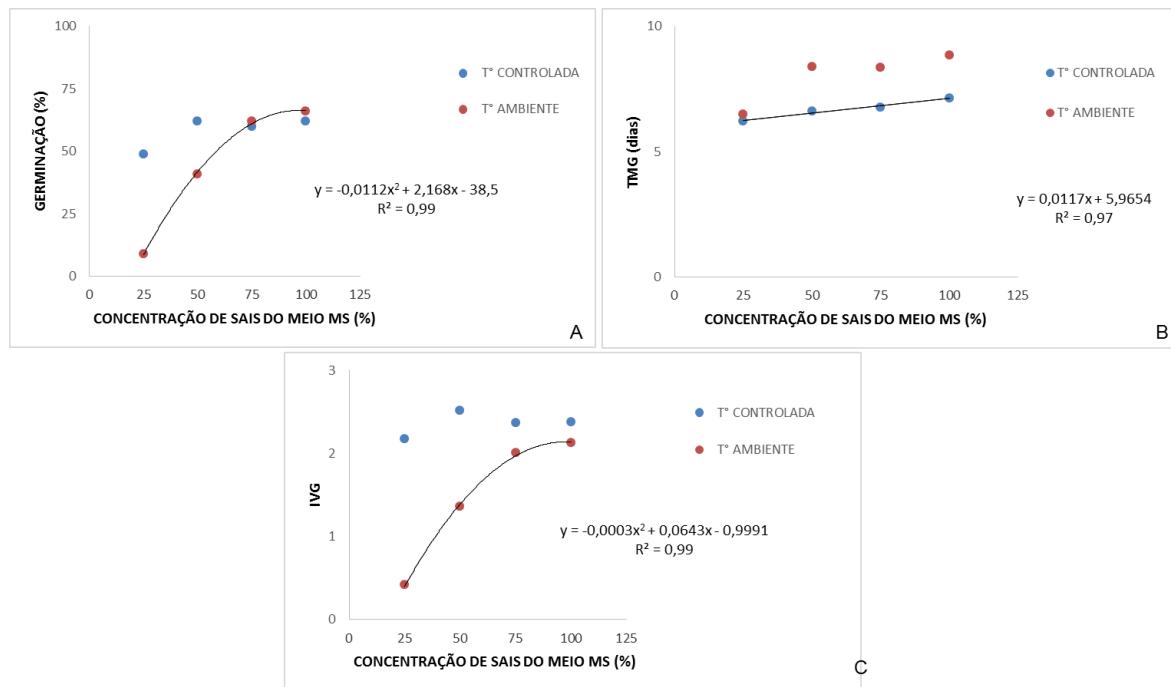


Figura 1. Porcentagem de germinação (A), tempo médio de germinação - TMG (B) e índice de velocidade de germinação - IVG (C) de *A. integrifolia* para diferentes locais de armazenamento e concentração de sais do meio MS.

#### 4. CONCLUSÕES

Para as condições deste experimento, recomenda-se utilizar o meio MS com 25% da concentração de sais e o armazenamento das sementes em condições de temperatura controlada.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BOFF, S.; DEMARCO, D.; MARCHI, P.; ALVES-DOS-SANTOS, I. Perfume production in flowers of *Angelonia salicariifolia* attracts males of *Euglossa annectans* which do not promote pollination. **INRA, DIB and Springer-Verlag**. France, p. 84-91, 2014.

BURKART, A. **Parte V: Dicotiledoneas Metaclamideas. Flora Ilustrada de Entre Ríos (Argentina)**. Colección Científica del I.N.T.A. Buenos Aires, Tomo VI, parte 5<sup>a</sup>, p. 481 – 484, 1979.

GOSCH, C.; NAGESH, K. M.; THILL, J.; MIOSIC, S.; PLASCHIL, S.; MILOSEVIC, M.; OLBRICHT, K.; EJAZ, S.; ROMPEL, A.; STICH, K., HALBWIRTH, H. Isolation of Dihydroflavonol 4-Reductase cDNA Clones from *Angelonia x angustifolia* and Heterologous Expression as GST Fusion Protein in *Escherichia coli*. **Plos One**. V. 9, september 2014.

LISTA DE ESPÉCIES DA FLORA DO BRASIL. **Jardim Botânico do Rio de Janeiro**. Acessado em 25 jul. 2016. Online. Disponível em <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/>

LLOYD, G.; McCOWN, B. Commercially-feasible micropropagation of Mountain Laurel, *Kalmia latifolia*, by use of shoot tip culture. **Proceedings of the International Plant Propagators**. Ashville, v. 30, p. 421-427, 1980.

MORAES, C. F. de; SUZIN, M.; NIENOW, A.A.; GRANDO, M.F.; MANTOVANI, N.; CALVETE, E.O.; DONIDA, B.T. Germinação *in vitro* de sementes de alcachofra. **Horticultura Brasileira**. Brasília – DF, v. 28, n. 1, jan.-mar. 2010.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A. revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**. Copenhagen, v. 15, p. 473-497, 1962.

PÊGO, R. G.; PAIVA, P. D. de O.; PAIVA, R. Micropropagation protocol for *Syngonanthus elegans* (Bong.) Ruhland: an ornamental species. **Acta Scientiarum**. Maringá, v. 36, n. 2, p. 347-353, july-sept., 2014.

ROSA, F. C. da; REINIGER, L. R. S.; GOLLE, D. P.; MUNIZ, M. F. B.; CURTI, A. R. Superação da dormência e germinação *in vitro* de sementes de bracatinga (*Mimosa scabrella* Bentham). **Semina: Ciências Agrárias**. Londrina, v. 33, n.3 p. 1021-1026, maio-jun. 2012.

SANTOS, J. da P.; DORNELLES, A. L. C.; SILVA, J. R. dos S.; SANTANA, J. R. F. de; LIMA-BRITO, A. Ajuste do meio MS para o cultivo “*in vitro*” de *Syngonanthus mucugensis* Giulietti, espécie ameaçada de extinção. **Sitientibus: Série Ciências Biológicas**. V. 6, n. 1, p. 36-39, jan.-mar., 2006.

STUMPF, E. R. T., BARBIERI, R. L., HEIDEN, G. **Cores e formas no Bioma Pampa: plantas ornamentais nativas**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 276 p., 2009.

TROPICOS. **Missouri Botanical Garden**. St. Louis. Acessado em 25 jul. 2016. Online. Disponível em: <http://www.tropicos.org/NameSearch.aspx?name=Angelonia&commonname>