

OTIMIZAÇÃO DA GERMINAÇÃO IN VITRO DE *Pterodon emarginatus* VOGEL. (FABACEAE)

ISADORA DIAS ROMAGNOLI¹; MARISA TANIGUCHI²; ARTHUR DEMPSEY³;
GABRIELA G. ROSA⁴, LEONARDO FERREIRA DUTRA⁵

¹Universidade Federal de Pelotas – isadtr@hotmail.com

² Universidade Federal de Pelotas – marisataniguchi@yahoo.com.br

³ Universidade de Ribeirão Preto – huanshuma@gmail.com

⁴Instituto Federal Catarinense – birela89@gmail.com

⁵Embrapa Clima Temperado – leonardo.dutra@embrapa.br

1. INTRODUÇÃO

A *Pterodon emarginatus* Vogel, conhecida popularmente como sucupira branca, é uma espécie nativa do Brasil, sendo encontrada nos estados brasileiros de Minas Gerais, São Paulo, Goiás e Mato Grosso do Sul. Sua madeira possui alta resistência natural ao apodrecimento, o óleo do fruto é muito utilizado na medicina popular, uma vez que confere proteção contra infecção por cercaria (*Schistosoma mansoni*) e também pode ser utilizada no tratamento de infecções de garganta e reumáticas (COELHO et al., 2001).

Devido a estes fatores, a exploração madeireira de espécies nativas vem se intensificando nos últimos anos, ocasionando uma intensa degradação das florestas tropicais, culminando na extinção de algumas espécies arbóreas (LENCINA et al., 2014). Neste sentido, a conservação de recursos genéticos vegetais dos biomas tropicais é um tema de importância mundial e a proteção de espécies frente à iminente extinção é, portanto uma questão prioritária (CANATTO; ALBINO; CORDEIRO, 2016).

A propagação de espécies florestais normalmente é realizada por sementes. Entretanto a propagação via sementes de *Pterodon emarginatus* apresenta obstáculos, devido a semente ser coberta com envoltório lenhoso, apresentar tegumento resistente e impermeável ao oxigênio com uma camada pontuada de glândulas oleosas que impedem a penetração d'água (COELHO et al., 2001), o que resulta em baixa germinação e rendimento de mudas. Sendo assim, outro método de propagação é por via vegetativa, com destaque para a cultura de tecidos in vitro (CANATTO; ALBINO; CORDEIRO, 2016).

A cultura de tecidos também é utilizada em programas de pesquisa que visam à conservação de recursos genéticos vegetais. Neste sentido, faz-se necessário o estabelecimento de protocolos com esses materiais a fim de viabilizar a sua sobrevivência e replicação (LAMBARDI; OZUDOGRU, 2013). Protocolos para a germinação de sementes de sucupira branca in vitro (COELHO et al., 2001; CANATTO, ALBINO; CORDEIRO, 2016) foram realizados, mas os estudos que compreendem o cultivo in vitro desta espécie ainda são incipientes.

Diante deste contexto, o objetivo do presente trabalho foi avaliar a influência do tegumento da semente e a consistência do meio de cultivo no estabelecimento in vitro de sucupira branca.

2. METODOLOGIA

As sementes utilizadas foram coletadas de populações nativas do município de Alto Paraíso de Goiás, Goiás, disponibilizadas pelo Lab. Booma (Laboratório de Cultura de Tecidos de Plantas Booma). Inicialmente, os diásporos foram rompidos e as sementes foram retiradas, lavadas com detergente e água corrente para retirada de óleo. O protocolo para assepsia e estabelecimento in vitro foram adaptados de Coelho et al. (2001).

Em câmara de fluxo laminar as sementes foram imersas em álcool a 70% por um minuto, em hipoclorito de sódio a 2,5 % com uma gota de twin²⁰ por quinze minutos e tríplice lavagem com água destilada autoclavada. Posteriormente, 50% das sementes tiveram seu tegumento removido e 50% ficaram intactas, sendo inoculadas, na posição vertical, em meio de cultivo MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962), suplementado 0,1 g/L⁻¹ de inositol, 30 g/L⁻¹ de sacarose, 6,5 g/L⁻¹ de ágar ou em meio líquido (mesma composição sem adição de ágar). O pH dos meios foi ajustado para 5,8±1 antes da autoclavagem a 120 °C, durante 20 minutos. Para inoculação em meio líquido, as sementes foram postas sob “ponte” de papel.

O material foi cultivado em sala de crescimento com fotoperíodo de 16 horas, temperatura de 25±2 °C com irradiação de fótons de 36 µmol m⁻²s⁻¹. Aos 30 dias avaliou-se o número de sementes germinadas, número de sementes oxidadas, número de sementes germinadas com formação de parte área e número de sementes germinadas com formação de raízes. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com 4 repetições de 5 tubos, contendo 1 semente cada um. Os dados foram submetidos à análise de variância utilizando-se o software estatístico SISVAR® (FERREIRA, 2011), comparando as frequências pelo teste de Tukey com probabilidade de 5%.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A maior porcentagem de germinação (80%) ocorreu em sementes sem tegumento e inoculadas no meio MS sólido (Tabela 1). Embora sem diferença significativa em relação às sementes com tegumento inoculadas em meio sólido, aquelas cultivadas em meio líquido, seja com ou sem tegumento, tiveram redução mais intensa no potencial de germinação.

De acordo com Coelho et al. (2001), o tegumento é uma barreira física de proteção ao embrião, e pode levar a diminuição da germinação de sementes. Fato que foi observado no presente estudo onde os tratamentos com a presença do tegumento tiveram porcentagem de germinação reduzida. Além disso, os dados do presente estudo corroboram com os de Lima et al. (2007), que em trabalho realizado com a germinação in vitro de Urucum (*Bixa orellana* L.), obtiveram 80% das sementes germinadas em meio sólido e sem a presença do tegumento. O mesmo foi observado por Canatto, Albino e Cordeiro (2016) em trabalho realizado com a germinação in vitro de sucupira branca (*Pterodon emarginatus* Vogel), onde sementes sem a presença de tegumento em meio sólido apresentaram 85% de germinação.

Tabela 1: Influência da consistência do meio de cultivo e do tegumento das sementes, na porcentagem de sementes germinadas (PSG), número de sementes germinadas com formação de parte área (NSGFA) e número de sementes germinadas com formação de raízes (NSGFR) no estabelecimento in vitro de *Pterodon emarginatus*. Lab. Booma, Alto Paraíso de Goiás, Goiás, 2020.

Tratamentos	PSG (%)	NSGFA	NSGFR
MS sólido com tegumento	25b	1,00ab	0,75ab
MS sólido sem tegumento	80a	3,00a	2,25a
MS líquido com tegumento	5b	0,25b	0,25ab
MS líquido sem tegumento	10b	0,50b	0,50ab
CV (%)	40,82	83,33	127,89

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferiram estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($p<0,05$).

Maior número de sementes germinadas com formação de parte aérea foi observado em sementes sem tegumento e inoculadas em meio MS sólido, não diferindo significativamente das sementes com tegumento e inoculadas em meio sólido (Tabela 1). Hartmann et al. (2002) relatam que fatores físicos do meio de cultivo, como a consistência podem exercer efeitos sobre as culturas assim como, a temperatura e a luz.

Em algumas culturas, variações nesses fatores podem ocasionar diferentes respostas morfogenéticas (LENCINA et al., 2014). Além disso, o meio sólido proporciona a manutenção do explante na posição adequada, propiciando a absorção de nutrientes à medida que os tecidos crescem (SIQUEIRA et al., 2013). Além disso, a utilização do meio líquido sem agitação ou aeração, pode ser um fator limitante para o desenvolvimento das plantas, visto que a oxigenação é limitante para a respiração dos explantes (MURASHIGE, 1974; DOMINGUES; NETO; MENDES, 1995; CALDAS et al., 1998). Além disso, meios de cultura líquidos podem induzir hiper-hidratação em plantas in vitro (CASANOVA et al., 2008).

Sementes sem tegumento e inoculadas em meio MS sólido tiveram maior número de sementes germinadas com formação de raízes (Tabela 1). Foi observada contaminação fúngica do meio de cultura líquido (dados não apresentados). Autores como Coelho et al., (2001); Canatto, Albino e Cordeiro (2016), também relatam a contaminação na germinação in vitro de sementes de espécies florestais. Além disso, a retirada do tegumento pode facilitar o contato de microorganismos com o embrião, provocando a danificação celular, prejudicando a formação e desenvolvimento dos órgãos da planta (LENCINA et al., 2014).

4. CONCLUSÕES

No estabelecimento in vitro de Sucupira branca devem ser utilizadas sementes com tegumento cultivadas em meio de cultura MS de consistência sólida.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CALDAS, L.S.; HARIDASAN P.; FERREIRA, M.E. Meios nutritivos. In: Torres, A.C.; Caldas, L.S.; Buso, J.A (Eds.). **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília, ABCTP/EMBRAPA, v. 1, p.87-132, 1998.
- CANATTO, R.A.; ALBINO, B.E.S.; CORDEIRO, A.T. Propagação in vitro de sucupira branca (*Pterodon emarginatus* Vogel): uma espécie florestal nativa. **Forum Ambiental da Alta Paulista**, v.12, p. 76-88, 2016.
- CASANOVA, E.; MOYSSET, L.; TRILLAS, M.I. Effects of agar concentration and vessel closure on the organogenesis and hyperhydricity of adventitious carnation shoots. **Biologia Plantarum**, v. 52, p. 1-8, 2008.
- COELHO, M. C. F.; PINTO, J. E. B. P.; MORAIS, A. R.; CID, L. P. B.; LAMEIRA, A. O. Germinação de sementes de sucupira-branca [*Pterodon pubescens* (BENTH.) BENTH.] in vitro e ex vitro. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 25, p. 38-48, 2001.
- DOMINGUES, E.T.; TULMANN NETO, A.T.; MENDES, B.M.J. Shoot tip culture of *Musa* sp. var. Maçã: establishment, micropropagation and rooting. **Scientia Agricola**, v.52, p. 387-394, 1995
- FERREIRA, D.F. SISVAR: um programa para análises e ensino de estatística. **Revista Symposium**, v.6, p.36-41, 2011.
- HARTMANN, H.T. et al. **Plant propagation: principles and practices**. New Jersey: Prentice Hall, 2002. 880p
- LENCINA, K.H.; BISOGNIN, D.A.; KIELSE, P.; PIMENTE, N.; FLEIG, F.D. Estabelecimento e crescimento in vitro de plantas de grápia. **Ciência Rural**, v.44, n.6, 2014.
- LIMA, R.V.; LOPES, J.C.; SCHMILDT, E.R.I; MAIA, A.R. Germinação in vitro de urucu. **Revista Brasileira de Sementes**, v.29 n.1, páginas? 2007.
- LAMBARDI, M.; OZUDOGRU, E.A. Advances in the safe storage of micropropagated woody plants at low temperature. **Acta Horticulture**. n.988, p.29–42, 2013.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and biomassay with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, v.15, p.473- 479, 1962.
- MURASHIGE, T. Plant propagation through tissue cultures. **Annual Review of Plant Physiology**, Columbus, v.25, p.135-166, 1974.
- SIQUEIRA, D.L. et al. Micropropagação da bananeira “Maçã”, cultivada in vitro em diferentes volumes de meio líquido. **Revista Ceres**, v.60, p.745-751, 2013.