



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

HERNANE FERNANDES PINHAL

**ESTABELECIMENTO *IN VITRO* DO BARUZEIRO (*Dipteryx alata* Vog.)**

HERNANE FERNANDES PINHAL

**ESTABELECIMENTO *IN VITRO* DO BARUZEIRO (*Dipteryx alata* Vog.)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Uberlândia, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Agronomia – Mestrado, área de concentração em Fitotecnia, para obtenção do título de “Mestre”.

Orientador: Prof. Dr. Berildo de Melo

UBERLÂNDIA  
MINAS GERAIS – BRASIL  
2012

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Sistema de Bibliotecas da UFU, MG, Brasil.

---

P654e Pinhal, Hernane Fernandes, 1987-  
2012 Estabelecimento *in vitro* do baruzeiro (*Dipteryx alata* vog.) /  
Hernane Fernandes Pinhal. -- 2012.  
54 f.

Orientador: Berildo de Melo.  
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia,  
Programa de Pós-Graduação em Agronomia.  
Inclui bibliografia.

1. Agronomia - Teses. 2. Baruzeiro - Cultivo - Teses. I. Melo,  
Berildo de. II. Universidade Federal de Uberlândia. Programa de  
Pós-Graduação em Agronomia. III. Título.

---

CDU: 631

HERNANE FERNANDES PINHAL

**ESTABELECIMENTO *IN VITRO* DO BARUZEIRO (*Dipteryx alata* Vog.)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Uberlândia, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Agronomia – Mestrado, área de concentração em fruticultura, para obtenção do título de “Mestre”.

APROVADA 19 de outubro de 2012.

Prof. Dr. Benjamim de Melo

UFU

Prof. Dr. Pedro Henrique Ferreira Tomé

IFTM - UDI

Dra. Simone Abreu Asmar

UFU

Prof. Dr. Berildo de Melo  
ICIAG-UFU  
(Orientador)

UBERLÂNDIA  
MINAS GERAIS – BRASIL  
2012

**Aos meus pais,  
Meus exemplos e meu maior orgulho.  
Eles que me ensinaram os primeiros passos  
e continuam ao meu lado por toda a caminhada....**

## AGRADECIMENTOS

Ao Instituto de Ciências Agrárias e à Universidade Federal de Uberlândia, que têm sido a minha casa nos últimos sete anos.

Ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia e ao Prof. Dr. Berildo de Melo, pela fantástica oportunidade de participar do programa de Mestrado e pelo apoio para concluí-lo.

À CAPES - Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, pelo apoio essencial no desenvolvimento do curso.

Aos membros da banca: Dr. Benjamim de Melo, Dr. Pedro Henrique Ferreira Tomé e Dra. Simone Abreu Asmar, pela disposição em ajudar-me e pelas contribuições para o engrandecimento deste trabalho.

A todos os grandes professores, que sempre foram minha inspiração, de modo especial ao Prof. Paulo, pelo apoio constante e, principalmente, pela amizade.

Ao Selmo, por toda ajuda; sem ele ainda não teríamos a primeira semente.

Aos colegas do Programa de Pós-Graduação, do Laboratório de biotecnologia e da Fazenda Água Limpa.

Aos companheiros do grupo de Fruticultura, de modo especial, ao Pedro e à Elequisandra, pela amizade e por estarem comigo desde o primeiro fruto colhido até o último ponto final escrito. Este trabalho não é meu, é nosso.

Aos meus queridos amigos, que são o motivo dos meus momentos mais felizes e que fazem com que todo esforço valha a pena.

À Iza que sempre esteve ao meu lado. Sem você eu não conseguiria; sem você nada faria sentido.

A minha família, pela torcida constante e apoio incondicional.

Aos meus pais, Milton e Lúcia, pela sua generosidade, doação e amor infinitos. Sem eles, eu nada seria. Esta conquista e todas as outras são para eles, mas de nenhuma maneira, eu conseguirei retribuir as fantásticas alegrias pelas quais eles foram e são responsáveis.

E finalmente, a Deus, meu maior companheiro e amigo nesta caminhada, com certeza, o maior responsável por tudo de bom que aconteceu.

## SUMÁRIO

### CAPÍTULO I

1 INTRODUÇÃO GERAL .....	1
2 REFERENCIAL TEÓRICO GERAL .....	2
2.1 O bioma Cerrado .....	2
2.2 O baruzeiro.....	3
2.3 Cultura de tecidos vegetais.....	4
2.3.1 Contaminações no cultivo <i>in vitro</i> .....	5
2.3.2 Oxidação <i>in vitro</i> . .....	6
2.2.3 Meio de cultivo .....	6
REFERÊNCIAS.....	8

### CAPÍTULO II

DESCONTAMINAÇÃO E GERMINAÇÃO <i>IN VITRO</i> DE SEMENTES DE BARUZEIRO ( <i>Dipteryx alata</i> VOG.).....	11
RESUMO .....	11
ABSTRACT.....	12
1 INTRODUÇÃO.....	13
2 MATERIAL E MÉTODOS .....	16
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	18
4 CONCLUSÕES .....	21
REFERÊNCIAS.....	22

### CAPÍTULO III

USO DE ANTIOXIDANTES NA PRESENÇA E AUSÊNCIA PARCIAL DE LUZ NO CULTIVO <i>IN VITRO</i> DO BARUZEIRO ( <i>Dipteryx alata</i> VOG.).....	25
RESUMO .....	25
ABSTRACT.....	26
1 INTRODUÇÃO.....	27
2 MATERIAL E MÉTODOS .....	29
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	31
4 CONCLUSÕES .....	34
REFERÊNCIAS.....	35

### CAPÍTULO IV

CONCENTRAÇÃO DO MEIO MS E CORTE DA SEMENTE NO ESTABELECIMENTO <i>IN VITRO</i> DO BARUZEIRO ( <i>Dipteryx alata</i> VOG.).....	38
RESUMO .....	38

<b>ABSTRACT.....</b>	<b>39</b>
<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>40</b>
<b>2 MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>42</b>
<b>3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>44</b>
<b>4 CONCLUSÕES.....</b>	<b>52</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>53</b>

## LISTA DE TABELAS

### CAPÍTULO II

**Tabela 1.** Resumo da análise de variância para os percentuais de germinação de explantes de baruzeiro (*Dipteryx alata* Vog.) submetidos a diferentes tratamentos de descontaminação. Uberlândia, MG, 2012..... **19**

### CAPÍTULO III

**Tabela 1.** Resumo das análises de variância para os percentuais de contaminação; germinação e plantas formadas em explantes de baruzeiro (*Dipteryx alata* Vog.) germinados *in vitro* sob a ação de substâncias antioxidantes no meio de cultivo na presença ou ausência parcial de luz. Uberlândia, MG, 2012..... **31**

### CAPÍTULO IV

**Tabela 1.** Resumo das análises de variância para os percentuais de contaminação, germinação e plantas formadas e para a massa seca da parte aérea (MSPA) e massa seca de raiz (MSR) de plantas de baruzeiro (*Dipteryx alata* Vog.) Cultivadas *in vitro*. Uberlândia, MG, 2012. .... **44**

## LISTA DE FIGURAS

### CAPÍTULO II

**Figura 1.** Percentual de germinação *in vitro* de baruzeiro (*Dipteryx alata* Vog.) com e sem a utilização do tratamento com o antibiótico rifampicina. Uberlândia, MG, 2012.....**19**

### CAPÍTULO III

**Figura 1.** Percentual de plantas formadas em relação ao uso de diferentes antioxidantes no meio de cultivo para a germinação *in vitro* de baruzeiro (*Dipteryx alata* Vog.) Uberlândia, MG, 2012. ....**33**

### CAPÍTULO IV

**Figura 1.** Contaminação dos explantes de baruzeiro (*Dipteryx alata* Vog.) de acordo com a concentração do meio MS em sementes segmentadas. Uberlândia, MG, 2012.....**45**

**Figura 2.** Contaminação de explantes de baruzeiro (*Dipteryx alata* Vog.) para sementes intactas e com corte em meio MS concentrado a 50%. Uberlândia, MG, 2012. ....**45**

**Figura 3.** Percentual de germinação de baruzeiro (*Dipteryx alata* Vog.) em sementes intactas e sementes com corte. Uberlândia, MG, 2012. ....**46**

**Figura 4.** Percentual de plantas de baruzeiro (*Dipteryx alata* Vog.) totalmente formadas com o uso de sementes intactas e sementes com corte. Uberlândia, MG, 2012. ....**47**

**Figura 5.** Percentual de plantas de baruzeiro (*Dipteryx alata* Vog.) totalmente formadas em diferentes concentrações do meio MS. Uberlândia, MG, 2012. ....**47**

**Figura 6.** Massa seca da parte aérea de plantas de baruzeiro (*Dipteryx alata* Vog.) formadas a partir de sementes intactas e sementes com corte cultivadas em meio de cultivo MS, com 75 e 100% de concentração. Uberlândia, MG, 2012.....**48**

**Figura 7.** Massa seca da raiz de baruzeiros (*Dipteryx alata* Vog.) formados a partir de sementes intactas e sementes com corte. Uberlândia, MG, 2012.....**49**

**Figura 8.** Massa seca da parte aérea de plantas de baruzeiro (*Dipteryx alata* Vog.) em diferentes concentrações de meio MS, para o cultivo de sementes intactas. Uberlândia, MG, 2012. ....**49**

**Figura 9.** Massa seca das raízes de plantas de baruzeiro (*Dipteryx alata* Vog.) em diferentes concentrações do meio MS. Uberlândia, MG, 2012.....**50**

# CAPÍTULO I

## 1 INTRODUÇÃO GERAL

O Cerrado possui diversas espécies pouco exploradas que, no entanto, possuem grande potencial. O baruzeiro (*Dipteryx alata* Vog.) é uma espécie frutífera com múltiplas possibilidades de utilização, sendo o aproveitamento alimentar, com o consumo das suas sementes, a opção mais promissora.

O cultivo *in vitro* é uma alternativa de inserção de tecnologia para o cultivo do baruzeiro. Uma alternativa que se mostra interessante por trazer diversas opções que colaborariam no desenvolvimento da espécie. Pode-se destacar a possibilidade da obtenção de mudas de qualidade, em larga escala, com maior eficiência. Outro ponto importante é a possibilidade de clonagem de materiais vegetais com características desejadas. Além disso, o cultivo *in vitro* pode colaborar para a pesquisa e os estudos referentes a esta espécie.

Para que o cultivo *in vitro* possa ser realmente implementado para a espécie em questão, é necessário uma atenção especial na etapa de estabelecimento *in vitro* da planta, uma vez que é a partir do estabelecimento que diversos processos de cultivo *in vitro* podem ser implementados. Além disso, por existirem poucos trabalhos e informações a respeito do assunto, gerar informações referentes às etapas iniciais do desenvolvimento *in vitro* é vital para o sucesso do aproveitamento de técnicas de cultura de tecidos para o baruzeiro.

Para se obter sucesso na fase de estabelecimento *in vitro*, é necessário observar diversos fatores, dentre os quais merecem destaque o controle da contaminação e da oxidação dos explantes e a escolha de um meio e de um explante que combinem de maneira positiva, favorecendo o processo de propagação *in vitro*.

Sendo assim, neste trabalho, objetivou-se desenvolver um protocolo para o estabelecimento *in vitro* do baruzeiro (*Dipteryx alata* Vog.).

## **2 REFERENCIAL TEÓRICO GERAL**

### **2.1 O bioma Cerrado**

O bioma Cerrado é o segundo maior do país em extensão, perdendo apenas para a Floresta Amazônica. Possui uma área de aproximadamente dois milhões de quilômetros quadrados, o que corresponde a cerca de 20% do território brasileiro e pequenas áreas do leste da Bolívia e do noroeste do Paraguai. No Brasil, a distribuição do bioma é coincidente com a região central do país, com sua área contínua abrangendo os estados de Goiás, Tocantins e o Distrito Federal, parte dos Estados da Bahia, Ceará, Maranhão, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Piauí, Rondônia e São Paulo. Em áreas disjuntas, ocorre ao norte nos Estados do Amapá, Amazonas, Pará e Roraima; e ao sul, em pequenas manchas no Paraná (RIBEIRO; WALTER, 1998; OLIVEIRA-FILHO; RATTER, 2002).

O bioma Cerrado teve cerca da metade dos 2 milhões de km<sup>2</sup> originais, transformados em pastagens cultivadas, culturas anuais e diversos outros tipos de uso. As transformações ocorridas trouxeram danos ambientais diversos, tais como a fragmentação de habitats, extinção de parte da biodiversidade, invasão de espécies exóticas, erosão dos solos, poluição de aquíferos, degradação de ecossistemas, alterações nos regimes de queimadas, desequilíbrios no ciclo do carbono e, possivelmente, modificações climáticas regionais (MACHADO et al., 2004; KLINK; MACHADO, 2005). Tais características, juntamente com a riqueza de espécies endêmicas, especialmente da flora, fizeram com que o Cerrado fosse considerado um dos hotspots mundiais prioritários para a conservação (MYERS et al., 2000). Um dos principais desafios para a conservação do Cerrado é demonstrar a importância que a biodiversidade desempenha no funcionamento dos ecossistemas, isso ocorre em função da escassez de conhecimento sobre a biodiversidade e das implicações das alterações e tipos de uso da terra sobre o bioma (KLINK; MACHADO, 2005).

A flora do Cerrado é composta por plantas que apresentam os mais diversos usos, dentre os quais se destacam o medicinal, ornamental, madeireiro, industrial e alimentício. Isto faz com que a exploração comercial destas plantas componha uma alternativa de complementação de renda para a população da região. O potencial mais explorado do Cerrado é o seu aproveitamento alimentar, no qual as frutíferas são

consumidas naturalmente ou na forma de sucos, licores, geleias e pratos salgados (ALMEIDA, 1998; ALMEIDA et al., 1998).

Ribeiro e Silva (1996) discutem que a principal limitação para o melhor uso das espécies de potencial econômico do Cerrado é a ausência de informações básicas sobre sua biologia e utilização agrônômica e florestal. Estas informações estão diretamente relacionadas às estratégias de estabelecimento destas espécies, em suas áreas de ocorrência e são importantes para a formação de mudas em viveiro, visando à sua conservação e domesticação.

## **2.2 O baruzeiro**

O baruzeiro (*Dipteryx alata* Vog.) é uma espécie frutífera nativa na região do Cerrado, ocorrendo naturalmente nos estados de Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Goiás, Minas Gerais e Distrito Federal. Podendo ser encontrada com menor frequência no Maranhão, Tocantins, Pará, Rondônia, Bahia, Piauí e norte de São Paulo (CARRAZZA; ÁVILA, 2010).

O baruzeiro pertence à família Leguminosae sub família Papilionoideae. É uma planta arbórea, que pode chegar até 25 metros de altura, possuindo caule com 40 a 70 cm de diâmetro, com madeira de alta densidade. Suas folhas compostas com 6 a 12 folíolos com até 12 cm. Os frutos são legumes de cor parda, com uma única semente e se tornam maduros quando iniciam a queda espontânea, podendo ser utilizados diretamente para semeadura (LORENZI, 2002).

Esta planta possui grande potencial econômico, uma vez que possui diversas possibilidades de utilização como o uso alimentício, forrageiro, silvicultural, silvipastoril, paisagístico e no reflorestamento de áreas degradadas, possuindo importância social, econômica e ecológica em regiões do Cerrado (ARAKAKI et al., 2009; MORENO et al., 2007).

A semente ou amêndoa do baruzeiro é o produto mais apreciado extraído desta fruteira, sendo consumido na alimentação humana e animal. A polpa dos frutos também é consumida processada na forma de geleias e licores. As sementes são fontes nutritivas de lipídios, proteínas, potássio, ferro e manganês, além de serem ricas em ácidos oleicos e linoleicos, adequando-se assim à produção de óleos. Apesar de possuírem fatores antinutritivos, os mesmos podem ser eliminados torrando-se as amêndoas, que desta

maneira possuem sabor semelhante ao do amendoim (NEPOMUCENO, 2006; VERA; SOUZA, 2009; TAKEMOTO et al., 2001).

A amêndoa do baruzeiro é aproveitada regionalmente, podendo ser obtida através de prática extrativista. A mesma também é processada por algumas indústrias. Sua venda é realizada em feiras e pontos de comércio regionais, alcançando elevado valor em algumas regiões, como no estado de Goiás (NEPOMUCENO, 2006; VERA et al., 2009; VERA; SOUZA, 2009)

São encontradas grandes variações na germinação das sementes de baruzeiro, de acordo com a origem do material vegetal, ambiente de crescimento das plantas, método de semeadura e tratamento utilizado nas sementes. Apesar disto, em determinados casos, observa-se um grande potencial germinativo desta espécie (BOTEZELLI et al., 2001; FONSECA et al., 1994; PAGLIARINI et al., 2012).

### **2.3 Cultura de tecidos vegetais**

A cultura de tecidos abrange diversas técnicas diretamente relacionadas à totipotencialidade celular, que é a capacidade de uma célula, seja animal ou vegetal, originar novos indivíduos, que terão o mesmo material genético da célula original. A partir disto, a cultura de tecidos vegetais se propõe a definir métodos para gerar novas plantas a partir do desenvolvimento de fragmentos de células, tecidos e órgãos vegetais, cultivados em um meio de cultivo produzido com substâncias que colaborem com o crescimento da estrutura da planta usada como material inicial, sendo esta cultivada em condições controladas de umidade, luminosidade e temperatura (LAMEIRA et al., 2000).

O explante é conhecido como a estrutura de uma planta, que pode ser usada para iniciar uma cultura *in vitro*. Desse modo, o explante pode ser gema axilar, ápice caulinar, antera, ovário, ápice radicular, semente, embrião, folha jovem, dentre outros. Os explantes podem gerar imediatamente uma planta ou passar por uma fase onde há formação do calo para só depois a planta surgir. O calo é uma massa de células não diferenciada, em contínua proliferação, podendo ter diversas formas, cores e texturas (CID, 2001).

A agricultura tem se beneficiado com as técnicas de cultivo de tecidos vegetais. Pode-se destacar o uso desta ferramenta: no melhoramento e engenharia genética, na multiplicação de plantas em áreas reduzidas com baixos custos, com maior controle

fitossanitário, produção de mudas livres de viroses e na produção e gerenciamento de bancos de germoplasma (ANDRADE, 2002; CARVALHO; VIDAL, 2003; LAMEIRA et al., 2000).

### **2.3.1 Contaminações no cultivo *in vitro***

Problemas de contaminação no ambiente *in vitro* causados por micro-organismos, sejam eles fungos, bactérias, vírus ou leveduras são os principais responsáveis pelas perdas de material nas técnicas de cultura de tecidos vegetais (SCHERWINSKI-PEREIRA, 2010).

Um alto nível de assepsia é fundamental para o sucesso dos trabalhos de cultura de tecidos, já que o meio nutritivo usado para o desenvolvimento dos explantes possui características ideais para o desenvolvimento de micro-organismos. As contaminações podem ocorrer em todas as etapas do cultivo *in vitro*, deste modo, é importante que o laboratório forneça as condições ideais para a prevenção e controle destas contaminações. Para isto, diversos equipamentos como a autoclave e a câmara de fluxo laminar são utilizados, juntamente com boas práticas laboratoriais a fim de combater este problema. É importante ainda observar que as plantas devem ser mantidas em frascos que estejam adequadamente lacrados e previamente esterilizados (TEIXEIRA; TORRES, 1998)

Andrade (2002) relata o efeito negativo da competição por nutrientes entre plantas e micro-organismos, bem como por substâncias tóxicas liberadas pelos patógenos no ambiente *in vitro*. A autora se refere ao uso do hipoclorito de sódio como prática comum no combate a este problema, sendo que o tempo de imersão do explante e a concentração do hipoclorito de sódio podem variar conforme o tipo e idade do explante.

Diversos produtos químicos, como antibióticos e fungicidas, podem ser utilizados para agirem contra micro-organismos no ambiente *in vitro*, sendo a exposição do explante a estes elementos variável na busca de um equilíbrio entre o dano ao micro-organismo e a preservação do explante. O uso de antibióticos se torna uma alternativa devido à existência de diversas bactérias que comprovadamente afetam o desenvolvimento de plantas (CID; ZIMMERMANN, 2006).

### **2.3.2 Oxidação *in vitro*.**

Carvalho e Vidal (2003) definem a oxidação como um escurecimento dos explantes relacionado a uma liberação de compostos fenólicos no meio de cultivo.

A oxidação pode ser relacionada à liberação dos compostos fenólicos por zonas do explante que sofrem cortes. Após isto, as substâncias são liberadas no meio, escurecendo-o. Tal problema se agrava quando se trabalha com espécies lenhosas, que são mais ricas em compostos fenólicos relacionados à produção de lignina pela planta (GRATTAPAGLIA; MACHADO, 1998).

A ausência de tratamentos contra a oxidação pode ser determinante para o insucesso do cultivo *in vitro* de determinadas espécies (MELO et al., 2001; SIQUEIRA; INOUE, 1991).

Sendo assim, técnicas que minimizem esta oxidação podem ser usadas com o intuito de reduzir os problemas causados pela oxidação. Dentre as alternativas possíveis de serem aplicadas, podem citar-se: a redução nas concentrações de fitorreguladores no meio de cultivo; a troca do meio de cultivo do explante com maior frequência; a redução na luminosidade durante etapas do desenvolvimento *in vitro*; a lavagem prévia dos explantes e o uso de antioxidantes como polivinilpirrolidona (PVP), ácido ascórbico e carvão ativado no meio de cultivo ou em aplicação prévia nos explantes (GRATTAPAGLIA; MACHADO, 1998).

### **2.2.3 Meio de cultivo**

O meio de cultura deve ter a constituição ideal para fornecer os nutrientes necessários ao explante durante todo o seu desenvolvimento *in vitro*. Espera-se que estes nutrientes possuam elevado grau de pureza, para que sejam aplicados ao meio de cultivo que comumente têm seu pH corrigido para 5,7 com variações de até 0,1.

A planta *in vitro* possui funcionamento de rotas bioquímicas semelhantes às de plantas cultivadas *ex vitro*. Por tal motivo, além dos nutrientes, é importante observar aspectos sobre outros elementos que o meio de cultivo deve oferecer ao explante, como a água, que é o elemento em maior quantidade no meio de cultivo e deve ser disponibilizada com o maior nível de pureza possível, para tanto, uma opção é o uso de aparelhos como destiladores e deionizadores. Carboidratos, vitaminas, fitorreguladores e outras substâncias podem ser adicionadas ao meio de cultivo, conforme a necessidade

do processo. Caso se deseje trabalhar com meios mais sólidos, podem ser empregadas substâncias com poder gelificante como o ágar (CALDAS et al., 1998).

Apesar de não existir um meio de cultivo padrão, o meio MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962) é comumente empregado e modificações ou alterações na concentração do mesmo já apresentaram resultados positivos para várias espécies (GRATTAPAGLIA; MACHADO, 1998).

## REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, S. P. **Cerrado**: aproveitamento alimentar. Planaltina: Embrapa-CPAC, 1998.
- ALMEIDA, S. P.; PROENÇA, C. E. B.; SANO, S. M.; RIBEIRO, J. F. **Cerrado**: espécies vegetais úteis. Planaltina: Embrapa - CPAC, 1998.
- ANDRADE, S. R. M. **Princípios da cultura de tecidos vegetais**. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2002.
- ARAKAKI, A. H.; SCHEIDT, G. N.; PORTELLA, A. C.; ARRUDA, E. J.; COSTA, R. B. O baru (*Dipteryx alata* Vog.) como alternativa de sustentabilidade em área de fragmento florestal do Cerrado, no Mato Grosso do Sul. **Interações**, Campo Grande. v. 10, n.1, p. 31-39, 2009.
- BOTEZELLI, L.; DAVIDE, A. C.; MALAVASI, M. M. Características dos frutos e sementes de quatro procedências de *Dipteryx alata* Vogel (baru). **Cerne**, v. 6, n.1, p. 9-18, 2001.
- CALDAS, L. S.; HARIDASAN, P.; FERREIRA, M. E. Meios Nutritivos. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. In: TORRES, A.C., CALDAS, L.S.; BUSO, J.A. (Org.). **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília, DF: Embrapa, 1998. v. 1, p. 133-145.
- CARRAZZA, L. R.; ÁVILA, J. C. C. **Aproveitamento integral do fruto do baru (*Dipteryx alata*)**. Brasília, DF: ISPN. 2010.
- CARVALHO, J. M. F.; VIDAL, M. S. **Noções de cultivo de tecidos vegetais**. Campo Grande: Embrapa, 2003.
- CID, L. P. B. A propagação *in vitro* de planta. O que isso? **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, Brasília, DF, n. 19, p. 16-21, 2001. Disponível em: <[http://www.biotecnologia.com.br/revista/bio19/19\\_3.pdf](http://www.biotecnologia.com.br/revista/bio19/19_3.pdf)>. Acesso em: 5 ago. 2012.
- CID, L. P. B.; ZIMMERMANN, M. J. **A contaminação *in vitro* de plantas**. Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2006. v. 1(Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 122).
- FONSECA, C. E. L.; FIGUEIREDO, S. A.; SILVA, J. A. Influência da profundidade de semeadura e da luminosidade na germinação de sementes de baru (*Dipteryx alata* Vog.). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 29, n.4, p. 653-659, 1994.
- GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. In: TORRES, A. C., CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. (Org.). **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília, DF: Embrapa, 1998. v. 1, p. 133-145.

- KLINK, C. A.; MACHADO, R. B. A. Conservação do Cerrado. **Megadiversidade**, Belo Horizonte, v. 1, p. 147-155, 2005.
- LAMEIRA, O. A.; LEMOS, O. F.; MENEZES, I. C.; PINTO, J. E. B. P. **Cultura de tecidos**: manual. Belém: Embrapa Amazônia Oriental, 2000. v. 1 (Documentos, 66).
- LORENZI, H. **Árvores brasileiras**: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas do Brasil. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2002. v.1. p. 217.
- MACHADO, R. B.; RAMOS NETO, M. B.; PEREIRA, P. G. P.; CALDAS, E.; GONÇALVES, D. A.; SANTOS, N. S.; TABOR, K.; STEININGER, M. Estimativas de perda da área do Cerrado brasileiro. **Conservação Internacional**, Brasília, DF, 2004. Relatório técnico não publicado.
- MELO, B.; PINTO, J. E. B. P.; LUZ, J. M. Q.; PEIXOTO, J. R.; JULIATTI, F. C. Diferentes antioxidantes no controle da oxidação, germinação e desenvolvimento das plântulas na cultura *in vitro* de embriões da guarirobeira (*Syagrus oleracea* (Mart.) Becc.). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 25, p. 1301-1306, 2001.
- MORENO, M. A.; TARAIZI, R.; DEFAVARI, G. R.; FERRAZ, E. M.; MORAES, M. L. T.; CANUTO, D. S. O; GANDARA, F. B.; CIAMPI, A. Y. ; KAGEYAMA, P. Y. Diversidade genética de *Dipteryx alata* Vog. em uma população natural do município de Campina Verde MS. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE GENÉTICA, 53, 2007, Águas de Lindoia. **Anais ... Águas de Lindóia**, 2007. CD-ROM.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised médium for rapid growth and biossays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 15, p. 473-497, 1962.
- MYERS, N.; MITTERMEIER, R. A.; MITTERMEIER, C. G.; FONSECA, G. A. B. DA.; KENTS, J. Biodiversity hotspots for conservation priorities. **Nature**, London, v. 403, p. 853-858, 2000.
- NEPOMUCENO, D. L. M. G.. **O extrativismo de baru (*Dipteryx alata* Vog) em Pirenópolis (GO) e sua sustentabilidade**. 2006. 96 f. Dissertação (Mestrado em Ecologia e Produção Sustentável). Pontifícia Universidade Católica de Goiás, Goiânia, 2006.
- OLIVEIRA-FILHO A. T.; RATTER J. A. Vegetation physiognomies and woddy flora of the Cerrado Biome. In: OLIVEIRA P. S.; MARQUIS, R. J. (Ed.) **The Cerrados of Brazil: Ecology and Natural History of a Neotropical Savanna**. New York: Columbia University Press, 2002. p. 91–120.
- PAGLIARINI, M. K.; FELICIANO, M. E.; CASTILHO, R. M. M. Superação de dormência em sementes de baru. **Tecnologia & Ciência Agropecuária**, João Pessoa, v. 5, p. 19-22, 2012.
- RIBEIRO, J. F.; SILVA, J. C. S. Manutenção e recuperação da biodiversidade do bioma Cerrado: o uso de plantas nativas. In: SIMPÓSIO SOBRE O CERRADO: Biodiversidade e produção sustentável de alimentos e fibras nos Cerrados, 8, 1996, Planaltina; INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON TROPICAL SAVANNAS:

biodiversity and sustainable production of food and fibers in the Tropical Savannas, 1, 1996. Planaltina: Embrapa-CPAC, **Anais...** 1996. p. 10-14.

RIBEIRO, J. F.; WALTER, B. M. T. Fitofisionomias do Bioma Cerrado. In: SANO, S. M.; ALMEIDA, S. P. **Cerrado: Ambiente e Flora**. Planaltina: Embrapa - CPAC, 1998. p 87-166.

SCHERWINSKI-PEREIRA, J. E. **Contaminações microbianas na cultura de células, tecidos e órgãos de plantas**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2010, v. 1.

SIQUEIRA, E. R.; INOUE, M. T. Controle de oxidação na cultura de tecidos do coqueiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 26, n. 7, p. 949-953, 1991.

TAKEMOTO, E.; OKADA, I. A.; GARBELOTTI, M. L.; TAVARES, M.; AUED-PIMENTEL, S. Composição química da semente e do óleo de baru (*Dipteryx alata* Vog.) nativo do Município de Pirenópolis, estado de Goiás. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 60, n. 2, p. 113-117, 2001.

TEIXEIRA, S. L.; TORRES, A. C. Organização do laboratório de cultura de tecidos de plantas. In: TORRES, A.C., CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. (Org.). **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**, Brasília, DF: Embrapa, 1998. v. 1, p. 133-145.

VERA, R.; SOARES JUNIOR, M.; NAVES, R. V.; SOUZA, E. R. B.; FERNANDES, E. P.; CALIARI, M.; LEANDRO, W. M. Características químicas de amêndoas de barueiros (*Dipteryx alata* Vog.) de ocorrência natural no Cerrado do estado de Goiás, Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal. v. 31, n.1, p. 112-118, 2009.

VERA, R.; SOUZA, E. R. B. Baru. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal. v. 31, n.1, 2009. Disponível em:  
<[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0100-29452009000100001](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-29452009000100001)>. Acesso em: 5 jul. 2012.

## CAPÍTULO II

### DESCONTAMINAÇÃO DE SEMENTES DE BARUZEIRO (*Dipteryx alata* Vog.) CULTIVADAS *IN VITRO*.

#### RESUMO

Este trabalho objetivou desenvolver um método eficiente do uso do hipoclorito de sódio e do antibiótico rifampicina no processo de descontaminação de explantes para o estabelecimento *in vitro* do baruzeiro (*Dipteryx alata* Vog.). Sementes de baruzeiro foram levadas ao Laboratório de Biotecnologia da Universidade Federal de Uberlândia e, sob condições assépticas, foram imersas em soluções de hipoclorito de sódio (2%) durante tempos variados e do antibiótico rifampicina (0,5 g L<sup>-1</sup>), conforme a especificação do tratamento. O experimento foi realizado em um esquema fatorial 2 x 3 (ausência e presença do tratamento com antibiótico x tempos de imersão da semente no hipoclorito de sódio: 10, 20 e 30 minutos) em delineamento inteiramente casualizado, com seis tratamentos e quatro repetições, totalizando 24 parcelas, sendo que cada unidade experimental era composta por quatro frascos, com cada um contendo uma semente inoculada em meio de cultivo MS. Foram analisadas a contaminação total (%), contaminação fúngica (%), contaminação bacteriana (%) e germinação (%) dos explantes. O antibiótico rifampicina teve efeito negativo sob a germinação das sementes. Não houve diferença no efeito dos diferentes tempos de imersão das sementes em hipoclorito de sódio, sendo que, para todos os tempos, o hipoclorito de sódio foi eficiente no controle da contaminação sem prejudicar a germinação das sementes.

Palavras-chave: Hipoclorito de sódio, Rifampicina, Contaminação.

## DECONTAMINATION AND GERMINATION *IN VITRO* ON SEEDS OF BARUZEIRO (*Dipteryx alata* Vog.).

### ABSTRACT

This study determined an efficient method of using sodium hypochlorite and the antibiotic rifampicin in the decontamination process for the establishment *in vitro* of baruzeiro (*Dipteryx alata* Vog.) explants. Baruzeiro seeds were brought to the Plant Tissue Culture Laboratory of the Universidade Federal de Uberlândia and, under aseptic conditions, were immersed in solutions of sodium hypochlorite (2%) for varying times and of the antibiotic rifampicin ( $0.5 \text{ g L}^{-1}$ ) according to the specifications of treatment. The experiment was conducted in a 2 x 3 factorial design (absence and presence of treatment with antibiotic x periods of immersion of the seeds in sodium hypochlorite: 10, 20 or 30 minutes) in a completely randomized design, with and four replications, totaling 24 plots. Each experimental unit consisted of four flasks, with each containing one seed inoculated on MS medium. Total contamination (%), fungal contamination (%), bacterial contamination (%) and germination (%) of explants were analyzed. The antibiotic rifampicin had a negative effect on seed germination. There was no difference in the effect of different periods of seed immersion in sodium hypochlorite, and, for all periods, sodium hypochlorite was effective in controlling contamination without affecting seed germination.

Keywords: Sodium hypochlorite, Rifampicin, contamination

## 1 INTRODUÇÃO

Dentre as espécies de plantas nativas do Cerrado, as fruteiras têm um papel especial. Muitos dos frutos encontrados nestas plantas têm grande aceitação popular, além de possuírem características nutricionais muito apreciadas e sabores peculiares, que os distinguem de outros frutos já consolidados. A possibilidade do processamento destes frutos para a fabricação de diversos alimentos como sucos e geleias, além do seu aproveitamento na produção de outros compostos, como látex e óleos são outros pontos que merecem destaque (ÁVIDOS; FERREIRA, 2000). Possivelmente, o grande diferencial do uso das fruteiras nativas do Cerrado seja a possibilidade da união da preservação ambiental com o aproveitamento econômico.

O baruzeiro (*Dipteryx alata* Vog.) é uma espécie arbórea da família Fabaceae de ocorrência natural no Cerrado. Seus frutos podem ser utilizados na alimentação humana, sendo a sua polpa aproveitada na preparação de diversas receitas e as sementes, ricas em proteínas e lipídios, consumidas de diversas maneiras após torradas. A árvore pode ser utilizada para a produção de forragem, aproveitamento madeireiro e medicinal, paisagismo e recuperação de áreas. Além dos seus múltiplos usos, o baruzeiro possui propriedades que potencializam o seu cultivo (VERA; SOUZA, 2009).

Observando as características positivas do baruzeiro, percebe-se que esta fruteira mostra-se promissora. No entanto, para isto, são necessários estudos que estimulem o crescimento do cultivo da mesma. Assim sendo, trabalhos que colaborem na formação de mudas de qualidade são essenciais na etapa inicial de desenvolvimento e na produção do baruzeiro.

As técnicas de cultura de tecidos vegetais possibilitam a obtenção de plantas em laboratório a partir do desenvolvimento de partes vegetais retiradas de outras plantas. Estas são cultivadas *in vitro*, em um meio de cultura, que deve oferecer os nutrientes necessários ao seu crescimento, bem como elementos que permitam que a espécie vegetal se adapte ao ambiente *in vitro* e desenvolva características desejáveis no processo produtivo da planta em questão (CID, 2001).

A cultura de tecidos vegetais pode trazer uma série de benefícios, dentre eles: a obtenção de plantas isentas de contaminação por diversos micro-organismos; a clonagem em grande escala de indivíduos que possuam características desejáveis; a possibilidade de produção de uma grande quantidade de mudas em um espaço reduzido;

além da significativa contribuição nos estudos da espécie utilizada e da produção agrícola da mesma (RESCAROLLI; ZAFFARI, 2009; FIGUEIREDO; TAKITA, 2004).

Para iniciar as etapas de cultivo *in vitro*, diversos materiais vegetais podem ser utilizados, sendo os mesmos denominados explantes. Sementes, embriões, gemas vegetais, folhas, partes reprodutivas, dentre outras, já foram aproveitados com sucesso na cultura de tecidos vegetais. (NOGUEIRA et al., 2004; JESUS et al., 2011; SILVA; MENDES; MOURÃO FILHO, 2008; CASSANA et al., 2007; LASSAGA et al., 2010). Sendo assim, a escolha do explante é um ponto de grande importância e está diretamente relacionada à finalidade do trabalho e à adaptação do explante à técnica de cultura de tecidos que será empregada.

O estabelecimento *in vitro* é um dos principais desafios na cultura de tecidos, sobretudo quando se trabalha com espécies que ainda não possuem um protocolo que defina os métodos de adaptação e desenvolvimento do explante no meio *in vitro*. Mesmo com a escolha de um explante que se adapte ao processo, há uma série de dificuldades nesta etapa inicial, destas merecem destaque os problemas de contaminação do explante.

O desenvolvimento de micro-organismos no meio *in vitro* é um fato bastante comum, uma vez que o meio de cultura possui nutrientes e condições que viabilizam o crescimento de fungos e bactérias. A contaminação no ambiente *in vitro* é extremamente prejudicial, já que causa a morte ou inviabiliza a utilização da planta (SOUSA et al., 2007).

No combate de contaminantes oriundos do próprio explante, várias etapas de descontaminação são comumente usadas nos processos de propagação *in vitro*, buscando eliminar os micro-organismos. Alguns produtos podem ser usados com sucesso neste processo de descontaminação, sendo aqueles de uso mais geral o álcool concentrado a 70% e o hipoclorito de sódio, usado em várias concentrações.

Outras substâncias também são utilizadas no combate a micro-organismos provenientes dos explantes. O uso de antibióticos no processo de descontaminação pode ser benéfico, uma vez que os mesmos são capazes de reduzir as taxas de contaminações bacterianas, o que é relevante, visto que a ação de certas bactérias nos trabalhos de cultivo *in vitro* tende a provocar sérios problemas, pois estes micro-organismos além de competirem com as plantas pelos nutrientes do meio de cultura podem excretar substâncias tóxicas aos explantes (SCHERWINSKI-PEREIRA, 2010).

Dentre os antibióticos utilizados nos processos de descontaminação, a rifampicina já foi utilizada no cultivo *in vitro* de outras fruteiras (CARNEIRO et al., 2000; LIMA; MORAES, 2006).

Desta forma, este trabalho objetivou desenvolver um método eficiente do uso do hipoclorito de sódio e do antibiótico rifampicina no processo de descontaminação de explantes, para o estabelecimento *in vitro* do baruzeiro (*Dipteryx alata* Vog.).

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi conduzido no Laboratório de Biotecnologia da Universidade Federal de Uberlândia. Os frutos do baruzeiro (*Dipteryx alata* Vog.) foram coletados de árvores situadas na Fazenda Água Limpa, localizada na Rodovia MG-455, km 18, pertencente à Universidade Federal de Uberlândia.

Foram recolhidos apenas os frutos caídos ao chão, que se encontravam em estágio de maturação completa. Estes frutos foram coletados durante o mês de outubro de 2010 e armazenados em local seco, com temperatura ambiente, protegidos da luz solar.

As sementes foram retiradas dos frutos com a utilização de uma morsa de bancada e foram selecionadas, sendo descartadas aquelas que apresentaram algum tipo de deformação ou lesões decorrentes do processo de extração do fruto.

Em julho de 2011, sementes recém-extraídas dos frutos foram inoculadas no meio de cultura MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962). Antes da inoculação, as sementes passaram por um processo de assepsia, quando foram lavadas com detergente líquido e deixadas sob água corrente durante cinco minutos. Após a assepsia, as sementes foram levadas à câmara de fluxo laminar onde receberam os diferentes tratamentos de descontaminação.

Os tratamentos de descontaminação consistiam em três diferentes tempos de imersão (10, 20 e 30 minutos) da semente, em hipoclorito de sódio com 2% ( $v v^{-1}$ ) de cloro ativo combinados com a ausência ou presença de um pré-tratamento que consistia na imersão das sementes, durante 10 minutos, em uma solução contendo o antibiótico rifampicina em uma concentração de  $0,5 g L^{-1}$ .

Desse modo, o experimento foi realizado em esquema fatorial 2 x 3 (ausência e presença do tratamento com antibiótico x tempos de imersão da semente no hipoclorito de sódio), em delineamento inteiramente casualizado, com seis tratamentos e quatro repetições, totalizando 24 parcelas, sendo que cada unidade experimental era composta por quatro frascos, sendo que, em cada um havia uma semente inoculada em meio de cultivo MS.

Na câmara de fluxo laminar, as sementes foram primeiramente submetidas, caso fosse determinado pelo tratamento, a imersão sob agitação da solução contendo a rifampicina durante 10 minutos. Após isto, para todos os tratamentos, as sementes eram colocadas em frascos, contendo álcool concentrado a 70% ( $v v^{-1}$ ) durante 1 minuto e meio. A próxima etapa consistia na imersão das sementes em hipoclorito de sódio (2%

de cloro ativo) durante 10, 20 ou 30 minutos de acordo com o tratamento. Durante esses períodos, as sementes eram constantemente colocadas em agitação. Terminado o tempo previsto, as sementes foram lavadas três vezes em água destilada e autoclavada e transferidas ao meio de cultura.

Para a inoculação foram utilizados instrumentos de manipulação esterilizados, que foram constantemente flambados durante o processo. A câmara de fluxo e todos os recipientes passaram por um processo de assepsia com a aplicação de álcool 70% (v v<sup>-1</sup>), além de serem submetidos à radiação U.V. durante 15 minutos.

Os explantes foram inoculados em frascos com capacidade para 150 mL, em seguida, foram vedados com tampa plástica. Foram colocados nos frascos 30 mL de meio MS, acrescido de 30 g L<sup>-1</sup> de sacarose, 0,4 mg L<sup>-1</sup> de tiamina; 1 mg L<sup>-1</sup> de piridoxina; 0,5 mg L<sup>-1</sup> de ácido nicotínico; 100 mg L<sup>-1</sup> de mio-inositol; 0,5 g L<sup>-1</sup> de caseína hidrolizada e 8 g L<sup>-1</sup> de ágar e o pH foi ajustado para 5,7. Os frascos contendo o meio MS e vedados com tampas plásticas passaram por um processo de autoclavagem, à uma temperatura de 121°C durante 20 minutos um dia antes da inoculação.

Após a inoculação, os frascos foram levados à sala crescimento, onde foram mantidos à temperatura de 25 ± 1°C. Os frascos foram submetidos a um fotoperíodo de 16 horas de luz, fornecida por lâmpadas fluorescentes brancas frias, que proporcionavam uma intensidade luminosa de 25 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>.

O desenvolvimento das plântulas foi acompanhado durante quatro meses e, ao final deste período, as seguintes características foram analisadas: percentual de germinação (sendo consideradas germinadas as sementes que possuísem a parte aérea ou a radícula visível e desenvolvida); contaminação (sendo diferenciadas aquelas contaminações provocadas por fungos e aquelas provocadas por bactérias).

Os dados do percentual de germinação foram submetidos à análise de variância ( $\alpha = 0,05$ ), através do programa computacional Sistema para Análise de Variância (SISVAR) (FERREIRA, 2000).

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os explantes de baruzeiro cultivados *in vitro* apresentaram um total de 4,17% de contaminação, com 3,12% de contaminação fúngica e 1,05% de contaminação de origem bacteriana. Tais níveis de contaminação mostram que os tratamentos de descontaminação utilizados foram eficientes e são considerados satisfatórios, uma vez que de acordo com Sato e colaboradores (2001) o estabelecimento *in vitro* de espécies florestais nativas pode apresentar uma série de dificuldades quanto à contaminação, uma vez que o material vegetal que deverá ser usado pode vir do campo, contendo altas concentrações de micro-organismos.

A eficiência de todos os tratamentos utilizados no combate à contaminação indica que a permanência das sementes em solução de hipoclorito de sódio 2 % durante 10 minutos é suficiente no combate ao desenvolvimento de micro-organismos. Castro e outros (2011), trabalhando na germinação *in vitro* da palma doce (*Nopalea cochenillifera* (L.) Salm Dyck) observaram que a imersão das sementes, durante 10 minutos, em solução de hipoclorito de sódio foi efetiva no controle da contaminação, mesmo trabalhando com concentrações inferiores deste produto (0,5, 1,0 e 1,5%).

Lima e Moraes (2006) trabalhando no controle da contaminação bacteriana na multiplicação *in vitro* da bananeira (*Musa* AAA cv. Caipira) observaram uma maior eficiência no controle bacteriano no tratamento com a presença da rifampicina combinada ao hipoclorito de sódio, no entanto, esse efeito positivo do antibiótico pode estar ligado às maiores taxas de contaminação bacteriana encontradas no cultivo da bananeira, na qual o efeito bactericida do hipoclorito passou a ser insuficiente. Diferente do que foi observado com o baruzeiro, para o qual tratamentos apenas com imersão em hipoclorito de sódio se mostraram eficientes no controle da contaminação.

Quanto à germinação das sementes, a Tabela 1 mostra que não houve diferenças entre os tempos de imersão no hipoclorito de sódio, mas a germinação de sementes que receberam o tratamento com a rifampicina foi menor do que naquelas tratadas apenas com o hipoclorito de sódio (Figura 1).

A germinação das sementes de baruzeiro não ter sido afetada por maiores tempos de exposição ao hipoclorito de sódio configura um fato positivo, uma vez que tal elemento, apesar de ter um efeito germicida benéfico, pode, para certas espécies, ter implicações negativas no desenvolvimento da planta, como o aumento das taxas de

oxidação do explante (PEREIRA et al., 2011) e redução das taxas de sobrevivência do mesmo (FERMINO JUNIOR et al., 2009).

Tabela 1. Resumo da análise de variância para os percentuais de germinação de explantes de baruzeiro (*Dipteryx alata* Vog.) submetidos a diferentes tratamentos de descontaminação. Uberlândia, MG, 2012.

Fontes de Variação	GL	Quadrado médio
		Germinação
Tempo de imersão	2	0,01 <sup>ns</sup>
Antibiótico	1	0,04*
Tempo de imersão x Antibiótico	2	0,01 <sup>ns</sup>
Resíduo	18	0,01
CV (%)		8,70

<sup>ns</sup> não significativo a 5% de probabilidade, pelo teste F.

\* significativo a de 5% de probabilidade, pelo teste F.

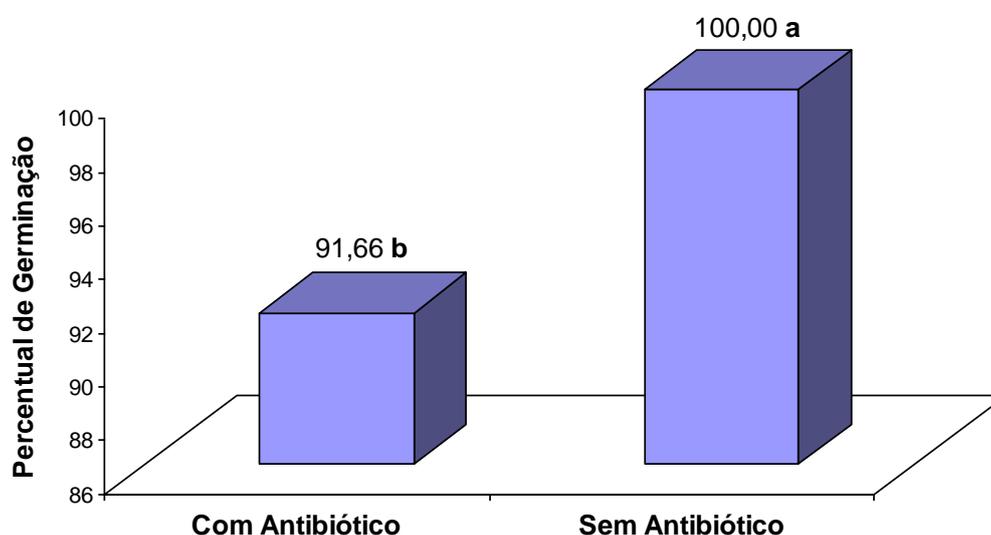


Figura1. Percentual de germinação *in vitro* de baruzeiro (*Dipteryx alata* Vog.) com e sem a utilização do tratamento com o antibiótico rifampicina. Uberlândia, MG, 2012.

No entanto, conforme observado, o baruzeiro parece se inserir no grupo de espécies que suporta que suas sementes sejam expostas a maiores concentrações de hipoclorito de sódio durante maiores períodos, assim como o mogno (*Swietenia macrophylla* King) que mostrou melhores níveis de germinação e contaminação quando

suas sementes foram submetidas à solução com 2,5 e 5,0% de hipoclorito de sódio por 30 e 20 minutos, respectivamente (COUTO et al., 2004). Sementes de angico-gurucaia (*Parapiptadenia rigida* (Bentham) Brenan), planta da mesma família do baruzeiro (Fabaceae), desinfestadas com solução com 2,5% de hipoclorito de sódio durante 30 minutos e 5,0% em 15 minutos, apresentaram menores percentuais de contaminação com maiores taxas de germinação (NASCIMENTO et al., 2007).

A superioridade na germinação de sementes que não foram submetidas ao tratamento com antibiótico pode estar ligada a um efeito negativo da rifampicina no crescimento normal do explante. Carneiro e colaboradores (2000) observaram a redução no tamanho e deformação da parte aérea em explantes de bananeira (*Musa* AAB cv. Maçã) devido à ação da rifampicina. Desse modo, é possível que haja um efeito fitotóxico deste antibiótico. Mesmo que não seja possível observar deformações nas plantas, o produto pode alterar etapas do desenvolvimento do explante, como foi descrito por Lima e Moraes (2006) que não notaram sintomas de fitotoxidez nas plântulas de bananeira (*Musa* AAA cv. caipira) tratadas com o antibiótico, mas perceberam a redução na formação de brotos por explante.

Sendo assim, o uso do hipoclorito de sódio na ausência do tratamento com o antibiótico mostra-se mais positivo como tratamento de descontaminação de sementes de baruzeiro, sendo possível a imersão dos explantes na solução de hipoclorito de sódio 2,0% durante 10, 20 ou 30 minutos com taxas consideráveis de germinação. Mamedes e Silva (2010) relatam um procedimento semelhante para a descontaminação do baruzeiro, com uso de hipoclorito de sódio comercial 2,0% durante 20 minutos aliado à ação do álcool 70% durante 5 minutos, no entanto, não são descritas as taxas de contaminação e germinação geradas neste método.

## 4 CONCLUSÕES

Os tratamentos com imersão em solução de hipoclorito de sódio, contendo 2% de cloro ativo durante 10, 20 ou 30 minutos com ou sem prévia imersão em solução com 0,5 g L<sup>-1</sup> de rifampicina proporcionaram níveis satisfatórios de controle da contaminação, tanto por fungos quanto por bactérias.

O uso da imersão em hipoclorito de sódio concentrado a 2,0% (durante 10, 20 ou 30 minutos) sem o uso do antibiótico rifampicina proporciona as maiores taxas de germinação *in vitro* das sementes de baruzeiro (*Dipteryx alata* Vog.)

A imersão de sementes em solução de hipoclorito de sódio durante 10 minutos pode ser considerada a melhor opção para descontaminação destes explantes no cultivo *in vitro* do baruzeiro devido à eficiência, economia de tempo e praticidade deste método.

## REFERÊNCIAS

- ÁVIDOS, M. F. D.; FERREIRA, L. T. Frutos dos Cerrados: preservação gera muitos frutos. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, Brasília, DF, v.3, n.15, p.36-41, 2000.
- CARNEIRO, M. F.; SILVA, G. D.; XIMENES, P. A.; CARNEIRO, I. F.; BORGES J. D. Avaliação de produtos na descontaminação de explantes de banana (*Musa AAB* cv. Maçã). **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 30, n. 1, p. 29-35, 2000.
- CASSANA, F. F.; PINTO, L. S.; POHL, S.; BIANCHI, V. J.; BRAGA, E. J. B.; PETERS, J. A.. Regeneração de brotos a partir de folhas de Mirtilo cultivadas *in vitro*. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 5, supl. 2, p. 870-872, jul. 2007. Disponível em: <<http://www6.ufrgs.br/seerbio/ojs/index.php/rbb/article/viewFile/717/601>>. Acesso em: 20 ago. 2012.
- CASTRO, J. P.; ARAUJO, E.R.; REGO, M. M.; REGO, E. R. *In vitro* germination and disinfection of sweet cactus (*Nopalea cochenillifera* (L.) Salm Dyck). **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 33, n. 3, p. 509-512. 2011.
- CID, L. P. B. A propagação *in vitro* de planta. O que isso? **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, Brasília, DF, n. 19, p. 16-21, 2001. Disponível em: <[http://www.biotecnologia.com.br/revista/bio19/19\\_3.pdf](http://www.biotecnologia.com.br/revista/bio19/19_3.pdf)>. Acesso em: 12 jun. 2012.
- COUTO, J. M. F.; OTONI, W. C.; PINHEIRO, A. L.; FONSECA, E. P. Desinfestação e germinação *in vitro* de sementes de mogno (*Swietenia macrophylla* King). **Revista Árvore**, Viçosa, MG, v. 28, n. 5, p. 633-642, 2004.
- FERMINO JUNIOR, P. C. P.; NAGAO, E. O.; PEREIRA, J. E. S. Estabelecimento, germinação e multiplicação *in vitro* de teca (*Tectona grandis* L.f.) a partir de genótipos estabelecidos na Amazônia Sul-Occidental. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, v. 37, p. 225-233, 2009.
- FERREIRA, D. F. Análise estatística por meio do SISVAR (Sistema para Análise de Variância) para Windows versão 4.0. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45, 2000, São Carlos. **Anais...** São Carlos: UFSCar, 2000. p. 255-258.
- FIGUEIREDO, L. H. M.; TAKITA, M. A. Cultura de tecidos e transformação genética de citros. **Laranja**, Cordeirópolis, v. 25, n. 2, p. 439-459. 2004. Disponível em: <[http://www.geo.ufv.br/simposio/simposio/trabalhos/comunicacao\\_coordenada/012.pdf](http://www.geo.ufv.br/simposio/simposio/trabalhos/comunicacao_coordenada/012.pdf)>. Acesso em: 2 ago. 2012.
- JESUS, A. M. S.; VILLA, F.; LARA, A. C. C.; PASQUAL, M. Avaliação do efeito das concentrações de sacarose e dos estádios de desenvolvimento do fruto no cultivo *in vitro* de embriões de frutos de cafeeiro. **Revista Ceres**, Viçosa, MG, v. 58, n. 6, dez. 2011. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rceres/v58n6/01.pdf>>. Acesso em: 13 ago. 2012.

- LASSAGA, S.; BRETÓN, A.; GIECO, L.; MILISICH, H.; DITTRICH, A. Cultivo *in vitro* de anteras de linho (*Linum usitatissimum* L.). **Ciencia, Docencia y Tecnología**, Concepción del Uruguay, n. 40, Mai. 2010. Disponível em: <<http://www.scielo.org.ar/pdf/cdyt/n40/n40a09.pdf>>. Acesso em: 21 ago. 2012.
- LIMA, J. D.; MORAES, W. S. Controle de bactérias contaminantes em explantes de bananeira (*Musa* AAA cv. Caipira). **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 36, p. 181-186, 2006.
- MAMEDES, T. C.; SILVA, S. A.. Cultivo *in vitro* de explantes de *Dipteryx alata*. VIII Seminário de Iniciação Científica e V Jornada de Pesquisa e Pós-Graduação, 2010, Ipameri. **Anais...** Ipameri, 2010. CD-ROM.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised médium for rapid growth and biossays with tabacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 15, p. 473-497, 1962.
- NASCIMENTO, P. K. V.; FRANCO, E. T. H.; FRASSETTO, E.G. Descontaminação e germinação *in vitro* de sementes de *Parapiptadenia rigida* Bentham (Brenam). **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 5, supl. 2, p. 141-143, jul. 2007
- NOGUEIRA, R. C.; PAIVA, R.; CASTRO, A. H.; VIEIRA, C. V.; ABBADE, L. C.; ALVARENGA, A. A.. Germinação *in vitro* de murici-pequeno (*Byrsonima intermedia* A. Juss.). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 28, n. 5, p. 1053-1059, set-out. 2004. Disponível em: <[http://www.editora.ufla.br/\\_adm/upload/revista/28-5-2004\\_12.pdf](http://www.editora.ufla.br/_adm/upload/revista/28-5-2004_12.pdf)>. Acesso em: 22 jul. 2012.
- PEREIRA, G. A.; CORREA, L. de S.; BOLIANI, A.C. Descontaminação e estabelecimento *in vitro* de explantes de bananeira 'Grande Naine' em diferentes concentrações de hipoclorito de sódio. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 33, p. 222-226, 2011.
- RESCAROLLI, C. L. S.; ZAFFARI, G. R. Produção de mudas de *Etilingera elatior* (Jack) R. M. Sm. através da cultura de tecidos *in vitro*. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 11, n. 2, p. 190-195. 2009. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rbpm/v11n2/a13v11n2.pdf>>. Acesso em: 23 jun. 2012.
- SATO, A. Y.; DIAS, H. C. T.; ANDRADE, L. A.; SOUZA, V. C. Micropropagação de *Celtis* sp.: controle da contaminação e oxidação. **Cerne**, Lavras, v. 7, n. 2, p. 117-123. 2001.
- SCHERWINSKI-PEREIRA, J. E. **Contaminações microbianas na cultura de células, tecidos e órgãos de plantas**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2010. v. 1.
- SILVA, R. P.; MENDES, B. M. J.; MOURÃO FILHO, F. A. A. Indução e cultivo *in vitro* de gemas adventícias em segmentos de epicótilo de laranja-azedá. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 43, n. 10, p. 1331-1337, out. 2008. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/pab/v43n10/11.pdf>>. Acesso em: 21 ago. 2012.

SOUSA, G. C.; CAMPOS, M. R. C.; CLEMENTE, P. L. Contaminação Microbiana na Propagação *in vitro* de *Cattleya walkeriana* e *Schomburgkia crispa*. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 5, supl. 1, p. 405-407, jul. 2007. Disponível em: <<http://www6.ufrgs.br/seerbio/ojs/index.php/rbb/article/viewFile/414/336>>. Acesso em: 15 jul. 2012.

VERA, R.; SOUZA, E. R. B. Barú. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal. v. 31, n.1, 2009. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0100-29452009000100001](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-29452009000100001)>. Acesso em: 5 jul. 2012.

### CAPÍTULO III

#### ANTIOXIDANTES NA PRESENÇA E AUSÊNCIA PARCIAL DE LUZ NO CULTIVO *IN VITRO* DO BARUZEIRO (*Dipteryx alata* Vog.)

##### RESUMO

Neste trabalho, objetivou-se avaliar diferentes antioxidantes na presença e ausência parcial de luz no cultivo *in vitro* do baruzeiro (*Dipteryx alata* Vog.). Sementes retiradas de frutos maduros foram inoculadas em meios de cultivo MS, contendo diferentes antioxidantes. Após isto, as sementes foram mantidas sob luz ou no escuro nos primeiros dez dias, com exposição à luz após este período. O trabalho foi conduzido em um sistema de blocos casualizados em um esquema fatorial 2 x 4 (com luz e escuro por 10 dias x antioxidantes: meio MS sem suplementação de antioxidantes; MS + 400 mg L<sup>-1</sup> de PVP; MS + 100 mg L<sup>-1</sup> de Ácido Ascórbico; MS + 3 g L<sup>-1</sup> de carvão ativado) com três blocos, totalizando 24 parcelas, cada uma constituída de cinco frascos e 10 explantes. Foram avaliados os percentuais de contaminação, germinação e de plantas formadas. A presença ou ausência inicial de luz não afetou nenhuma das características avaliadas. Apenas o percentual de plantas formadas foi afetado pelos antioxidantes, sendo o carvão ativado aquele que proporcionou um maior número de plantas de baruzeiro formadas a partir de sementes cultivadas *in vitro*.

Palavras-chave: PVP, Ácido ascórbico, Carvão ativado.

**ANTIOXIDANTS IN THE PRESENCE AND PARTIAL ABSENCE OF LIGHT  
ON *IN VITRO* CULTIVATION OF BARUZEIRO (*Dipteryx alata* Vog.)**

**ABSTRACT**

This study evaluated different antioxidants in the presence and partial absence of light on baruzeiro (*Dipteryx alata* Vog.) *in vitro* cultivation. Seeds from mature fruits were inoculated in MS culture media containing different antioxidants. Subsequently, the seeds were kept under light or in the dark for the first ten days, with exposure to light after this period. The experimental design was randomized blocks in a 2 x 4 factorial (with light or darkness for 10 days x antioxidants: MS medium without supplementation of antioxidants, MS + 400 mg L<sup>-1</sup> of PVP; MS + 100 mg L<sup>-1</sup> of ascorbic acid; MS + 3 g L<sup>-1</sup> of activated charcoal) with three repetitions, totaling 24 plots, each consisting of five flasks and 10 explants. The percentage of contamination, germination and plants formed were evaluated. The initial presence or absence of light did not affect any of those characteristics. Only the percentage of plants formed was affected by antioxidants. The activated charcoal was the antioxidant which provided the greatest number of baruzeiro plants formed from seeds cultivated *in vitro*.

Keywords: PVP, Ascorbic acid, Activated charcoal.

## 1 INTRODUÇÃO

As técnicas de cultura de tecidos vegetais são importantes ferramentas no trabalho para o desenvolvimento do cultivo de diversas espécies. As fruteiras nativas do Cerrado são espécies que merecem atenção especial, uma vez que muitas delas apresentam múltiplas possibilidades de uso, com frutos de sabores atrativos, benefícios nutritivos, além de determinadas fruteiras mostrarem elevado potencial para o aproveitamento comercial, aliado à conservação ambiental. Por todos estes motivos, o cultivo *in vitro* destas espécies vem sendo estudado (MARTINOTO et al., 2007; SANTOS et al., 2006; STEIN et al., 2007) com o intuito de colaborar com o desenvolvimento das mesmas, para que assim, os benefícios proporcionados por estas fruteiras possam ser, de fato, aproveitados.

Nas etapas iniciais do desenvolvimento *in vitro* de diversas plantas, algumas das maiores dificuldades encontradas estão, muitas vezes, ligadas a problemas provenientes da oxidação dos explantes. Tais problemas podem ser mais graves quando se trabalha com espécies lenhosas, nas quais há uma maior incidência e intensidade de oxidações no ambiente *in vitro*. Esta oxidação está ligada à liberação de compostos fenólicos pelo explante. Estes compostos podem escurecer o meio de cultivo e dificultar a adaptação e o crescimento do explante.

Silva e outros (2008) observaram que cultivares de mirtilo (*Vaccinium ashei* Reade) que possuíam maiores índices de oxidação apresentavam menores percentuais de sobrevivência e estabelecimento, além disso, quando usaram como explante material extraído de ramos herbáceos, constataram menores níveis de oxidação do que quando o explante era extraído de ramos lenhosos. Na micropropagação da bananeira Maçã (*Musa* spp. AAB) a oxidação também trouxe consequências negativas correspondendo a menores níveis de formação de brotos pelos explantes (CAMOLESI et al., 2007).

Para atuar contra a oxidação no ambiente *in vitro*, uma medida comumente adotada é a adição de compostos antioxidantes ao meio de cultivo, como o carvão ativado, a polivinilpirrolidona (PVP) e o ácido ascórbico (MELO et al., 2001; GALDIANO JÚNIOR, 2012). Outra medida que pode ser empregada é a exposição das plantas *in vitro* a diferentes intensidades de luz durante períodos definidos.

Diversos trabalhos vêm sendo desenvolvidos com o intuito de encontrar antioxidantes que se adaptem ao cultivo *in vitro* de uma grande variedade de espécies. Marinho e colaboradores (2011) testaram o ácido ascórbico, o ácido cítrico e o carvão

ativado como antioxidantes no controle da oxidação *in vitro* de *Lippia gracilis* Schauer. Costa e outros (2007) compararam os efeitos do PVP e do carvão ativado no controle da oxidação no estabelecimento *in vitro* do alecrim pimenta (*Lippia sidoides* Cham). PVP, carvão ativado e o ácido ascórbico foram testados em um mesmo trabalho, como antioxidantes na germinação *in vitro* da guarirobeira (*Syagrus oleracea* (Mart.) Becc) (MELO et al., 2001).

Regimes de luz variados também são estudados, observando seus efeitos na oxidação e estabelecimento de explantes diversos. Ribeiro e colaboradores (2011) avaliaram o desenvolvimento de embriões micropropagados de coquinho-azedo (*Butia capitata* (Mart.) Becc. ) cultivados na presença ou ausência de luz durante 30 dias. Já Souza e colaboradores (2006) mantiveram segmentos nodais de araçazeiro cv. Irapuã no escuro durante 7 dias visando reduzir as oxidações.

O baruzeiro (*Dipteryx alata* Vog.) é uma fruteira nativa do Cerrado. É uma espécie lenhosa, de porte arbóreo, cujo fruto e semente são utilizados na alimentação humana e muito apreciados regionalmente. Além disso, o baruzeiro pode ser aproveitado no cultivo silvopastoril, na alimentação animal, na produção de madeira e no reflorestamento (SANO et al., 2004).

Todas estas possibilidades de utilização do baruzeiro garantem ao mesmo um elevado potencial. No entanto, para que o cultivo e aproveitamento desta fruteira alcancem a plenitude é necessário um trabalho de pesquisa e desenvolvimento da espécie, sendo que o estudo no ramo da biotecnologia pode gerar diversos benefícios. Por se tratar de uma espécie lenhosa, um dos maiores desafios esperados no cultivo *in vitro* da mesma é a superação dos problemas de oxidação.

Desta maneira, neste trabalho, objetivou-se avaliar diferentes antioxidantes na presença e ausência parcial de luz no cultivo *in vitro* do baruzeiro (*Dipteryx alat* Vog.).

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Laboratório de Biotecnologia da Universidade Federal de Uberlândia no período de agosto a dezembro de 2011. Para inoculação foram utilizadas sementes provenientes de frutos, coletados de baruzeiros localizados na Fazenda Água Limpa, localizada na Rodovia MG-455, km 18, pertencente à Universidade Federal de Uberlândia, situada no município de Uberlândia, MG. Os frutos maduros foram coletados em outubro de 2010 e armazenados em local arejado, protegidos da luz e do calor.

No dia anterior à inoculação, as sementes foram retiradas dos frutos com a ajuda de uma morsa de bancada, aquelas que estavam íntegras, com boa aparência, foram selecionadas para o procedimento.

As sementes foram lavadas em água corrente com detergente líquido durante cinco minutos. Em seguida, foram levadas para câmara de fluxo laminar, onde elas receberam o tratamento de descontaminação, sendo colocadas em solução com 70% (v v<sup>-1</sup>) de etanol durante um minuto e meio e, posteriormente, em solução de hipoclorito de sódio com 2% (v v<sup>-1</sup>) de cloro ativo durante 20 minutos sob agitação.

Retiradas da solução de descontaminação, as sementes foram enxaguadas três vezes com água destilada e autoclavada. Após esta etapa, os explantes foram inoculados em frascos com capacidade para 150 mL, contendo 50 mL de meios de cultivo MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962) (acrescido de nutrientes conforme o experimento no capítulo II) adicionando-se o antioxidante correspondente a cada tratamento, sendo colocadas duas sementes em cada frasco, fechado com tampa plástica.

Para garantir a assepsia durante todo o processo, foram tomadas diversas medidas. A câmara de fluxo, todas as vidrarias e instrumentos usados na inoculação foram esterilizados com álcool 70% (v v<sup>-1</sup>), sendo que os instrumentos que entraram diretamente em contato com as sementes foram previamente autoclavados durante 20 minutos a 121°C, assim como os frascos com o meio de cultivo.

O trabalho foi implantado com delineamento estatístico de blocos casualizados em esquema fatorial 2 x 4 (com luz e escuro por 10 dias x antioxidantes: meio MS sem suplementação de antioxidantes; MS + 400 mg L<sup>-1</sup> de PVP; MS + 100 mg L<sup>-1</sup> de Ácido Ascórbico; MS + 3 g L<sup>-1</sup> de carvão ativado) com três blocos, totalizando 24 parcelas, cada uma constituída de 5 frascos e 10 explantes.

Após a inoculação, os frascos com as sementes foram levados à sala de crescimento, de modo que aqueles pertencentes aos tratamentos com germinação no escuro foram cobertos com papel alumínio durante 10 dias, para que neste período não recebessem luz. Já os outros tratamentos ficaram sob um regime de 16 horas diárias de luz, com intensidade luminosa de  $25 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ . Após 10 dias, todos os tratamentos passaram a ser submetidos a estas condições de luminosidade. Os frascos foram mantidos em sala de crescimento sob temperatura de  $25 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ .

Durante quatro meses, os explantes foram mantidos na sala de crescimento, e o seu desenvolvimento foi avaliado. Ao final do período de desenvolvimento, foram contabilizadas as seguintes características: contaminações (%); germinação (%) e plantas totalmente formadas (%), na qual foram contabilizadas as plantas que apresentavam raiz e parte aérea já desenvolvidas, com folhas formadas e caule ramificado.

Os dados coletados foram, através do programa SPSS, submetidos aos testes de Shapiro-Wilk, para testar a normalidade dos resíduos e de Levene, para avaliar a homogeneidade das variâncias, ambos com  $\alpha = 0,01$ . Após isto, os dados foram submetidos à análise de variância, e as médias comparadas através do Teste de Tukey com  $\alpha = 0,05$ , utilizando o programa computacional Sistema para Análise de Variância (SISVAR) (FERREIRA, 2000).

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os dados processados apresentaram normalidade dos resíduos e homogeneidade das variâncias, ambas com  $\alpha = 0,01$ .

Não houve diferenças entre os tratamentos utilizados quanto à germinação das sementes de baruzeiro e a contaminação no ambiente *in vitro* (Tabela 1). No entanto, foram observadas variações no número de plantas estabelecidas.

Tabela 1. Resumo das análises de variância para os percentuais de contaminação; germinação e plantas formadas em explantes de baruzeiro (*Dipteryx alata* Vog.), germinados *in vitro* sob a ação de substâncias antioxidantes no meio de cultivo, na presença ou ausência parcial de luz. Uberlândia, MG, 2012

Fontes de Variação	GL	Quadrados Médios		
		Contaminação	Germinação	Plantas Formadas
<b>Antioxidantes</b>	3	184,98 <sup>ns</sup>	253,45 <sup>ns</sup>	949,02*
<b>Luz</b>	1	437,76 <sup>ns</sup>	311,76 <sup>ns</sup>	244,48 <sup>ns</sup>
<b>Antioxidantes x Luz</b>	3	218,32 <sup>ns</sup>	125,59 <sup>ns</sup>	107,57 <sup>ns</sup>
<b>Bloco</b>	2	1650,26	193,22	774,92
<b>Resíduo</b>	14	119,31	109,15	261,67
<b>CV (%)</b>		62,05	13,96	33,23

<sup>ns</sup> não significativo a 5% de probabilidade, pelo teste F.

\* significativo a de 5% de probabilidade, pelo teste F.

Analisando a germinação das sementes, observa-se que o meio acrescido de carvão ativado foi o que proporcionou maiores percentuais de germinação com 83,83%, que, no entanto, foram estatisticamente iguais aos valores encontrados com o uso dos outros tipos de suplementação nos meios de cultura (MS sem antioxidantes – 69,00%; PVP – 71,41%; Ácido Ascórbico – 75,00%) (Tabela 1). Tais valores estão de acordo com aqueles encontrados por Corrêa e colaboradores (2000), que relataram percentuais de germinação entre 66,66 e 100% para a o cultivo *ex vitro* do baruzeiro.

Observa-se que a ação de manter ou não as sementes no escuro durante os 10 primeiros dias, após a inoculação, não afetou a germinação das mesmas (Tabela 1), mostrando que a semente de baruzeiro, no ambiente *in vitro*, não depende de luz no estágio inicial para germinar, o que difere de resultados encontrados no cultivo *ex vitro* do baruzeiro, onde maiores taxas de germinação foram observadas em sementes expostas a maiores níveis de luminosidade (FONSECA et al., 1994).

Moraes e outros (2010) não constatarem mudanças na germinação de sementes de alcachofra (*Cynara cardunculus* L. subsp. *scolymus* (L.) Fiori) inoculadas no escuro e sob luz, embora tenham notado que a luz contribuiu positivamente na redução da contaminação, o que não ocorreu no cultivo *in vitro* do baruzeiro, no qual a diferença no regime de luminosidade e uso de compostos antioxidantes não interferiram nos índices de contaminação dos explantes (Tabela 1).

Os percentuais de plantas totalmente desenvolvidas, mesmo não sendo afetados pelos regimes de luminosidade testados, variaram quanto ao uso dos antioxidantes no meio de cultivo, sendo o carvão ativado aquele que trouxe melhores resultados. Esse efeito positivo, trazido pelo uso do antioxidante, indica uma redução na oxidação dos explantes, pois mesmo que para o baruzeiro não seja possível a identificação visual desta oxidação, seu efeito pode refletir na redução do índice de plantas totalmente formadas, uma vez que, conforme observado em trabalho feito por Costa e colaboradores (2007) com alecrim-pimenta (*Lippia sidoides* Cham.), a oxidação tende a afetar o desenvolvimento da planta *in vitro*.

O tratamento com uso de PVP, no meio de cultura, foi o que resultou em menores percentuais de plantas desenvolvidas (Figura 1), o que corrobora com os resultados encontrados por Melo e colaboradores (2001), quando este antioxidante foi o responsável pelos maiores níveis de oxidação das sementes de guarirobeira (*Syagrus oleracea* (Mart.) Becc.), provocando a redução na germinação das mesmas. No caso do baruzeiro, mesmo não havendo redução na germinação, a aparente menor eficiência do PVP no controle da oxidação pode ser relacionada à menor quantidade de plantas formadas.

O carvão ativado foi o composto que proporcionou maiores eficiências quanto ao desenvolvimento das plantas, sendo o único a obter resultados considerados diferentes daqueles encontrados com o antioxidante menos eficiente (PVP), além disso, apenas em meios com o uso do carvão ativado, as plantas totalmente desenvolvidas corresponderam a mais de 50% dos explantes inoculados.

Desse modo, é possível notar os benefícios da adição do carvão ativado no meio de cultura, como já constatado em vários trabalhos, como no estudo realizado por Nunes e colaboradores (2008) onde o carvão ativado teve importante contribuição no crescimento de plântulas geradas no cultivo de embriões *in vitro* do pinhão-manso (*Jatropha curcas*). O carvão ativado também favoreceu as orquídeas *Cattleya forbesii* e *Cattleya harrisoniana*, contribuindo para a germinação *in vitro* e crescimento das

mesmas, sendo que na espécie *Cattleya harrisoniana* a dose de 2,5 g L<sup>-1</sup>, dose próxima a utilizada para o baruzeiro, trouxe maiores taxas de desenvolvimento para diversas características morfológicas avaliadas (SCHNEIDERS et al., 2012).

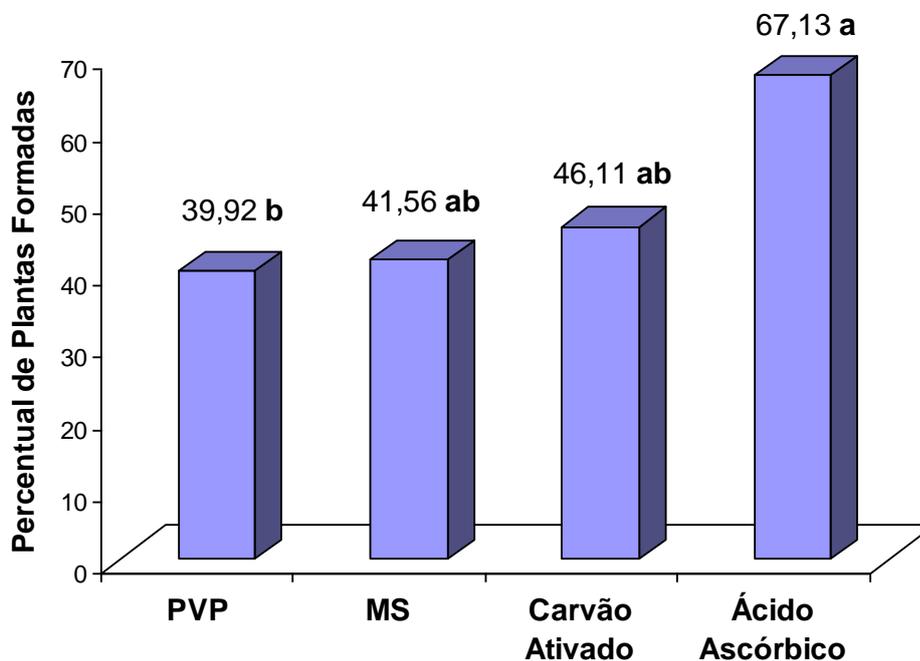


Figura 1. Percentual de plantas formadas em relação ao uso de diferentes antioxidantes no meio de cultivo para a germinação *in vitro* de baruzeiro (*Dipteryx alata* Vog.) Uberlândia, MG, 2012.

O ácido ascórbico e o uso do meio MS, sem antioxidantes, tiveram resultados intermediários quanto ao desenvolvimento das plantas de baruzeiro. No entanto, o efeito dos antioxidantes mostra estar relacionado diretamente com a espécie utilizada na propagação *in vitro*, uma vez que o ácido ascórbico apresentou desempenho superior a outros antioxidantes no cultivo de espécies de palmáceas como guaribeira e o coqueiro (*Cocus nucifera* L.) (MELO et al., 2001; SIQUEIRA; INOUE, 1991)

Outro experimento que evidencia a estreita relação entre o antioxidante utilizado e a espécie cultivada foi realizado por Marinho e colaboradores (2011), onde nenhum dos compostos testados foi eficaz no controle da oxidação de *Lippia gracilis* Schauer.

O carvão ativo promove benefícios comprovados ao cultivo *in vitro* de espécies nativas, como a mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes), e o araticunzeiro do brejo (*Annona glabra* L.) (LÉDO et al., 2007; SANTANA et al., 2011). Os resultados proporcionados pelo carvão ativado na germinação *in vitro* do baruzeiro mostram que o uso deste composto antioxidante é promissor para este método de propagação desta frutífera nativa do Cerrado.

## 4 CONCLUSÕES

Os explantes mantidos no escuro por 10 dias não apresentaram alterações quanto aos percentuais de contaminação, germinação e plantas formadas no processo de estabelecimento *in vitro* do baruzeiro (*Dipteryx alata* Vog.).

As taxas de germinação e contaminação das plantas de baruzeiro *in vitro* não foram afetadas com o uso dos antioxidantes estudados.

O uso de antioxidantes, no meio de cultivo, interferiu no percentual de plantas formadas a partir de explantes de baruzeiro, sendo o carvão ativado aquele que proporcionou os melhores resultados.

O carvão ativado ( $3 \text{ g L}^{-1}$ ) é o antioxidante que proporciona maiores percentuais de plantas formadas a partir de explantes de baruzeiro.

## REFERÊNCIAS

- CAMOLESI, M. R.; KAIHARA, E. S.; SACONI, C. G.; FARIA, R. T.; NEVES, C. S. V. Redução da oxidação na propagação *in vitro* da bananeira 'maçã'. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 31, n. 4, p. 1237-1241, jan. 2007.
- CORRÊA, G. C.; ROCHA, M. R.; NAVES, R. V. Germinação e emergência de plântulas de baru (*Dipteryx alata* Vog.) nos Cerrados do Estado de Goiás. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 30, n. 2, p. 17-23, 2000.
- COSTA, A. S.; ARRIGONI-BLANK, M. F.; BLANK, A. F.; MENDONÇA, A. B.; AMÂNCIO, V. F.; LEDO, A. S. Estabelecimento de alecrim-pimenta *in vitro*. **Horticultura Brasileira**, Brasília, DF, v. 25, n. 1, p. 68-72, jan-mar. 2007.
- FERREIRA, D. F. Análise estatística por meio do SISVAR (Sistema para Análise de Variância) para Windows versão 4.0. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45, 2000, São Carlos. **Anais...** São Carlos: UFSCar, 2000. p. 255-258
- FONSECA, C. E. L.; FIGUEIREDO, S. A.; SILVA, J. A. Influência da profundidade de semeadura e da luminosidade na germinação de sementes de baru (*Dipteryx alata* Vog.). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 29, n. 4, p. 653-9, 1994.
- GALDIANO JÚNIOR, R. F.; MANTOVANI, C.; PIVETTA, K. F. L.; LEMOS, E. G. M. Crescimento *in vitro* e aclimatização de *Cattleya loddigesii* Lindley (*Orchidaceae*) com carvão ativado sob dois espectros luminosos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 42, n.5, p. 801-807, 2012.
- LÉDO, A. S., SECA, G. S. V.; BARBOZA, S. B. S. C.; SILVA JUNIOR, J. F. Crescimento inicial de mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes) em diferentes meios de cultivo *in vitro*. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 31, n. 4, p. 989-993, jul-ago. 2007.
- MARINHO, M. J. M.; ALBUQUERQUE, C. C.; MORAIS, M. B.; SOUZA, M. C. G.; SILVA, K. M. B. Estabelecimento de protocolo para micropropagação de *Lippia gracilis* Schauer. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**. Botucatu, v. 13, n. 2, p. 246-252, 2011.
- MARTINOTTO, C.; PAIVA, R.; SANTOS, B. R.; SOARES, F. P.; NOGUEIRA, R. C.; SILVA, A. A. N. Efeito da escarificação e luminosidade na germinação *in vitro* de sementes de cagaiteira (*Eugenia dysenterica* DC.). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 31, n. 6, p. 1668-1671, nov-dez. 2007. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/cagro/v31n6/a10v31n6.pdf>>. Acesso em: 26 jan. 2011.
- MELO, B.; PINTO, J. E. B. P.; LUZ, J. M. Q.; PEIXOTO, J. R.; JULIATTI, F. C. Diferentes antioxidantes no controle da oxidação, germinação e desenvolvimento das plântulas na cultura *in vitro* de embriões da guarirobeira (*Syagrus oleracea* (Mart.) Becc.). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 25, p. 1301-1306. 2001.

MORAES, C. F.; 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**, Vitória da Conquista, v. 28, n. 1, p. 64-69, jan-mar. 2010.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised médium for rapid growth and biossays with tabacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 15, p. 473-497, 1962.

NUNES, C. F.; PASQUAL, M.; SANTOS, D. N.; CUSTÓDIO, T. N.; ARAUJO, A. G. de. Diferentes suplementos no cultivo *in vitro* de embriões de pinhão-manso. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 43, n. 1, p. 9-14, jan. 2008.

RIBEIRO, L. M.; NEVES, S. C.; SILVA, P. O.; ANDRADE, I. G. Germinação de embriões zigóticos e desenvolvimento *in vitro* de coquinho-azedo. **Revista Ceres**, Viçosa, MG, v. 58, n. 2, 133-139. 2011.

SANO, S. M.; RIBEIRO, J. F.; BRITO, M. A. **Baru**: biologia e uso. Planatina: Embrapa Cerrados, 2004 (Documentos, 116).

SANTANA, J. R. F.; PAIVA, R.; SOUZA, A. V.; OLIVEIRA, L. M. Effect of different culture tube caps and concentrations of activated charcoal and sucrose on *in vitro* growth and budding induction of *Annona glabra* L. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, n. 5, p. 916-923, set-out. 2011.

SANTOS, B. R.; PAIVA, R.; NOGUEIRA, R. C.; OLIVEIRA, L. M.; SILVA, D. P. C.; MARTINOTTO, C.; SOARES, F. P.; PAIVA, P. D. O. Micropropagação de pequiheiro (*Caryocar brasiliense* Camb.). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 28, n. 2, p. 293-296, ago. 2006.  
Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rbf/v28n2/a31v28n2.pdf>>. Acesso em: 26 jan. 2011

SCHNEIDERS, D.; PESCADOR, R.; BOOZ, M. R.; SUZUKI, R. M. Germinação, crescimento e desenvolvimento *in vitro* de orquídeas (*Cattleya* spp., *Orchidaceae*). **Revista Ceres**. Viçosa, MG, v. 59, n. 2, p. 185-191, mar-abr. 2012.

SILVA, L. C.; SCHUCH, M. W.; SOUZA, J. A.; ERIG, A.C.; ANTUNES, L. E. C. Tipo de ramo e efeito do ácido indol acético (AIA) no estabelecimento *in vitro* de três cultivares de mirtilo. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 38, n. 2, p. 522-525. 2008.

SIQUEIRA, E. R.; INOUE, M. T. Controle de oxidação na cultura de tecidos do coqueiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 26, n. 7, p. 949-953. 1991.

SOUZA, J. A.; SCHUCH, M. W.; SILVA, L. C. Efeito do tipo de ramo e do regime de luz fornecido à planta matriz no estabelecimento *in vitro* de araçazeiro cv. "Irapuã". **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 36, n. 6, Dez. 2006.

STEIN, V. C.; PAIVA, R.; SOARES, F. P.; NOGUEIRA, R. C.; SILVA, L. C.; EMRICH, E. Germinação *in vitro* e *ex vitro* de *Inga vera* Willd. subsp. *affinis* (DC.) T.D. Penn. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 31, p. 1702-1708, nov-dez. 2007.

Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/cagro/v31n6/a15v31n6.pdf>>. Acesso em: 30 jan. 2011.

## CAPÍTULO IV

### CONCENTRAÇÃO DO MEIO MS E CORTE DA SEMENTE NO ESTABELECIMENTO *IN VITRO* DO BARUZEIRO (*Dipteryx alata* VOG.)

#### RESUMO

Neste trabalho, objetivou-se avaliar diferentes concentrações do meio MS, usando sementes de baruzeiro (*Dipteryx alata* Vog.) íntegras e com corte para o estabelecimento *in vitro*. Sementes retiradas de frutos maduros de baruzeiro foram descontaminadas e foram mantidas intactas ou receberam cortes parciais, sendo posteriormente inoculadas em frascos, com diferentes concentrações de meio de cultivo MS. O experimento foi instalado em sistema de delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 5 x 2 - meio MS (0, 25, 50, 75 e 100%) x tipos de sementes (sementes íntegras e sementes com corte) com três repetições, totalizando 30 parcelas. Cada unidade experimental era constituída de cinco frascos e 10 plantas. Após cinco meses, foram avaliados: a contaminação dos explantes, a germinação das sementes, o número de plantas totalmente desenvolvidas e as massas secas da parte aérea e da raiz dos baruzeiros. As sementes íntegras proporcionaram melhores resultados, para todas as características avaliadas. O aumento da concentração do meio MS colaborou no ganho de massa das plantas, no entanto, o uso do meio MS 0% foi o que proporcionou um maior percentual de plantas formadas, a característica mais interessante para o estabelecimento *in vitro* do baruzeiro.

Palavras-chave: Cultivo *in vitro*, Meio MS, Semente.

**CONCENTRATION OF MS MEDIUM AND CUTTING OF SEEDS ON *IN VITRO* ESTABLISHMENT OF BARUZEIRO (*Dipteryx alata* Vog.).**

**ABSTRACT**

This study evaluated different concentrations of MS medium, using baruzeiro intact or cut seeds for *in vitro* establishment. Seeds from baruzeiro ripe fruits were decontaminated and were left intact or partially cut; subsequently, the seeds were inoculated into flasks with different concentrations of MS culture medium. The experiment was completely randomized design as a 5 x 2 factorial, consisting of MS medium (0, 25, 50, 75 or 100%) x types of seeds (intact or partially cut seeds), with three replicates, totaling 30 plots. Each experimental unit consisted of five flasks and 10 plants. After five months of incubation, the contamination of explants, seed germination, the number of fully developed plants and the dry masses of shoot and root of baruzeiros were evaluated. Intact seeds provided better results for all characteristics evaluated. The increased concentration of MS medium resulted in mass gain of plants; however, the use of MS medium 0% provided higher percentage of plants formed, the most interesting feature in baruzeiro *in vitro* establishment.

Keywords: *In vitro* culture, MS medium, Seed.

## 1 INTRODUÇÃO

O Cerrado possui uma flora extremamente rica, e muitas de suas espécies vegetais ainda são pouco conhecidas e aproveitadas, apesar de diversas delas possuírem propriedades desejáveis comercialmente. Trabalhos que contribuam para um maior conhecimento destas espécies são essenciais para um melhor aproveitamento das mesmas.

O baruzeiro (*Dipteryx alata* Vog.) é uma fruteira nativa do Cerrado, que merece atenção especial, por possuir uma série de características de interesse em uma possível exploração comercial, com frutos e sementes consumidos e apreciados regionalmente. No entanto, são necessários estudos que contribuam para o cultivo desta fruteira, o que colaboraria na disseminação desta espécie.

O cultivo *in vitro* é uma alternativa interessante para ajudar na propagação do baruzeiro, pois poderia colaborar consideravelmente para um sistema de produção de mudas de qualidade com alta eficiência.

Um dos pontos que deve ser observado com maior atenção, no crescimento *in vitro*, é a composição do meio de cultivo, uma vez que este deve fornecer todos os componentes necessários ao desenvolvimento da planta, além de possuir as características que possibilitem a completa adaptação e crescimento do explante.

Além da escolha do meio de cultivo, que melhor se adéque ao explante, é necessário observar ainda a concentração deste meio, uma vez que, mesmo que o meio de cultivo possua todos os nutrientes necessários a planta, a concentração do meio pode influenciar a capacidade da mesma de extrair os nutrientes e a água, essenciais à adaptação *in vitro* da espécie vegetal.

Rosa e colaboradores (2012) testaram diferentes concentrações do meio MS com objetivo de obter maiores níveis de germinação *in vitro* de bracinga (*Mimosa scabrella* Benth), uma espécie nativa brasileira. Variações de 0 a 125% na concentração do meio MS foram testadas, para a micropropagação de segmentos de crisântemo ‘Orange Reagen’ (OLIVEIRA et al., 1996)

Quando o processo de estabelecimento ocorre através da germinação *in vitro*, é importante observar o estado da semente, já que as camadas externas de algumas sementes funcionam como barreiras físicas que impedem a absorção de água e nutrientes necessários à germinação e ao desenvolvimento das plantas. Sendo assim, em

determinados casos, medidas de remoção destas barreiras são essenciais para o estabelecimento *in vitro* de algumas espécies.

Martinotto e outros (2001) realizaram a completa retirada do tegumento de sementes de cagaiteira (*Eugenia dysenterica* DC.), a fim de possibilitar o estabelecimento *in vitro* da espécie. Lameira e colaboradores (2000) realizaram a escarificação de sementes de paricá (*Schizolobium amazonicum*), uma planta nativa da mesma família do baruzeiro e obtiveram ganhos percentuais de germinação *in vitro* da espécie.

Por tais motivos, neste trabalho objetivou-se avaliar diferentes concentrações do meio MS, usando sementes de baruzeiro (*Dipteryx alata* Vog.) íntegras e com corte para o estabelecimento *in vitro*.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi conduzido no Laboratório de Biotecnologia do Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Uberlândia, entre fevereiro e junho de 2012.

O experimento foi instalado em delineamento inteiramente casualizado, com esquema fatorial 5 x 2 - concentrações do meio MS (0, 25, 50, 75 e 100%) x tipos de sementes (sementes íntegras e sementes com corte), com três repetições, totalizando 30 parcelas. Cada unidade experimental era constituída de cinco frascos e 10 plantas.

As sementes usadas como explantes foram retiradas de frutos maduros de baruzeiros, coletados em setembro de 2011, na Fazenda Água Limpa, pertencente à Universidade Federal de Uberlândia e localizada na Rodovia MG-455, km 18.

Os frutos permaneceram armazenados em local arejado, protegidos do sol. No dia anterior à montagem do experimento, as sementes foram retiradas do fruto com o uso de uma morsa de bancada.

Antes de serem inoculadas nos meios de cultivo, as sementes foram lavadas em água corrente com detergente líquido durante cinco minutos. Após isto, as sementes foram levadas à câmara de fluxo laminar, onde, de acordo com o tratamento especificado, eram mantidas intactas ou segmentadas. As sementes segmentadas foram cortadas com o auxílio de um bisturi, sendo retirado  $\frac{1}{4}$  de cada semente na região oposta a que se localiza o embrião.

Feito isto, as sementes receberam o tratamento de descontaminação, ficando um minuto em solução de etanol 70% ( $v v^{-1}$ ) e sendo imersas a seguir em solução de hipoclorito de sódio com 2% ( $v v^{-1}$ ) de cloro ativo durante 20 minutos.

Após a descontaminação, as sementes foram inoculadas em frascos de vidro com capacidade para 150 mL preenchidos com 50 mL de meio MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962) suplementado com 0,4 mg  $L^{-1}$  de tiamina; 1 mg  $L^{-1}$  de piridoxina; 0,5 mg  $L^{-1}$  de ácido nicotínico; 100 mg  $L^{-1}$  de mio-inositol e 0,5 g  $L^{-1}$  de caseína hidrolizada, sendo esta mistura diluída para atingir a concentração definida em cada tratamento. Independente da concentração do meio foram adicionados ao mesmo 30 g  $L^{-1}$  de sacarose, 3g  $L^{-1}$  de carvão ativado, 8 g  $L^{-1}$  de ágar e o pH foi ajustado para 5,7.

Todo o processo de inoculação foi feito sob condições assépticas, em ambiente descontaminado. Os frascos lacrados com tampa plástica contendo as sementes de baruzeiro foram levados à sala de crescimento, onde permaneceram, durante cinco

meses, sob temperatura controlada de 25°C e submetidos a 16 horas de luz com intensidade luminosa de 25  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ .

O desenvolvimento dos explantes foi monitorado diariamente, sendo, ao final de cinco meses, avaliada a contaminação dos explantes, germinação das sementes, número de plantas totalmente desenvolvidas e massas da parte aérea e da raiz secas dos baruzeiros. Na obtenção das massas secas de parte aérea e raiz, houve primeiramente a secagem das plantas em estufa de ventilação forçada, com temperatura de 60 a 65°C até que as mesmas atingissem massa constante, com posterior pesagem em balança de precisão.

Foram testadas a normalidade dos resíduos e homogeneidade das variâncias, com os testes de Shapiro-Wilk ( $\alpha = 0,01$ ) e Levene ( $\alpha = 0,01$ ), através do programa SPSS.

Em seguida, os dados foram submetidos à análise de variância ( $\alpha = 0,05$ ) e, conforme a necessidade, ao Teste de Tukey ( $\alpha = 0,05$ ) para a comparação de médias. Tais análises foram realizadas através do programa Sistema para Análise de Variância (SISVAR) (FERREIRA, 2000).

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Todas as características avaliadas apresentaram normalidade dos resíduos e homogeneidade das variâncias. A concentração do meio MS teve efeito sobre a germinação, número de plantas formadas e massa seca da parte aérea e da raiz (Tabela 1). Já o corte parcial da semente inoculada afetou todas as características avaliadas, sendo que, para a contaminação, este efeito foi observado somente na interação com a concentração do meio MS. Foi observada a interação dos efeitos da concentração do meio MS e do corte parcial da semente para a massa seca da parte aérea.

Tabela 1. Resumo das análises de variância para os percentuais de contaminação, germinação, plantas formadas, massa seca da parte aérea (MSPA) e massa seca de raiz (MSR) de plantas de baruzeiro (*Dipteryx alata* Vog.) cultivadas *in vitro*. Uberlândia, MG, 2012.

Fontes de Variação	GL	Quadrados Médios				
		Contaminação	Germinação	Plantas Formadas	MSPA	MSR
<b>Concentração do meio MS</b>	4	0,04 <sup>ns</sup>	0,03 <sup>ns</sup>	0,11*	0,11*	0,29*
<b>Semente</b>	1	0,03 <sup>ns</sup>	0,15*	0,25*	1,03*	1,07*
<b>Concentração X Semente</b>	4	0,11*	0,03 <sup>ns</sup>	0,07 <sup>ns</sup>	0,21*	0,10 <sup>ns</sup>
<b>Resíduo</b>	29	0,03	0,03	0,04	0,12	0,09
<b>CV (%)</b>		53,84	20,44	26,53	22,64	28,14

<sup>ns</sup> não significativo a 5% de probabilidade, pelo teste F.

\* significativo a de 5% de probabilidade, pelo teste F.

Analisando o efeito da interação entre a concentração do meio MS e o uso da semente íntegra e com corte parcial na contaminação dos explantes, observou-se que a concentração do meio teve efeito apenas quando foram utilizadas sementes com corte. Neste caso, como mostrado na Figura 1, concentrações próximas a 50% causaram redução nos níveis de contaminação, havendo aumento da mesma com o uso de meios mais concentrados ou mais diluídos. A concentração de nutrientes, no meio de cultivo, pode favorecer ou dificultar o desenvolvimento de patógenos neste ambiente, no entanto observa-se que este efeito é variável de acordo com a planta utilizada e as condições do experimento, uma vez que Rocha e colaboradores (2007), trabalhando com pessegueiro, encontraram menores níveis de contaminação com o uso do meio MS 75%, em comparação com a utilização dos meios MS concentrados a 50 e 100%.

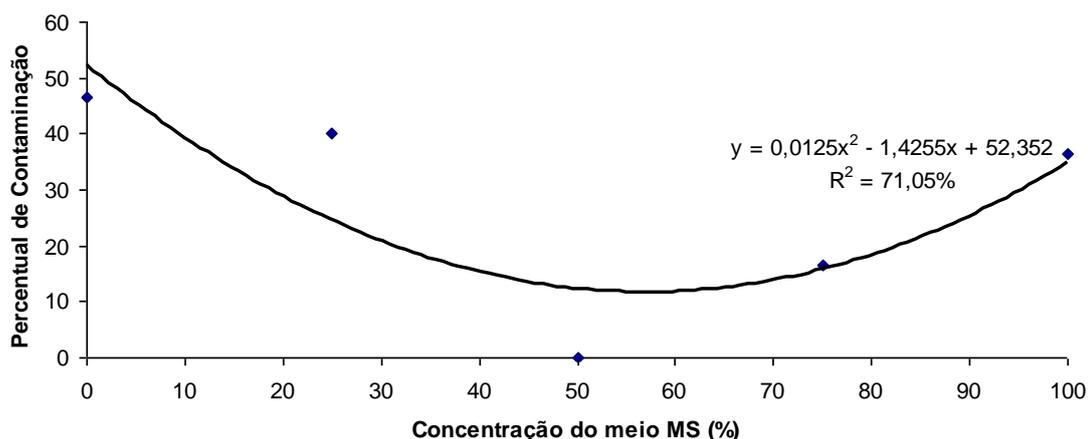


Figura 1. Contaminação dos explantes de baruzeiro (*Dipteryx alata* Vog.) de acordo com a concentração do meio MS em sementes segmentadas. Uberlândia, MG, 2012.

As sementes segmentadas apresentaram menores níveis de contaminação apenas quando foi usado o meio MS 50% (Figura 2). O uso de outros meios apresentou níveis de contaminação iguais para os dois tipos de sementes utilizadas.

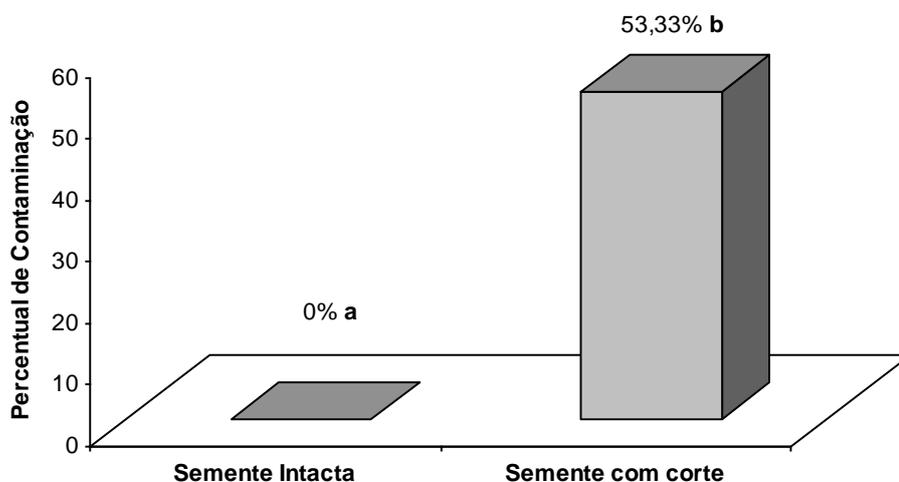


Figura 2. Contaminação de explantes de baruzeiro (*Dipteryx alata* Vog.) para sementes intactas e com corte em meio MS concentrado a 50%. Uberlândia, MG, 2012.

A germinação foi uma característica afetada somente pela prática do corte da semente, independente da concentração do meio MS utilizada (Figura 3). O corte parcial ou remoção total do tegumento de sementes já foi utilizado no cultivo *in vitro* de outras espécies, trazendo benefícios às mesmas, no entanto, esta prática é comumente relacionada à dificuldade de certas plantas em germinarem quando mantidas intactas (LAMEIRA et al., 2000; VAL et al., 2010). Uma vez que o baruzeiro mostra não ter

dificuldades de germinação com a semente intacta, tendo obtido um percentual de germinação de 88,27%, este corte pode ser desfavorável ao mesmo já que causa injúrias à semente, que pode ter seu desenvolvimento comprometido, além da evidente perda de parte dos nutrientes da reserva da semente, que poderiam colaborar nas etapas iniciais do crescimento *in vitro* desta fruteira.

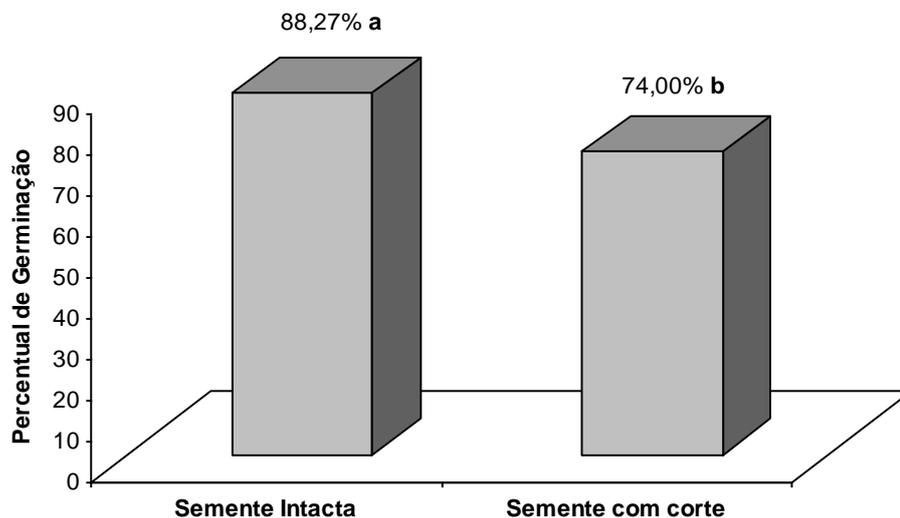


Figura 3. Percentual de germinação de baruzeiro (*Dipteryx alata* Vog.) em sementes intactas e sementes com corte. Uberlândia, MG, 2012.

O efeito negativo do corte nas sementes também foi observado no número de plantas totalmente desenvolvidas cujo percentual foi de 79,93% para as sementes intactas e de 71,60% para as sementes segmentadas (Figura 4). Costa e colaboradores (2010) também observaram melhores índices de germinação em sementes de *Passiflora setacea* D. C. não-escarificadas, uma vez que para esta planta o tegumento não mostrou ser uma barreira física à entrada de água, o que parece ser o caso do baruzeiro.

Na Figura 5, nota-se que com o aumento da concentração do meio MS houve um decréscimo proporcional no número de plantas formadas, o que sugere que mesmo não afetando a germinação das sementes, a redução da concentração dos sais do meio de cultivo MS pode favorecer a absorção de água pela planta o que colaboraria decisivamente no seu desenvolvimento. Alguns trabalhos relatam benefícios do uso de menores concentrações do meio MS. O coquinho-azedo *Butia capitata* (Mart.) Becc. foi favorecido pela redução da concentração do meio MS a 75% (RIBEIRO et al., 2011). Na germinação *in vitro* de *Inga vera* Willd. subsp. *affinis* (DC.) T.D. Penn. o meio MS

com metade da concentração foi superior ao meio MS com 100% de concentração (STEIN et al., 2007).

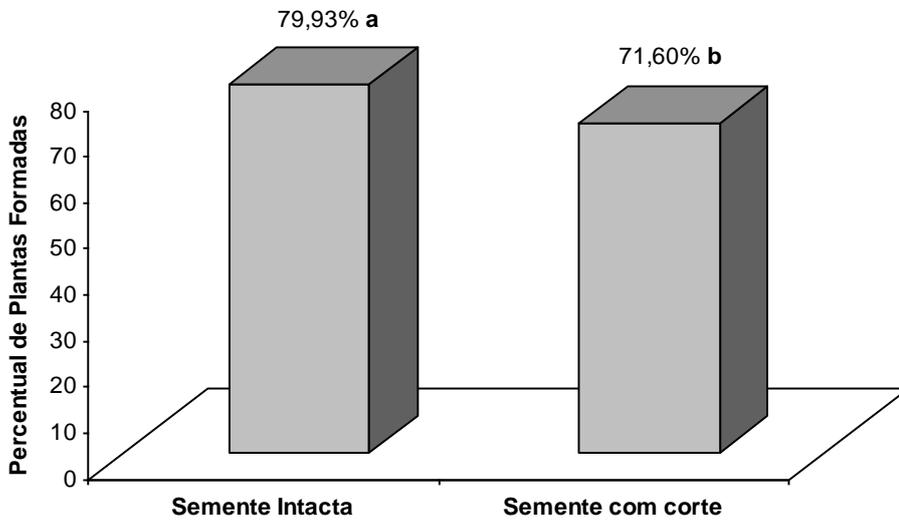


Figura 4. Percentual de plantas de barzeiro (*Dipteryx alata* Vog.) totalmente formadas com o uso de sementes intactas e sementes com corte. Uberlândia, MG, 2012.

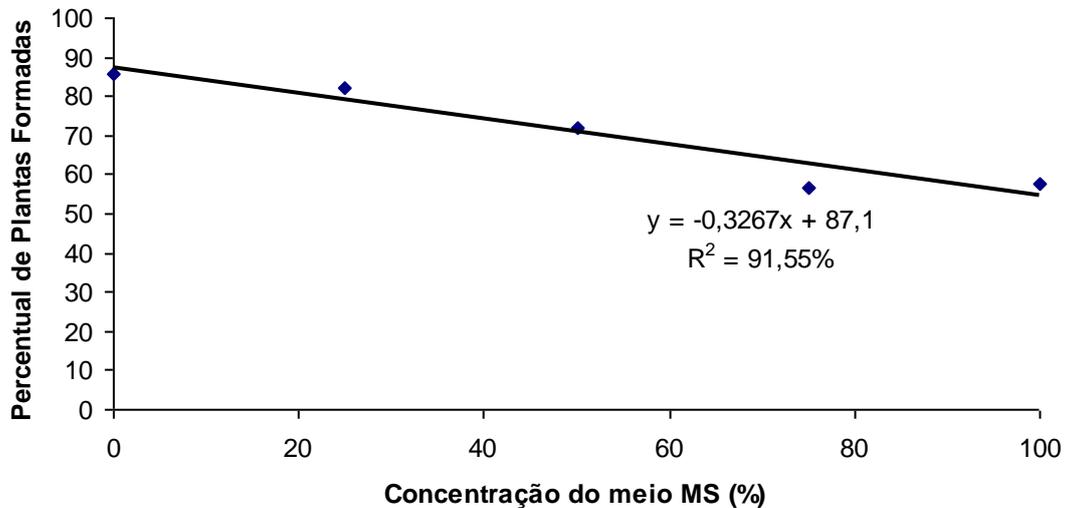


Figura 5. Percentual de plantas de barzeiro (*Dipteryx alata* Vog.) totalmente formadas em diferentes concentrações do meio MS. Uberlândia, MG, 2012.

No entanto, é necessário perceber que a relação entre o desenvolvimento da planta e a concentração do meio está profundamente ligada às necessidades nutricionais de cada espécie, ao explante utilizado e à etapa do cultivo *in vitro* em questão, já que,

para segmentos nodais de amoreira-preta 'Xavante' o aumento da concentração do meio MS até 125% foi positivo (LEITZKE et al., 2009).

É importante observar que, em todas as plantas do experimento, houve o consumo parcial dos cotilédones, mostrando que o material de reserva da própria semente foi capaz de fornecer nutrientes até o momento do estabelecimento. Desse modo, notando o comportamento dos explantes, diante das concentrações do meio de cultivo, a utilização de um meio contendo apenas água, suplementado com sacarose, carvão ativado e ágar (meio MS 0%) mostrou-se viável, o que é bastante positivo, já que tal meio representaria uma alternativa altamente econômica e prática.

A secção feita nas sementes também gerou redução na massa seca da parte aérea (Figura 6), quando foram utilizados meios MS nas concentrações de 75 e 100%, concentrações em que o corte parcial das sementes teve efeito para esta característica.

Utilizando-se sementes cortadas, também foram observadas reduções na massa seca de raiz (Figura 7). Tais reduções de massa podem estar ligadas à diminuição do material de reserva das sementes, que como foi observado anteriormente, contribuiu efetivamente para o crescimento e formação da planta.

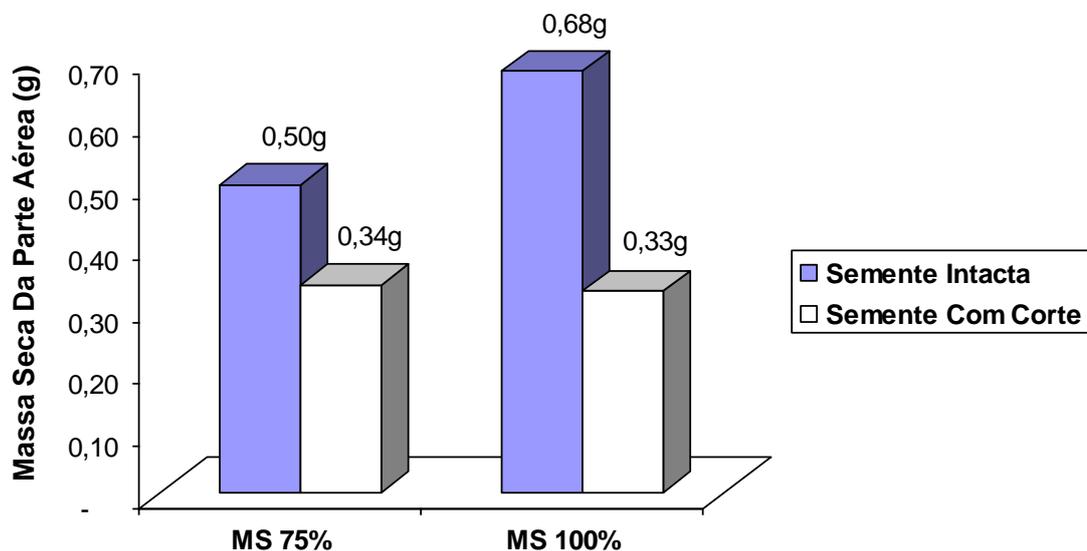


Figura 6. Massa seca da parte aérea de plantas de baruzeiro (*Dipteryx alata* Vog.) formadas a partir de sementes intactas e sementes com corte, cultivadas em meio de cultivo MS com 75 e 100% de concentração. Uberlândia, MG, 2012.

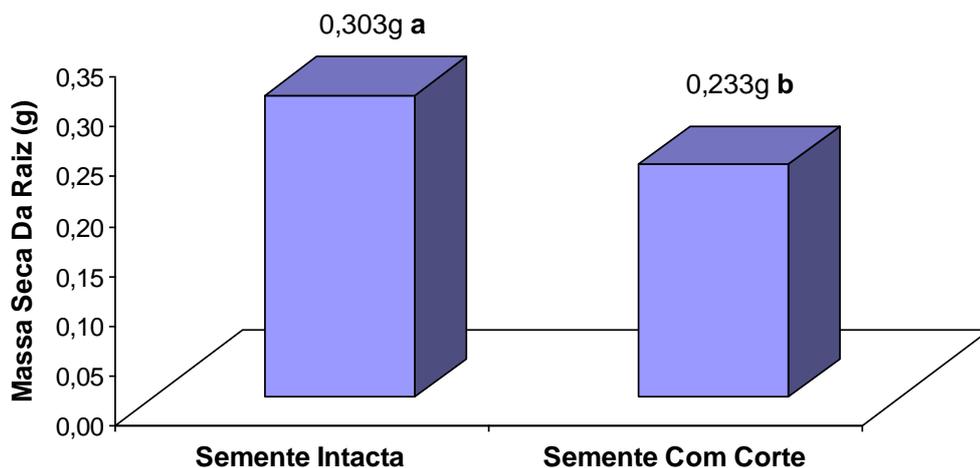


Figura 7. Massa seca da raiz de baruzeiros (*Dipteryx alata* Vog.) formados a partir de sementes intactas e sementes com corte. Uberlândia, MG, 2012.

A concentração do meio MS teve efeito na massa seca da parte aérea apenas em sementes mantidas intactas. Na Figura 8, é possível observar que houve um incremento na massa seca da parte aérea de sementes intactas com o aumento das concentrações do meio MS. Fato este relacionado à maior disponibilidade de nutrientes em meios mais concentrados, o que favoreceria o desenvolvimento da parte aérea das plantas. Tais afirmações estão de acordo com o trabalho realizado por Oliveira e colaboradores (1996) com crisântemo ‘Orange Reagen’, onde foram notadas maiores valores de massa seca da parte aérea em meios MS com maiores concentrações.

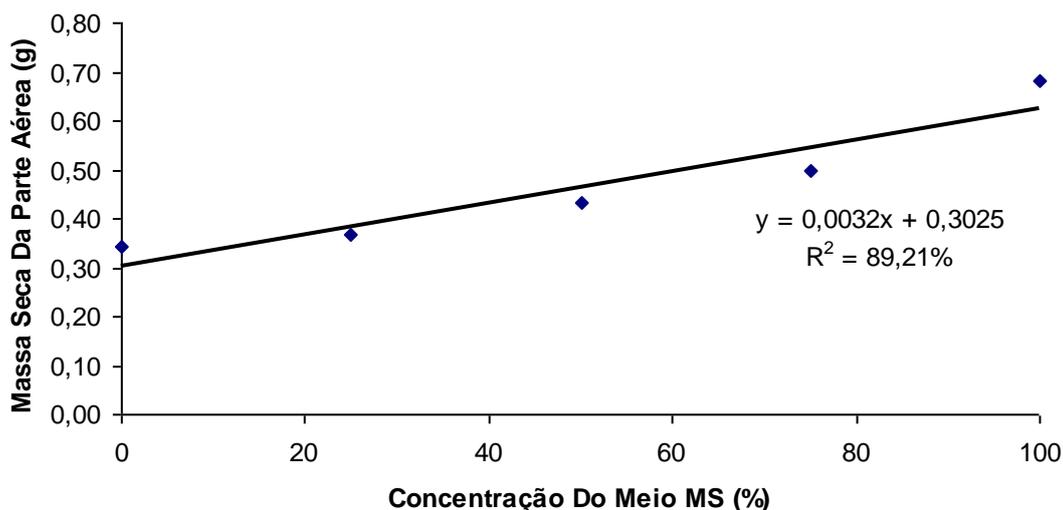


Figura 8. Massa seca da parte aérea de plantas de barzeiro (*Dipteryx alata* Vog.) em diferentes concentrações de meio MS, para o cultivo de sementes intactas. Uberlândia, MG, 2012.

Concentrações crescentes do meio MS colaboraram para o aumento da massa seca das raízes até um ponto máximo (MS 69,22%), a partir do qual há uma redução desta massa (Figura 9). Tais resultados são diferentes daqueles encontrados por Couto e colaboradores (2003), que não observaram efeito da concentração do meio MS, no enraizamento do pessegueiro ‘Barrier’. Ribeiro e colaboradores (2011) tiveram resultados mais próximos aos vistos com o baruzeiro quando cultivaram coquinho-azedo e notaram um favorecimento do enraizamento desta planta com o uso de concentrações crescentes do meio MS até um máximo de 75%.

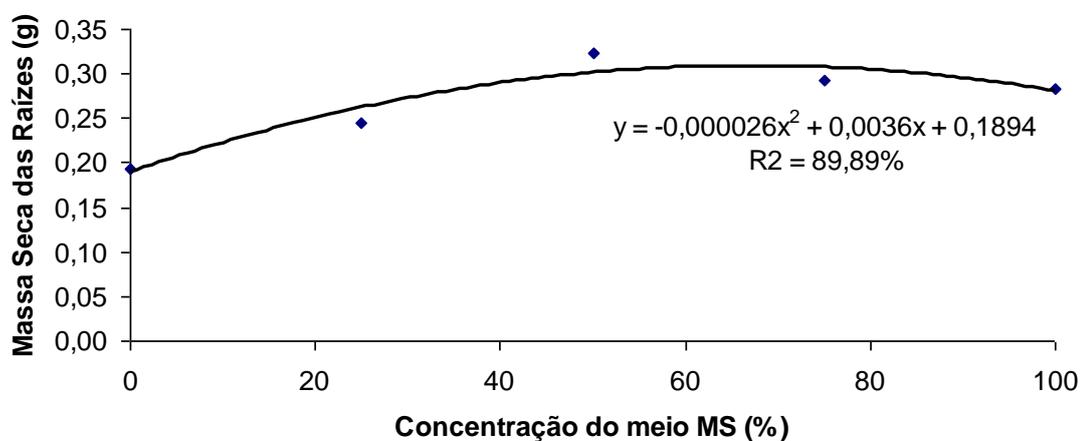


Figura 9. Massa seca das raízes de plantas de baruzeiro (*Dipteryx alata* Vog.) em diferentes concentrações do meio MS. Uberlândia, MG, 2012.

É importante observar que, mesmo havendo tratamentos que proporcionaram um melhor desenvolvimento radicular e da parte aérea, todas as plantas formadas apresentaram excelentes níveis de formação e crescimento das raízes e da parte aérea, o que possibilita que, segundo o aspecto do ganho de massa dos explantes, todas as concentrações do meio MS testadas possam ser usadas, sobretudo, no período de estabelecimento *in vitro* da planta.

Deste modo, percebe-se que apesar de concentrações mais elevadas do meio MS terem proporcionado um aumento da massa das plantas, o cultivo em meio contendo apenas água, sacarose, carvão ativado e ágar (MS 0%) é a melhor opção, pois favorece de maneira mais efetiva a formação de plantas de baruzeiro, que é a característica mais desejada na fase de estabelecimento *in vitro*. O uso da semente intacta mostra-se uma opção mais interessante, uma vez que o corte reduz o material natural de reserva da

semente, que é essencial ao desenvolvimento desta, possibilitando, até mesmo, o crescimento em meios de cultivo MS com baixas concentrações de nutrientes.

## 4 CONCLUSÕES

O uso de sementes intactas favorece o estabelecimento *in vitro* do baruzeiro (*Dipteryx alata* Vog.).

Caso sejam utilizadas sementes segmentadas, o uso do meio MS 50% é uma opção viável por proporcionar menores níveis de contaminação e maior massa seca de raiz.

Quanto menor a concentração do meio MS, maior o percentual de plantas de baruzeiro formadas *in vitro*.

O uso de meio de cultivo, contendo apenas água suplementada com sacarose, ágar e carvão ativado, representa a melhor opção no cultivo *in vitro* do baruzeiro, por ser um sistema eficiente, prático e econômico.

## REFERÊNCIAS

- COSTA, C. J.; SIMOES, C. O.; COSTA, A. M.. **Escarificação mecânica e reguladores vegetais para superação da dormência de sementes de *Passiflora setacea* D.C.** Planaltina: Embrapa Cerrados, 2010 (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 271),
- COUTO, M.; WAGNER JUNIOR, A.; QUEZADA, A.C. Enraizamento *in vitro* do porta-enxerto de *Prunus* sp. 'Barrier' em diferentes concentrações de ácido indol-3-butírico (AIB) e do meio Murashige & Skoog (MS). **Revista Brasileira de Agrobiologia**, Pelotas, v. 9, p. 367-370, 2003.
- FERREIRA, D. F. Análise estatística por meio do SISVAR (Sistema para Análise de Variância) para Windows versão 4.0. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45, 2000, São Carlos. **Anais...** São Carlos: UFSCar, 2000. p. 255-258.
- LAMEIRA, O. A.; GOMES, A. P. R.; LOPES, S. C.; LEÃO, N. V. M. **Efeito da escarificação sobre a germinação de sementes de paricá (*Schizolobium mazonicum*) *in vitro*.** Belém: Embrapa Amazônia Oriental, 2000. n. 21 (Comunicado Técnico, 21).
- LEITZKE, L. N.; DAMIANI, C. B.; SCHUCH, M. W. Multiplicação e enraizamento *in vitro* de amoreira-preta 'Xavante': efeito da concentração de sais, do tipo de explante e de carvão ativado no meio de cultura. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras. v. 33, p. 1959-1966. 2009.
- MARTINOTTO, C.; PAIVA, R.; SANTOS, B. R.; SOARES, F. P.; NOGUEIRA, R. C.; SILVA, A. A. N. Efeito da escarificação e luminosidade na germinação *in vitro* de sementes de cagaiteira (*Eugenia dysenterica* DC.). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras. v. 31. p 1668-1671. 2001
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised médium for rapid growth and biossays with tabacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 15, p. 473-497, 1962
- OLIVEIRA, P. D.; PASQUAL, M.; PAIVA, R. Efeito de diferentes concentrações do meio MS, nitrogênio e sacarose na micropropagação de crisântemo 'orange reagen'. **Bragantia**, Campinas, v. 55, n.1, p. 9-18, 1996.
- RIBEIRO, L. M.; NEVES, S. C.; SILVA, P. O.; ANDRADE, I. G. Germinação de embriões zigóticos e desenvolvimento *in vitro* de coquinho-azedo. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 58, n. 2, 133-139. 2011.
- ROCHA, P. S. G.; SCHUCH, M. W.; BIANCHI, V. J.; FACHINELLO, J. C.; MISTURA, C. C. Estabelecimento *in vitro* de porta-enxertos de pessegueiros em diluições do meio MS acrescido de concentrações de BAP. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 23, n. 4, p. 83-87, 2007.
- ROSA, F. C.; 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. 2012.

STEIN, V. C.; PAIVA, R. S.; NOGUEIRA, F. P.; SILVA, R. C.; COUTINHO, L.; EMRICH, E. Germinação *in vitro* e *ex vitro* de *Inga vera* Willd. subsp. *affinis* (DC.) T.D. Penn.. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 31, p.1702-1708. 2007.

VAL, A. D. B.; MOTOIKE, S. Y.; ALVARENGA, E. M.; CECON, P. R. Quebra de dormência de sementes da videira cv. niágara rosada sem estratificação. **Revista Ceres**. Viçosa, v. 57, n. 2, p. 234-238, 2010.