



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

ESTABELECIMENTO E DESENVOLVIMENTO INICIAL DE
BARUEIRO (*Dipteryx alata* Vog.) *IN VITRO*

HERICK FERNANDO DE JESUS SILVA

2015

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da UFU, MG, Brasil.

S586e Silva, Herick Fernando de Jesus, 1988-
2015 Estabelecimento e desenvolvimento inicial de Barueiro (*Dipteryx
alata vog.*) in vitro / Herick Fernando de Jesus Silva. - 2015.
64 f. : il.

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

1. Agronomia - Teses. 2. Carbono ativado - Teses. 3. Cultura e
meios de cultura (Biologia) - Teses. I. Melo, Berildo de. II. Universidade
Federal de Uberlândia. Programa de Pós-Graduação em Agronomia. III.
Título.

CDU: 631

HERICK FERNANDO DE JESUS SILVA

ESTABELECIMENTO E DESENVOLVIMENTO INICIAL DE
BARUEIRO (*Dipteryx alata* Vog.) *IN VITRO*

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
2015

HERICK FERNANDO DE JESUS SILVA

ESTABELECIMENTO E DESENVOLVIMENTO INICIAL DE
BARUEIRO (*Dipteryx alata* Vog.) *IN VITRO*

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”.

APROVADA em 10 de fevereiro de 2015.

Prof. Dr. Pedro Henrique Ferreira Tomé

IFTM - UDI

Dra. Simone Abreu Asmar

UFU

Dr. Alirio Coromoto Daboin Maldonado

UFU

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

UBERLÂNDIA
MINAS GERAIS – BRASIL
2015

Aos meus pais, Nelsa e Reinaldo, base da minha formação e que sempre me incentivaram nessa jornada. Aos meus irmãos Reinaldo e Celina, pelo carinho e companheirismo. Dedico.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente à Deus e a Nossa Senhora, por iluminarem meu caminho e me fortalecerem na fé.

Aos meus pais, pelo exemplo de humildade e determinação, verdadeiros mestres a quem devo seguir, e que jamais conseguirei retribuir tamanho amor e confiança a mim concedidos.

À Celina, Reinaldinho e Tati, preciosidades da minha vida que sempre amarei.

Às minhas tias, Cleuza e Elza, pessoas a quem sempre terei imensa gratidão pelo amor de mãe em mim depositado.

À todos os familiares que acreditaram no meu potencial e estiveram sempre me dando força.

À Simone, mais que co-orientadora, grande amiga que além de conhecimento acadêmico repassado, me forneceu apoio moral e incentivo diante dos momentos de incertezas.

Ao professor Berildo pela oportunidade de trabalho, paciência e conhecimentos repassados.

Aos colegas de laboratório, Rayssa, Elequisandra, Hernane e Givago pelo companheirismo e suporte oferecidos.

Ao corpo docente e demais funcionários do ICIAG que foram primordiais para a minha formação acadêmica.

Aos colegas da pós-graduação pelos momentos de descontração, trocas de conhecimentos e boa disposição em me ajudar sempre que requeridos.

À Leandro pelos conselhos profissionais e todo apoio moral oferecido. Além de grande amigo, posso considerá-lo como verdadeiro irmão.

Ao CNPq pelo auxílio financeiro concedido.

A todos que sempre torceram por mim e que de forma indireta contribuíram para mais essa vitória.

Muito obrigado!

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1	i
RESUMO	i
ABSTRACT	ii
1. INTRODUÇÃO GERAL	1
2. REFERENCIAL TEÓRICO	3
2.1 Bioma Cerrado	3
2.2 Barueiro	4
2.3 Erosão genética e busca da domesticação	8
2.4 Cultura de tecidos vegetais	11
2.4.1 Micropropagação	12
REFERÊNCIAS	14
CAPÍTULO 2	22
RESUMO	22
ABSTRACT	23
1. INTRODUÇÃO	24
2. MATERIAL E MÉTODOS	27
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	30
4. CONCLUSÕES	40
REFERÊNCIAS	41
CAPÍTULO 3	47
RESUMO	47
ABSTRACT	48
1. INTRODUÇÃO	49
2. MATERIAL E MÉTODOS	52
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	55
4. CONCLUSÕES	63
REFERÊNCIAS	64

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 2

TABELA 1. Tratamentos utilizados para o estabelecimento de barueiros (*Dypterix alata* Vog.).Uberlândia, MG, 2014.....27

TABELA 2. Resumo da análise de variância das características massa seca (MSC), massa fresca (MF), comprimento da parte aérea (CPA), comprimento da maior raiz (CR), diâmetro do caule (DIA), número de folhas (NF), % de germinação (GER), índice de clorofila A (CA), B (CB) e Total (CT), de plântulas de barueiro (*Dipteryx alata* Vog.) cultivadas *in vitro* sob três meios nutricionais e quatro doses de carvão ativado. Uberlândia, MG, 2014. 29

TABELA 3. Massa fresca (g) média de plântulas de barueiro (*Dipteryx alata* Vog.) sob três meios nutricionais de cultivo e quatro doses de carvão ativado durante a micropropagação.Uberlândia,MG,2014.....31

TABELA 4. Médias de diâmetro (mm) de plântulas de barueiro (*Dipteryx alata* Vog.) sob três meios nutricionais de cultivo e quatro doses de carvão ativado durante a micropropagação. Uberlândia, MG, 2014. 32

TABELA 5. Comprimento médio da maior raiz de plântulas de barueiro (*Dipteryx alata* Vog.) sob três meios nutricionais de cultivo *in vitro*. Uberlândia, MG, 2014.....36

TABELA 6. Teores médios de clorofila A, B e Total de plântulas de barueiro (*Dipteryx alata* Vog.) sob três meios nutricionais de cultivo e quatro doses de carvão ativado durante a micropropagação. Uberlândia, MG, 2014.38

CAPÍTULO 3

TABELA 1. Tratamentos utilizados para o estabelecimento *in vitro* de barueiros (*Dypterix alata* Vog.). 50

TABELA 2. Resumo da análise de variância das características massa seca (MSC), massa fresca (MF), comprimento da parte aérea (CPA), comprimento da maior raiz (CR), diâmetro do caule (DIA), número de folhas (NF), % de germinação (GER), índice de clorofila A (CA), B (CB) e Total (CT), de plântulas de barueiro (*Dipteryx alata* Vog.) cultivadas em quatro concentrações de meio MS suplementados com água de coco, polpa de banana ou sem suplementação. Uberlândia, MG, 2014. 52

TABELA 3. Massa fresca (g) média de plântulas de barueiro (*Dipteryx alata* Vog.) cultivadas em quatro concentrações de meio MS puro ou suplementado com água de coco polpa de banana. Uberlândia, MG, 2014. 53

TABELA 4. Comprimento médio da maior raiz (g) de plântulas de barueiro (*Dipteryx alata* Vog.) cultivadas em quatro concentrações de meio MS puro ou suplementado com água de coco ou polpa de banana. Uberlândia, MG, 2014.....56

TABELA 5. Médias de diâmetro (mm) e número de folhas de plântulas de barueiro (*Dipteryx alata* Vog.) cultivadas em meio MS puro, acrescido de água de coco e polpa de banana. Uberlândia. Uberlândia, MG, 2014.....58

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1

FIGURA 1. Distribuição geográfica de barueiros no Cerrado, em 84 localidades entre 316 levantamentos no Bioma Cerrado.....	6
--	---

CAPÍTULO 2

FIGURA 1. Massa fresca de plântulas de barueiro (<i>Dipteryx alata</i> Vog.) em diferentes doses de carvão ativado sob meios de cultivos MS (A) e WPM (B). Uberlândia, MG, 2014.	30
--	----

FIGURA 2. Diâmetro médio dos caules de plântulas de barueiro (<i>Dipteryx alata</i> Vog.) em diferentes concentrações de carvão ativado. Uberlândia, MG, 2014.	33
--	----

FIGURA 3. Taxa de germinação (GERM) de sementes de barueiro (<i>Dipteryx alata</i> Vog.) em diferentes concentrações de carvão ativado. Uberlândia, MG, 2014	34
---	----

FIGURA 4. Massa seca (A), comprimento da parte aérea (B) e comprimento da raiz (C) de plântulas de barueiro (<i>Dipteryx alata</i> Vog.) em diferentes concentrações de carvão ativado. Uberlândia, MG, 2015.....	35
--	----

CAPÍTULO 3

FIGURA 1. Massa fresca de plântulas de barueiro (<i>Dipteryx alata</i> Vog.) cultivadas em diferentes concentrações de meio MS. Uberlândia, MG, 2014.	53
---	----

FIGURA 2. Comprimento da parte aérea de plântulas de barueiro (<i>Dipteryx alata</i> Vog.) cultivadas em meio MS puro, suplementado com polpa de banana e água de coco (A) e sob diferentes concentrações de sais MS (B). Uberlândia, MG, 2014	55
---	----

FIGURA 3. Comprimento da maior raiz (cm) de plântulas de barueiro (<i>Dipteryx alata</i> Vog.) cultivadas em meio MS suplementados com (A) polpa de banana (B) água de coco e (C) sem suplemento. Uberlândia, MG, 2014	57
---	----

CAPÍTULO 1

RESUMO

SILVA, HERICK FERNANDO DE JESUS. **Estabelecimento e desenvolvimento inicial de barueiro (*Dipteryx alata* Vog.) *in vitro*** 2015. 64 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia/ Fitotecnia) Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, MG.¹

O barueiro (*Dipteryx alata* Vog.) é uma frutífera nativa do Cerrado de grande importância na alimentação humana e animal, na recuperação de áreas degradadas e paisagismo. Está inserido em um ambiente onde a devastação natural promovida pelas atividades antrópicas o coloca em risco de extinção. Dessa forma objetivou-se avaliar nesse trabalho o estabelecimento e o desenvolvimento inicial *in vitro* de *D. alata* através dos tipos de meios de cultura utilizados, bem como as suas modificações. Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Biotecnologia da UFU, em Uberlândia- MG. No primeiro experimento foram avaliados três meios de cultura, MS, WPM e AA (água mais ágar), e doses de carvão ativado (0, 2, 4 e 6 g L⁻¹). Após 60 dias realizou-se a avaliação final. Através dos resultados obtidos, constatou-se que o meio MS mostrou-se mais promissor para o estabelecimento *in vitro* do barueiro. Quanto à dose de carvão utilizada, 3 g L⁻¹ foi a que favoreceu resultados positivos sem comprometer o desenvolvimento de nenhuma estrutura das plântulas. No segundo experimento foram estudadas concentrações de meio MS (25, 50, 75 e 100%) suplementados com água de coco (100 mL L⁻¹), polpa de banana (60 g L⁻¹) e ausência de qualquer aditivo orgânico. Por meio das respostas obtidas, concluiu-se que os suplementos utilizados não promoveram resultados satisfatórios no desenvolvimento das plântulas e que a menor concentração de sais MS (25%) foi a que favoreceu melhores resultados para o estabelecimento *in vitro* de *D. alata*. As conclusões obtidas nesses trabalhos foram embasadas na avaliação do comprimento da parte aérea (CPA), comprimento da raiz (CP), massa fresca (MF) e massa seca (MSC), diâmetro do caule (DIA), número de folhas (NF) e índices de clorofila A (CT), B (CB) e total (CT).

Palavras chave: cultura de tecidos, carvão ativado, meio de cultura, suplementos orgânicos.

¹Orientador: Berildo de Melo- UFU

ABSTRACT

SILVA, HERICK FERNANDO JESUS. *In vitro* establishment of *Dipteryx alata* Vog. 2015. 64 p. Dissertation (Master's Program Agronomy/crop Science) Federal University of Uberlândia, Uberlândia, MG¹

The barueiro (*Dipteryx alata* Vog.) is a fruit crop of the Cerrado of great importance in food and feed, the recovery of degraded areas and landscaping. It is set in an environment where natural devastation promoted by human activities puts you at risk of extinction. Thus aimed to evaluate this work the *in vitro* establishment of *D. alata* through the types of culture media used and their modifications. The experiments were conducted in the Biotechnology Laboratory of UFU in Uberlândia- MG. In the first experiment were evaluated three culture, MS, WPM and AA (more water agar), and activated carbon doses (0, 2, 4 and 6 g L⁻¹). After 60 days held the final evaluation. From the results obtained, it was found that the MS medium was more promising for the *in vitro* establishment of barueiro. As to the coal dose, 3 g L⁻¹ was the positive results favoring development without compromising any structure of the seedlings. In the second experiment were studied concentrations of MS medium (25, 50, 75 and 100%) supplemented with coconut water (100 mL L⁻¹), banana pulp (60 g L⁻¹) and the absence of any organic additive. Through the answers obtained, it was concluded that the supplements used did not promote satisfactory results in the development of the seedlings and the lowest concentration of MS salts (25%) was the favored better results for the *in vitro* establishment of *D. alata*. The conclusions reached in these studies were based on the evaluation of the shoot length (CPA), root length (CR), fresh (MF) and dry matter (MSC), stem diameter (DIA), number of leaves (NF) and chlorophyll contents a (CA), B (CB) and total (CT).

Keywords: tissue culture, activated carbon, the culture medium, organic supplements.

¹Major: Berildo de Melo – UFU.

1. INTRODUÇÃO GERAL

O Cerrado é o segundo maior bioma da América do Sul depois da Floresta Amazônica, ocupando cerca de 22% do território brasileiro (MENDONÇA et al., 2008).

Um dos principais desafios para a conservação do Cerrado é demonstrar a importância que a biodiversidade desempenha no funcionamento dos ecossistemas e, isso ocorre em função da escassez de conhecimento quanto às implicações das alterações e tipos de uso da terra sobre as espécies do bioma (KLINK e MACHADO, 2005). Algumas dessas são endêmicas e restritas a determinados tipos de fitofisionomias, correndo o risco de serem extintas. Além dessa limitação, as espécies nativas do Cerrado são de difícil propagação semínifera e algumas são recalcitrantes, fato que dificulta a multiplicação massal de indivíduos. Nesse sentido, são importantes as iniciativas relacionadas à produção de mudas, visando a conservação e a recuperação de germoplasma ou mesmo cultivo comercial (FERNANDES, 2008).

Dessa forma, a aplicação de técnicas de cultura de tecidos em fruteiras do Cerrado pode resolver ou minimizar estes entraves através da multiplicação sistematizada de plantas; intercâmbio de material genético; resgate de germoplasma e preservação de material ameaçado; redução no período de germinação; isenção de pragas e doenças e; uniformização nas plântulas obtidas (MELO, 2000).

Conforme citado por Torres et al. (2003) e Lorenzi (2002), o baru (*Dipteryx alata* Vog.) é uma espécie do gênero *Dipteryx*, pertencente à família *Fabaceae*, sendo a única deste gênero com ocorrência no bioma Cerrado. O barueiro apresenta grande importância ecológica, sendo classificado como espécie chave do Cerrado por ser uma das poucas árvores que amadurece o fruto na estação seca e alimenta várias espécies da fauna (mamíferos, aves, insetos), em uma época de escassez de alimentos na região (Sano et al., 2004). Além disto, *D. alata* faz parte do grupo de espécies nativas usadas pela população regional como fonte complementar de renda familiar. Em um levantamento realizado por Almeida et al. (1998), 13 entre 110 espécies do Cerrado, o barueiro foi uma das que apresentou maior possibilidade de uso alimentício, forrageiro, madeireiro, medicinal, melífero, ornamental, oleaginoso e tanífero. No entanto, assim como muitas espécies nativas do Cerrado o barueiro ainda carece de estudos referentes à domesticação e expansão para plantios comerciais, sobretudo, merece atenção para pesquisas voltadas a programas de conservação de germoplasma, dada as condições de

ameaças que essa fruteira se encontra, decorrentes do desmatamento ambiental e pelo extrativismo predatório.

Diante destas limitações, a micropropagação constitui uma importante ferramenta para a obtenção massal de clones (GÜBBÜK; PEKMEZCI, 2004). Sendo assim, a cultura de tecidos pode contribuir para programas de melhoramento genético e constitui-se como um importante método de conservação, por viabilizar a inclusão e manutenção de espécies em bancos germoplasma *in vitro* (KELLER et al., 2013).

Nessa perspectiva, o cultivo *in vitro* revela-se como técnica de grande aplicabilidade na busca da conservação do barueiro e aprimoramento da sua micropropagação, salvo que, pesquisas relacionadas à aplicação dessa ciência para essa espécie ainda são incipientes.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 O Bioma Cerrado

O termo Cerrado é comumente utilizado para designar o conjunto de ecossistemas (savanas, matas, campos e matas de galeria) que ocorrem no Brasil Central (EITEN, 1977; RIBEIRO et al., 1981). Em sua maior parte o Cerrado está localizado no Planalto Central do Brasil e é o segundo maior bioma do país em extensão, sendo apenas superado pela Floresta Amazônica. Este abrange como área contínua 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, e também ocorre em áreas disjuntas ao norte nos Estados do Amapá, Amazonas, Pará e Roraima, e ao sul em pequenas áreas do Pará (RIBEIRO e WALTER, 1998).

A alta diversidade de organismos, característica inerente aos ambientes tropicais (RICKLEFIS, 1993; PRIMACK; RODRIGUES, 2001), é também notada no Cerrado, considerado um dos hotspots mundiais de biodiversidade (MYERS et al., 2000). Segundo Klink e Machado (2005), estima-se que a fauna desse bioma chegue a 2600 espécies, incluindo mamíferos, aves, répteis, anfíbios e peixes. Embora esse número seja relativamente grande, a taxa de endemismo das aves, por exemplo, é de aproximadamente 3,4%, fato que demonstra que o Cerrado é uma área de grande miscigenação de espécies animais. Com relação à variedade florística, Mendonça et al. (2008) contabilizaram a ocorrência de cerca de 12.356 espécies nesse ecossistema. Ratter et al. (2003) enfatizam que existe no Cerrado uma grande diversidade de habitats e alternância de espécies, sendo que um inventário florístico revelou que das 914 espécies de árvores e arbustos registrados, somente 300 espécies ocorrem em mais do que oito localidades, e 614 foram encontradas em apenas uma local.

Quanto à vegetação deste bioma, esta se caracteriza por ser rasteira, formada principalmente por gramíneas, coexiste com árvores esparsas, baixas, tortuosas, com cascas grossas, folhas largas e vigorosos sistemas radiculares. Essa vegetação apresenta estratégias de adaptação à seca, como crescimento radicular pronunciado nos primeiros estádios de desenvolvimento, alcançando profundidades superiores a 10 m e germinação de sementes na época das chuvas (PINTO, 1993; SANO; ALMEIDA, 1998).

Inúmeras espécies vegetais do Cerrado são utilizadas como alimento, para fins medicinais, ou servem para a produção de peças de artesanato. Nesse contexto, as espécies frutíferas merecem destaque. A maioria delas possuem elevados teores de açúcares, proteínas, vitaminas e sais minerais, além de um sabor característico sem igual. Essas propriedades as tornam mais atrativas ao mercado, abrindo perspectivas para fins agroindustriais. Na indústria de sucos, polpas, sorvetes, picolés e geleias, a demanda interna por novos sabores é crescente. O mercado externo poderá também ser conquistado com sucesso, por se tratarem de frutos exóticos com sabores e aromas ainda desconhecidos por muitos países (SILVA et al., 2001). Essas características conferem a esses frutos nativos espaço no novo hábito de consumo da população brasileira.

Pereira e Pasqualetto (2011) ressaltam que além do aproveitamento alimentício, as possibilidades atuais de utilização dessas fruteiras se estendem a plantio em áreas de proteção ambiental, enriquecimento da flora das áreas mais pobres; recuperação de áreas desmatadas ou degradadas por pastagens; formação de pomares domésticos e comerciais. Apesar dessa vasta importância das fruteiras nativas, somente 2% do bioma estão legalmente protegidos e existem estimativas indicando que, pelo menos, 20% das espécies endêmicas e ameaçadas permanecem fora dos parques e reservas existentes (KLINK; MACHADO, 2005).

2.2 O Barueiro

O baru (*Dipteryx alata* Vog), família Fabaceae, conhecido regionalmente como pau-cumbaru, fruta-de-macaco, cumbaru, cumarurana, barujo e coco-feijão, ocorre tipicamente em formações de cerrado e cerradão (MACEDO, 1992). É uma espécie arbórea, que pode alcançar mais de 25 metros de altura, tendo uma altura média de 15 metros, sua copa é larga com diâmetro de 6 a 11 metros (SANO et al., 2004). Estes autores descrevem que a caducifolia ocorre em plantas adultas, já em fase de frutificação, ocorrendo no final da estação seca. Já as árvores juvenis e eventualmente algumas adultas não perdem suas folhas.

Ao início do período chuvoso novas folhas são emitidas concomitantemente com o crescimento dos ramos apicais. A floração ocorre de novembro a fevereiro, mas

excepcionalmente, também em outras épocas. O período de formação dos frutos acontece de janeiro a outubro, sendo que frutos maduros estão disponíveis para coleta de sementes (castanhas) nos meses de julho a outubro, dependendo da localidade (RIBEIRO et al., 2000). Entretanto, no Maranhão, Bulhão e Figueiredo (2002) registraram floração até março e frutificação até agosto.

Na literatura há relatos que a produção de frutos pode chegar a 5000 unidades por árvore, entretanto Brito (2004) verificou variações de produção tanto entre árvores quanto entre os anos. Este mesmo autor ainda comparou a produção de frutos de populações situadas em Cerrado nativo e em área de pastagem, sendo que a maior produção ocorreu nesta última área, fator que pode estar relacionado à maior fertilidade desse solo.

A ocorrência da espécie se dá principalmente em locais com solos mais drenados, apresentando distribuição irregular na paisagem, podendo formar grandes agrupamentos (SANO et al., 2004). É mais abundante em Cerradão e Mata Semidecídua, em solos areno-argilosos (FILGUEIRAS; SILVA, 1975) de fertilidade média (solos mesotróficos), podendo ser considerada fracamente calcífila (RATTER et al., 1978).

Ratter et al., (2000) estudando a localização da espécie em território nacional observou que esta ocorre em oito estados, Minas Gerais, Mato Grosso do Sul, Mato Grosso, Goiás, Pará, Tocantins, Maranhão e Rondônia. Neste mesmo estudo constataram que a abundância em Cerrado Sentido Restrito foi na maioria das vezes rara ou ocasional. No estado de Minas Gerais a espécie se concentrou em maior proporção na região central do estado, enquanto no Mato Grosso, na porção sul e leste do território (Figura 1). Provavelmente o limite dessas ocorrências pode estar associado às condições de maior fertilidade do solo (solos mesotróficos) nestas áreas (ALMEIDA et al., 1998).

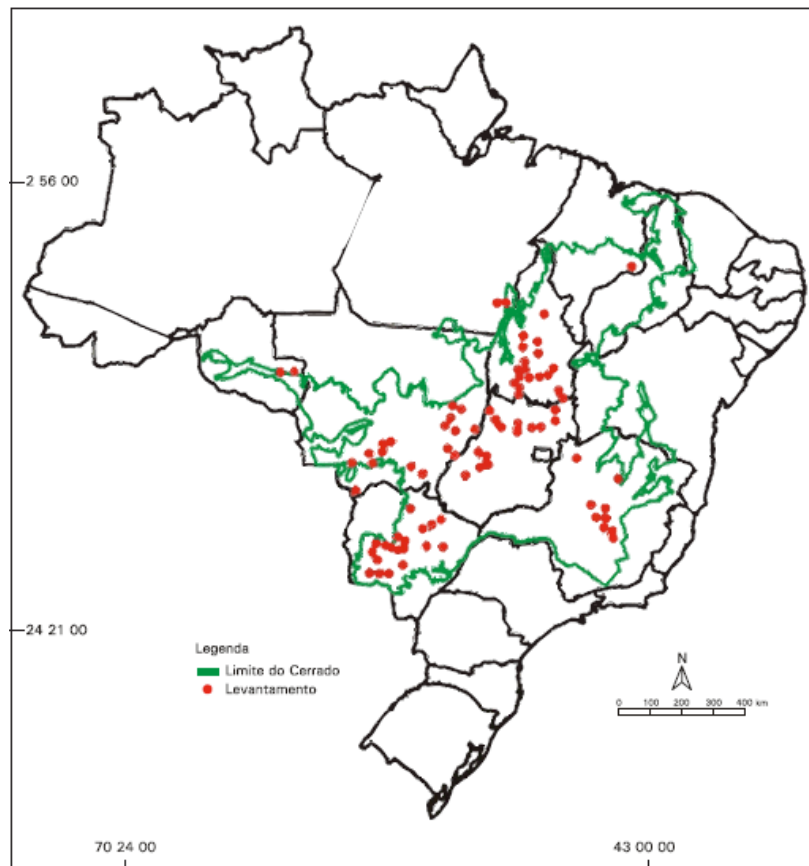


FIGURA 1- Distribuição geográfica de barueiros no Cerrado, em 84 localidades entre 316 levantamentos no Bioma Cerrado.
Fonte: Ratter et al., (2000)

Além dos estados já mencionados Ribeiro et al., (2000) complementam que o barueiro ainda ocorre nos Estados do Amazonas, Bahia, São Paulo e no Distrito Federal, além de países vizinhos como o Paraguai.

Esta espécie apresenta vastas qualidades devido a uma gama de aplicações dos seus produtos, desde aproveitamento de frutos até a utilização de madeira. Visto a sua ampla ocorrência territorial, representa recurso natural de importante potencial econômico para as populações tradicionais.

Além de ser considerado um grande fixador de nitrogênio no solo, o fruto é muito importante pelo seu grande poder alimentício. É utilizado na forma de farinha, semente *in natura*, ou torrada, (esta principalmente exportada para o exterior) (MOTA et al., 2012). A casca que sobra do baru é utilizada na produção do carvão ecológico (SILVA; EGITO, 2005).

As sementes do fruto do baru são consideradas analépticas (restauradoras das forças) e diaforéticas (ativadoras da transpiração), sendo também utilizadas para a

extração do óleo, muito fluído e com presumíveis propriedades medicinais, sendo utilizados como aromatizante de fumo e antirreumático na medicina popular. O óleo possui boa fonte de ácidos graxos poliinsaturados, com elevados teores de ácidos oléico e linoléico, comparável ao óleo de amendoim. Apresenta, ainda, 13,62 mg/100g de vitamina E. A semente é bastante rica em cálcio, fósforo e manganês (CORRÊA et al., 2000). Ribeiro et al., (2000) ainda atribuem efeitos anti-reumático e regulador da menstruação ao óleo de baru. Freitas (2003) complementa que a castanha é considerada o “viagra natural” do Cerrado.

Na alimentação humana, são utilizadas tanto a polpa (mesocarpo) quanto a amêndoa (semente), na forma de doces, geleias e licores (TAKEMOTO et al., 2001). Além disto, a farinha da amêndoa do baru pode ser utilizada como substituto do amendoim, existindo, ainda, outras possibilidades para sua utilização, como biscoitos, doces e pães, entre outros (SOARES JÚNIOR et al., 2007). Togashi e Scarbieri (1994) recomendam que a amêndoa deve ser ingerida torrada, pois pode provocar *in natura*, intumescências da pele e intoxicação devido a teores de tripsina que provocam essa reação. De acordo com Sano et al. (2004) o consumo da amêndoa do baru e seus derivados vem se popularizando, sendo que em algumas regiões, principalmente nas capitais, seus frutos têm alcançado grande valor comercial, alcançando até R\$ 30,00 o preço do quilo da semente torrada, o que demonstra boa aceitação e aumento do consumo pelo público consumidor.

A árvore do baru apresenta tronco cilíndrico e reto e madeira de alta densidade (1,1 g/cm³) (Lorenzi, 2002). Côrrea (1999) caracteriza a madeira do barueiro sendo de cor clara, compacta e resistente a pragas e fungos, características que a torna apropriada para uso de estruturas externas. Lorenzi (2002) menciona que a madeira do barueiro recebe vários destinos, dentre eles a utilização na construção de portas, janelas, tacos para assoalho, forros, moirões, fabricação de carrocerias, implementos agrícolas, dentre outros.

Além dos usos já mencionados o barueiro apresenta grande potencial paisagístico, pois de acordo com Côrrea (1999), a árvore é considerada uma planta ornamental de copa larga e bonita folhagem. A espécie ainda apresenta caule exuberante e esbranquiçado, que confere destaque a árvore em meio às demais inseridas no meio. Heringer (1978) atribui o uso da espécie no paisagismo ainda por apresentar bom crescimento e baixa exigência de adubação e manutenção.

Para Oliveira (1998), o barueiro possui grande aplicabilidade também na recuperação de áreas degradadas e matas ciliares, se destacando dentre as outras espécies do Cerrado por fornecer alimento, por meio de seus frutos, com alto valor calórico e proteico para a fauna silvestre. Em função da abundante produção de massa foliar a árvore ainda promove de maneira mais dinâmica a ciclagem de nutrientes (HERINGER, 1978). A inserção antrópica de espécies nativas ao ambiente natural promove a conservação da biodiversidade e o enriquecimento da diversidade florística, contribuindo também como fonte de renda permanente para comunidades locais, através do extrativismo de óleos, frutos e sementes.

De acordo com Oliveira e Sigrist (2008) o barueiro tem destaque ainda em sistemas silvipastoris e na recuperação de pastagens, pois por ter copa frondosa e comportamento pereniforme, promove sombra praticamente todo o ano, favorecendo melhoria na sensação térmica para o gado, além de fornecer frutos na estação seca. Sano et al., (2004) descrevem que a polpa do baru é rica em calorias, potássio e fósforo, tornando importante fonte complementar nutricional para animais em pastagens naturais ou degradadas. Ao avaliar a influência de árvores nativas no sistema solo-planta em pastagens de *Brachiaria decumbens* no Cerrado, Oliveira (1999) observou que a presença do barueiro promoveu aumento do conteúdo de nutrientes na forragem, reduziu a velocidade de secagem e aumentou a disponibilidade de nutrientes no solo. Dessa forma, é prática rotineira no momento da abertura de área destinada a pastos para gado, as árvores de baru são mantidas, devido a essa série de benefícios proporcionados (CÔRREA, 1999).

2.3 Erosão genética e busca da domesticação

O Cerrado brasileiro possui a maior diversidade de espécies quando comparado a outras savanas (KLINK; MACHADO, 2005) e tem apresentado grande pressão antrópica, decorrente principalmente da atividade pecuária. No Brasil, a área do Cerrado corresponde a aproximadamente 1,8 milhões de km² (AGUIAR et al., 2004), 13% são ocupados com pastagens nativas, 23 % com pastagens cultivadas, 5 % com culturas agrícolas, 18% com outros tipos de uso e 41% correspondem às áreas não cultivadas (SANO et al., 2001).

Homma (1993) relata que muitos produtos explorados de forma extrativista como borrachas, gomas não elásticas, ceras, fibras, oleaginosas, tanantes, corantes, alimentícias, medicinais, madeira, caça e pesca. Porém, evidencia-se que esses produtos vêm passando por um processo de esgotamento das reservas existentes. Dentre os fatores responsáveis por essa devastação do bioma, pode-se citar o estabelecimento de áreas agropecuárias (POZO, 1997); exploração extrativista e predatória (PEREIRA e PASQUALETO, 2011) e ação do fogo (ÁVIDOS; FERREIRA, 2003), prática milenar até hoje utilizada muitas vezes de forma inconsciente e indiscriminada por uma gama de agricultores. Além do esgotamento de muitas espécies vegetais úteis ao homem, estas juntamente com várias espécies da fauna nem chegam a serem classificadas pelos pesquisadores, tornando as riquezas naturais desse bioma ocultas e inexploráveis pela ciência.

Apesar da existência de leis de proteção à fauna, à flora e ao uso do solo e água, elas são ignoradas pela maioria dos agricultores, que utilizam esses recursos naturais erroneamente, na expectativa de maximizarem seus lucros (PEREIRA e PASQUALETO, 2011). O uso indiscriminado desses recursos é recorrente também em função da escassez de indivíduos no ambiente, o que maximiza a pressão exploratória devido à baixa oferta de produtos.

De acordo com Donaldson et al. (2013) o barueiro (*D. alata*) é uma das espécies que encontra-se na lista do Livro Vermelho com declínio verificado ou projetado de extinção. Listas vermelhas são ferramentas essenciais para a conservação, fornecem informações-chave sobre o estado de espécies ameaçadas, permitindo que setores do governo, a iniciativa privada e a sociedade priorizem ações em prol da conservação, e levem a efeito, planos de desenvolvimento capazes de minimizar os impactos sobre espécies ameaçadas de extinção.

Muitas dessas espécies como o barueiro, apesar de não possuírem problemas de propagação verificado, como a dormência de sementes, ainda assim vêm apresentando queda de população e empobrecimento genético, fato atribuído a mudanças do ambiente natural em que a espécie se encontra. Este fato serve de alerta para a adoção de pesquisas que venham contribuir para a preservação destes germoplasmas.

A conservação *in situ* das espécies nativas está comprometida pelos modelos de manejo adotados na exploração dos recursos naturais (BASSINI, 2008), dessa forma, a domesticação associada às técnicas de cultivo *in vitro* podem representar ferramentas de grande potencial para sanar esse problema.

Junqueira et al. (2008) definem domesticação como o conjunto de processos, técnicas e ações, aplicado de forma consciente ou inconsciente, que torna as populações mais adequadas às necessidades humanas. Esse processo consequentemente possibilita que estas espécies sejam domesticadas, o que para Van Leeuwen e Gomes (1995) permite que esses sistemas além de se tornarem fonte de renda para os agricultores familiares, ainda vêm a contribuir com a conservação da biodiversidade e meio ambiente, pois muitas espécies que se encontram ameaçadas de extinção são mantidas preservadas nesses locais, evitando ou reduzindo a erosão genética.

As pesquisas visando à domesticação, seleção de material genético superior e desenvolvimento de sistemas de cultivo é, sem dúvida, o caminho adequado para evitar a erosão genética, a extinção de indivíduos superiores e a pressão extrativista sobre a natureza (JUNQUEIRA et al., 2012). Além disso, pode-se dizer que os pomares domésticos vêm a garantir a perpetuação de indivíduos com características superiores no ambiente de ocorrência natural. As únicas espécies nativas do Cerrado que passaram por um processo de semi-domesticação, mas ocorrem naturalmente também na Mata Atlântica e Amazônia úmida, foram o abacaxi e os maracujás pertencentes às espécies *Passiflora edulis* Sims e *P. alata* Curtis (maracujá-doce) (JUNQUEIRA et al., 2012). Outra espécie nativa que vem ganhando mercado consumidor crescente é o açaí. O desenvolvimento de técnicas de manejo para essa fruteira têm proporcionado incrementos de até 100% da produção, efeito do processo de domesticação (CARVALHO e NASCIMENTO, 2004).

A manutenção de coleções ou bancos de germoplasma para as gerações futuras, devido a devastação e erosão genética e à estreita base genética decorrente dos processos de seleção e clonagem, é um dos passos a serem seguidos para iniciar um processo de domesticação (PEREIRA et al., 2001; PEREIRA e PASQUALETO, 2011), sendo assim técnicas como a cultura de tecidos é uma das ferramentas que vem auxiliar na conservação *in vitro* de germoplasma sem a exposição desse material a adversidades ambientais.

2.4 Cultura de tecidos vegetais

O processo de cultura de tecidos vegetais compreende um conjunto de técnicas nas quais um explante (célula, tecido ou órgão) é isolado sob condições assépticas, em meio nutritivo artificial. Este processo baseia-se no princípio da totipotencialidade das células, ou seja, qualquer célula de organismo vegetal apresenta todas as informações genéticas necessárias à regeneração de uma planta completa (PASQUAL et al., 2001; GALLO; CROCOMO, 1995). Assim, diversas partes da planta como gemas, meristemas apicais, embriões, segmentos de caule, extremidade de raízes e outras, podem ser cultivadas *in vitro* em meio nutritivo apropriado em ambiente asséptico (GRATTAGLIA; MACHADO, 1998).

Pinhal et al. (2011) mencionam que a cultura de tecidos vegetais mostra-se como alternativa através de diferentes técnicas, que permite a propagação de espécies que apresentam dificuldades de germinação, produção de mudas em larga escala, inclusão de espécies em bancos de germoplasma, além de promover o intercâmbio destas.

A manutenção de coleções *in vitro* tem sido considerada como um método alternativo à conservação de germoplasma, especialmente para espécies propagadas vegetativamente, raras e ameaçadas de extinção possibilitando assim, que o material vegetal de interesse se torne disponível para recuperação. Figueiredo e Takita (2004) mencionam que a conservação de germoplasma *in vitro* é vantajosa porque permite a manutenção de um grande número de plantas em um espaço pequeno, atenuando perdas genéticas e custos. Baseado nesse intuito, inúmeros trabalhos vem sendo conduzidos no intuito de regenerar plantas inteiras, utilizando meios nutritivos específicos. No entanto, o sucesso da técnica está associado ao desenvolvimento de protocolos eficientes que permitam inicialmente o perfeito desenvolvimento *in vitro*, e, posteriormente, *ex vitro*, durante as etapas de aclimatização (CANÇADO et al., 2010).

Diante do exposto a cultura de tecidos mostra-se como técnica de grande relevância como ferramenta que atenua o processo de degradação genética para as espécies nativas do Cerrado, além de oferecer condições que possibilitem a domesticação das mesmas.

2.4. 1 Micropropagação

A micropropagação é a técnica de cultura de tecidos de maior impacto, com resultados mais concretos e tem sido utilizada para obtenção de plantas saudáveis e em larga escala (GRATTAGLIA; MACHADO, 1998). Engloba diferentes etapas que vão desde o estabelecimento da cultura *in vitro* até seu enraizamento, culminando com a aclimatização da microplanta (BASTOS et al., 2007). A aplicabilidade dessa técnica vai além, se for considerada a velocidade em que as espécies vêm sofrendo erosão genética, a micropropagação constitui-se como importante método de conservação, por viabilizar a inclusão e manutenção de espécies em bancos de germoplasma *in vitro* (KELLER et al., 2013).

No desenvolvimento dos meios nutritivos para a cultura de tecidos de plantas, houve desde o início uma busca por meios definidos, de composição conhecida e controlada (CALDAS et al., 1998). Esses meios são constituídos basicamente por água, macro e micronutrientes, vitaminas, mio-inositol, uma fonte de energia (carboidrato) e um agente geleificante. Faria et al. (2002) mencionam que juntos esses componentes oferecem as condições necessárias para o desenvolvimento das plantas, porém diferentes combinações são requeridas a depender da espécie. Essas modificações além de proporcionarem melhores condições de desenvolvimento das plantas, têm ainda grande aplicabilidade na melhoria da conservação *in vitro*, conforme citado por Souza et al. (2011). Na maioria das vezes essas alterações se baseiam na redução da concentração de seus componentes originais, utilização de agentes alternativos, alteração do potencial hidrogeniônico (pH) ou ainda adição reguladores de crescimento.

A micropropagação de plantas ornamentais, como as orquídeas, tem ganhado bastantes inovações quanto à alteração e otimização de protocolos. A exemplo disso, Cardoso e Ono (2011) obtiveram maior eficiência na propagação de *Brassocattleya* através da redução pela metade dos sais KNO_3 e NH_4NO_3 e utilização de $1,0 \text{ mg L}^{-1}$ de BAP. A adição de polpa de frutas e água de coco ao meio de cultura tem-se mostrado bastante promissora. Esses componentes orgânicos suplementam os teores de vitaminas, aminoácidos e reguladores de crescimento, além disso, alguns exercem efeito tamponante (ARAÚJO et al., 2006; SILVA et al., 2002). Uma demonstração disso foi o maior número de brotos formados na micropropagação de *Brassolaeliocattleya* 'Pastoral' x *Laeliocattleya* 'Amber Glow' na adição de polpa de banana ao meio de cultivo (SILVA et al., 2005). Esses dados mostram-se similares aos encontrados por

Araújo et al., (2006), onde obtiveram maior número de raízes em orquídeas cultivadas em meio contendo água de coco combinada com polpa de banana. O silício, elemento considerado benéfico para uma gama de espécies cultivadas, também proporcionou efeito positivo em plântulas de orquídeas, evitando a ocorrência de deformações foliares (PASQUAL et al., 2011).

Em espécies lenhosas o meio WPM (LLOYD; MCCOWN, 1981) é o mais difundido, junto a ele o meio MS (MURASHIGE e SKOOG, 1962) também tem sido bastante utilizado. Diversas diluições destes têm sido aplicadas com sucesso na micropropagação de espécies lenhosas. Em *Eugenia involucrata* e *Balanites aegyptiaca* o meio MS reduzido a 50% da concentração de sais promoveu melhores índices de enraizamento de segmentos nodais destas espécies (GOLLE et al., 2012; ANIS et al., 2010). A suplementação do meio de cultura com 10% de água de coco induziu melhor regeneração de embriões imaturos de algodoeiro (*Gossypium hirsutum*), já em mangabeira esse mesmo suplemento limitou a germinação *in vitro* (CARVALHO et al., 2003; PINHEIRO et al., 2001).

Esses variados resultados obtidos demonstram que o tipo de suplemento adicionado ao meio de cultura e a determinação da concentração de sais depende não só do genótipo em questão, como também o tipo de explante a ser utilizado. É importante ressaltar que a modificação de um meio de cultura além de atender exigências fisiológicas das plantas, deve também ser viável do ponto de vista econômico. Pois conforme preconizado por Su et al. (2012) e Campos (2002), essa alteração visa também reduzir custos de produção com componentes acessíveis.

REFERÊNCIAS

- AGUIAR, L. M. S.; MACHADO, R. B.; MARINHO-FILHO, J. A diversidade biológica do Cerrado. In: AGUIAR, L. M. de; CAMARGO, A. J. A. (Org.). **Cerrado: ecologia e caracterização**. Planaltina: Embrapa Cerrados; Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2004. p.17-40.
- ALMEIDA, S. P.; PROENÇA, C. E. B.; SANO, S. M.; RIBEIRO, J. F. **Cerrado: espécies vegetais úteis**. Planaltina: Embrapa - CPAC, p. 464, 1998.
- ANIS, M.; VARSHNEY, A.; SIDDIQUE, I. *In vitro* clonal propagation of *Balanites aegyptiaca* (L.) Del. **Agroforestry systems**, Dordrecht, v.78, n.2, p. 151- 158, Feb. 2010.
- ARAÚJO, A. G; PASQUAL, M.; VILLA, F.; COSTA, F. C. 2006. Água de coco e polpa de banana no cultivo *in vitro* de plântulas de orquídea. **Revista Ceres**, Viçosa, MG, v. 53, p. 608-613.
- ÁVIDOS, M. F. D.; FERREIRA, L. T. **Frutos dos Cerrados** : preservação gera muitos frutos. 2003. Disponível em: www.bioteecnologia.com.br/bio15/frutos.pdf>. Acesso em: 16 out. 2014.
- BASSINI, F. **Caracterização de populações de barueiros (*Dipteryx alata* Vog. – Fabaceae) em ambientes naturais e explorados**. Goiânia: UFGO, 2008. 142f. Tese (Doutorado em Ciências Ambientais)- Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2008.
- BASTOS, L. P.; MOREIRA, M. J. S; COSTA, M. A. P. C.; ROCHA, M. C.; HANSEN, D. S.; SILVA, S. A.; DANTAS, A. C. V. L.; SOUSA, C. S. Cultivo *in vitro* de mangabeira (*Hancornia speciosa*). **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, RS, v.5, supl.2, p.1122-1124, 2007.
- BRITO, M. A. **Fitossociologia e ecologia de população de *Dipteryx alata* Vog. (baru) em área de transição cerrado denso/mata estacional, Pirenópolis, Goiás**. 2004. 132 f. Tese (Doutorado em Ecologia) - Instituto de Ciências Biológicas. Universidade de Brasília, Brasília, 2004.
- BULHÃO, C. F.; FIGUEIREDO, P. S. 2002. Fenologia de leguminosas arbóreas em uma área de cerrado marginal no nordeste do Maranhão. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, SP, v. 25, p. 361-369.
- CALDAS, L. S.; HARIDASAN, P.; FERREIRA, M. E. Meios nutritivos. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília, DF: Embrapa-SPI, 1998, v. 1, p. 87-132.

CAMPOS DM. 2002. **Orquídeas**: manual prático de cultura. 3. ed. Rio de Janeiro: Expressão e Cultura. 143p.

CANÇADO, G. M. A.; BRAGA, F. T.; SOUZA, R. A. V.; NUNES, C. F.; RIBEIRO, A. P.; SOARES, B. D. F. **Cultivo *in vitro* da oliveira e suas aplicações**. Epamig. Lavras, MG, 2010. 330 p.

CARDOSO, J. C; ONO, E. O. 2011. *In vitro* growth of *Brassocattleya* orchid hybrid in different concentrations of KNO₃, NH₄NO₃ and benzylaminopurine. **Horticultura Brasileira**, Botucatu, SP, v. 29, p. 359-363.

CARVALHO, J. E. U.; NASCIMENTO, W. M. O. **Fruticultura na amazônia**: longo caminho entre a domesticação e a utilização. 2004. Disponível em: <<http://www.esalq.usp.br/departamentos/lpv/download/resumo%20Palestra%20esalq.pdf>>. Acesso em: 12 set 2014.

CARVALHO, J. M. F. C.; SOUSA JÚNIOR, R. L.; LOPES, K. P.; SANTOS, J. W. dos. **Otimização da metodologia da regeneração de embrião imaturo de algodão**. Campina Grande: Embrapa Algodão, 2003. 3p. (Embrapa Algodão. Comunicado técnico, 173).

CORRÊA, G. C. **Avaliação comportamental de plantas de baru (*Dipteryx alata* Vog.) nos cerrados do Estado de Goiás**. Goiânia. UFG/Escola de Agronomia/PPGA, 1999. 111p. (mimeogr.).

CORRÊA, G. C.; ROCHA, M. R.; NAVES, R. V. Germinação de sementes 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.

DONALDSON in MARTINELLI G., MORAES, M. A. **Livro vermelho da flora do Brasil**. Rio de Janeiro : Andrea Jakobsson: Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2013. 1100 p.

EITEN, G. Delimitação do conceito de Cerrado. **Separata de Arquivos do Jardim Botânico**. Rio de Janeiro, v. 21 p 125-134, 1977.

FARIA, R. T.; SANTIAGO, D. C.; SARIDAKIS, D. P.; ALBINO, U. B.; ARAÚJO, R. Preservation of the brazilian orchid *Cattleya walkeriana* Gardner using *in vitro* propagation. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Londrina, v.2, n.3, p.489-492, 2002.

FERNANDES, R. C. **Estudos propagativos do coquinho azedo (*Butia Capitata* (Mart.) Becc) Arecaceae**. 2008. 94 f. Dissertacao (Mestrado em Ciencias Agrarias) – Instituto de Ciencias Agrarias, Universidade Federal de Minas Gerais, Montes Claros, 2008.

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.

FILGUEIRAS, T. S.; SILVA, E. Estudo preliminar do baru (Leg. Faboideae). **Brasil Florestal**, Brasília, v. 6, n. 22, p. 33-39, abr./jun. 1975.

FREITAS, C. **O Viagra do Cerrado é natural e crocante**. Jornal Correio Brasiliense , mai, 2003.

GALLO, L. A.; CROCOMO, O. J. 1995. A cultura de tecidos em fitopatologia. In: FILHO AB; KIMATI H; AMORIM L. (eds). Manual de fitopatologia: princípios e conceitos. São Paulo: **Agronômica Ceres**. Viçosa, MG, p. 495-505.

GOLLE, D. P.; REINIGER, L. R. S; CURTI, A. R.; LEÓN, E. A. B. Estabelecimento e desenvolvimento *in vitro* de *Eugenia involucrata* DC.: influência do tipo de explante e do meio nutritivo. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 22, n. 1, p. 207-214, jan.-mar. 2012.

GRATTAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagacao In: TORREA, A. C., CALDAS, L. S., BUSO, J. A. **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**, Viçosa: Embrapa, 1998, p. 184-250.

GÜBBÜK, H.; PEKMEZCI, M. In vitro propagation of some new banana types (*Musa* spp.). **Turkish Journal of Agriculture and Forestry**, Istambul, v.28, p.355-361, Oct. 2004.

HERINGER, E. P. Comportamento de algumas espécies euxilóforas, quando cultivadas no Cerrado de Brasília de sementes procedentes de outras regiões fitogeográficas brasileiras. In: CONGRESSO LATINO-AMERICANO DE BOTÂNICA, 2; CONGRESSO BRASILEIRO DE BOTÂNICA, 29; 1978, **Resumos**, Brasília/ Goiânia. Resumos, p. 56-57.

HOMMA, A. K. O. **Estrativismo vegetal na Amazônia**: limites e oportunidades. Brasília: EMBRAPA-SPI, Centro de Pesquisa Agroflorestal da Amazônia Oriental, 1993. 201 p.

JUNQUEIRA, N. T. V.; FALEIRO, F. G.; BRAGA, M. F ; PEIXOTO, J. R. Domesticação de espécies da flora nativa do Cerrado. In: PARRON, L. M. et al.. (Org.). **Cerrado**: desafios e oportunidades para o desenvolvimento sustentável. Brasília: Embrapa Cerrados, 2008, v. 1, p. 125-163.

JUNQUEIRA, N. T. V., JUNQUEIRA, K. P., PREREIRA, A. V., PEREIRA, E. B. C., BRAGA, M. F., CONCEIÇÃO, L. D. H. C. S., FALEIRO, F. G. Fruteiras Nativas do

Cerrado: o extrativismo e a busca da domesticação. XXII CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA. **Resumos**, 2012, Bento Gonçalves- RS.

KELLER, E. R. J.; ZANKE, C. D.; SENULA, A.; BREUING, A.; HARDEWEG, B.; WINKELMANN, T. Comparing cots for different conservation strategies of garlic (*Allium sativum* L.) germplasm in genebanks. **Genetic Resources and Crop Evolution**, Dordrecht, v. 60, n. 3, p. 913-926, Mar. 2013.

KLINK, C. A.; MACHADO, R. B. A Conservação do Cerrado. **Megadiversidade**, Belo Horizonte, v. 1, p. 147-155, 2005.

LOYD, G.; MCCOWN, B. Commercially-feasible micropropagation of mountain laurel, *Kalmia latifolia*, by use of shoot-tip culture. **International Plant Propagation Society Proceedings**, Pensilvânia, USA, v. 30, p. 421-427, 1981.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras**: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. 4. ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2002. 352 p.

MACEDO, J. F. As plantas oleaginosas do cerrado de Minas Gerais. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 16, n. 173, p. 21-7, 1992.

MELO, B. **Cultivo de embrião *in vitro* da gabirobeira (*Syagrus oleraceae* (Mart.) Becc.)**. 2000. 117f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Federal de Lavras, MG.

MENDONÇA, R. C.; FELFILI, J. M.; WALTER, B. M. T.; SILVA JÚNIOR, M. C.; REZENDE, A. V.; FILGUEIRAS, T. S.; NOGUEIRA, P. E.; FAGG, C. W. Flora vascular do Bioma Cerrado- Checklist com 12.356 espécies. In: SANO, S. M.; ALMEIDA, S. P.; RIBEIRO, J. F. (ed.). **Cerrado**: ecologia e flora. Planaltina: Embrapa Cerrados, p. 421- 1279, v. 2, 2008.

MOTA, L. H. S.; SCALON, S. P. Q.; HEINZ, R. Sombreamento na emergência de plântulas e no crescimento inicial de *Dipteryx alata* Vog. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 22, n. 3, p. 423-431, jul.-set., 2012.

MYERS, N.; MITTERMEIER, R. A.; MITTERMEIER, C. G, FONSECA, G. A. B.; KENT, J. Biodiversity hotspots for conservation priorities. **Nature**, Reino Unido, v. 403. p. 853-858. 2000.

OLIVEIRA, A. N. **Variabilidade genética entre e dentro de procedências de baru (*Dipteryx alata* Vog.)**. 1998. 80 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal)- Universidade Federal de Lavras, Lavras, 1998.

OLIVEIRA, M. I. B.; SIGRIST, M. R. Fenologia reprodutiva, polinização e reprodução de *Dipteryx alata* Vogel. (Leguminosae-Papilionoideae) em Mato Grosso do Sul, Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 31, n. 2, p. 195-207, 2008.

OLIVEIRA, S. A. **Variação genética de aroeira (*Myracrodruon urundeuva* Fr. All.) sob diferentes condições de cultivo**. 1999. 63 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Agronomia)-Faculdade de Engenharia, Universidade Estadual Paulista, Ilha Solteira, 1999.

PASQUAL, M.; HOFFMANN, A.; RAMOS J. D. 2001. **Cultura de tecidos: tecnologia e aplicações**. Situação e Perspectivas. Lavras: UFLA/FAEPE. 72 p.

PASQUAL, M.; SOARES, J. D. R.; RODRIGUES, F. A.; ARAUJO, A. G.; SANTOS, R. R. 2011. Influência da qualidade de luz e silício no crescimento *in vitro* de orquídeas nativas e híbridas. **Horticultura Brasileira**, Botucatu/SP, 29: 324-329.

PEREIRA, M. E.; PASQUALETO, A. Desenvolvimento sustentável com ênfase em frutíferas do Cerrado. **Studos**, Goiânia, v. 38, n. 2, p. 333-363, abr./jun. 2011.

PINHAL, H. F. **Estabelecimento *in vitro* de barueiro (*Dipteryx alaata* Vog.)**. 2011. 54 f. Dissertação de mestrado (Mestrado em Agronomia). Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2011.

PINHEIRO, C. S. R.; MEDEIROS, D. N. de; MACÊDO, E. C. de; ALLOUFA, M. A. I. Germinação *in vitro* de mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomez) em diferentes meios de cultura. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal/SP, v.23, p.413-416, 2001.

PINTO, M. N. **Cerrado**: caracterização, ocupação e perspectivas. Brasília, DF: Universidade de Brasília, 1993. 681 p.

POZO, O. V. C. **O pequi (*Caryocar brasiliense*): uma alternativa para o desenvolvimento sustentável do cerrado no norte de Minas Gerais**. 1997. 100 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 1997.

PRIMACK, RICHARD, B.; RODRIGUES, E. **Biologia da conservação**. Londrina: Vida, 2001. 1-68p.

RATTER, J. A.; BRIDGEWATER, S., RIBEIRO, J. F., DIAS, T. A. B. Estudo preliminar da distribuição das espécies lenhosas da fitofisionomia Cerrado sentido restrito nos Estados compreendidos pelo Bioma Cerrado. **Boletim do Herbário Ezechias Paulo Heringer**, Brasília, v. 5, p. 5-43, 2000.

RATTER, J. A.; BRIDGEWATER, S.; ATKINSON, R.; RIBEIRO, J. F. 2003. Analysis of the floristic composition of the Brazilian Cerrado vegetation. III: comparison of the

woody vegetation of 376 areas. **Edinburgh Journal of Botany**, Reino Unido, v. 60, p. 57-109.

RATTER, J. A.; RICHARDS, P. W.; ARGENT, G.; GIFFORD, D. R. Observations on the forests of some mesotrophic soils in central Brazil. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo/SP, v.1, p.47-58, 1978.

RIBEIRO, J. F.; SANO, S. M.; BRITO, M. A.; FONSECA, C. E. L. **Baru** (*Dipteryx alata* Vog.). Jaboticabal: Funep, (Série Frutas Nativas, 10), 2000, 41 p.

RIBEIRO, J. F.; WALTER, B. M. T. Fitofisionomias do bioma cerrado. In: SANO, S. M.; ALMEIDA, S. P. de. **Cerrado: ambiente e flora**. Planaltina, DF: EMBRAPA-CPAC, 1998. p. 89-152.

RIBEIRO, J. F., S. M. SANO; SILVA, J. A. Chave preliminar de identificação dos tipos fisionômicos da vegetação do Cerrado. In: CONGRESSO NACIONAL DE BOTÂNICA. SOCIEDADE BOTÂNICA DO BRASIL, 32. **Anais...** Teresina, Brasil, 1981.

RICKLEFIS, R. E. **A economia da natureza**. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1993. 369-387p.

SANO, E. E.; JESUS, E. T.; BEZERRA, H. S. **Uso de um sistema de informações geográficas para quantificação de áreas remanescentes do Cerrado**. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2001. 4 p. (Embrapa Cerrados. Comunicado Técnico, 62).

SANO, S. M.; ALMEIDA, S. P. de. **Cerrado: ambiente e flora**. Planaltina, DF: EMBRAPA-CPAC, 1998. 556 p.

SANO, S. M.; RIBEIRO, J. F.; BRITO, M. A. de. **Baru: biologia e uso**. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2004. 52p.

SILVA, A. K.; EGITO, M. Rede de comercialização solidária de agricultores familiares e extrativistas do cerrado: um novo protagonismo social. **Agriculturas** - v. 2 – n. 2, jun. 2005.

SILVA, A. L. L.; FRANCO, E. T. H.; GESING, J. P. A.; PESSOAS, C. C. Efeitos de alguns meios de cultura sobre o desenvolvimento *in vitro* de *Cattleya tigrina* A. Rich. Ex Beer – **Orchidaceae**. Curitiba: ABCTP Notícias, 2002. 102 p.

SILVA, D. B.; SILVA, J. A.; JUNQUEIRA, N. T. V.; ANDRADE, L. R.M. **Frutas do cerrado**. Brasília: Embrapa Informações Tecnológica, 2001.179p.

SILVA, E. F.; PASQUAL, M.; PAIVA, P. D. O.; SILVA, A. B.; NOGUEIRA, D. A. 2005. Polpa de banana e vitaminas do meio MS no cultivo *in vitro* de orquídea. **Plant Cell Culture and Micropropagation** 1: 8-12.

SOARES JÚNIOR, M. S.; CALIARI, M.; TORRES, M. C. L.; VERA, R.; TEIXEIRA, J. S.; ALVES, L. C. Qualidade de biscoitos formulados com diferentes teores de farinha de amêndoa de baru (*Dipteryx alata* Vog.). **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 37, n. 1, p. 51-56, 2007.

SOUZA, G. L. O. D.; ALVES, K. A.; NETO, A. I.; ANDRADE, L. F.; DURÃES, N. N. L.; OLIVEIRA, M. B.; LONDE, L. N.; SOUZA, A. S. Efeito de Concentrações de Sacarose e de Meio de Cultura (8S) sobre o Crescimento de Mandioca Cultivar Mico (BGM 1014) Conservadas *in vitro*. CONGRESSO BRASILEIRO DE MELHORAMENTO DE PLANTAS, **Anais...** 6, Búzios/RJ, Brasil, 2011.

SU, M. J.; SCHNITZER, J. A.; FARIA, R. T. Polpa de banana e fertilizantes comerciais no cultivo *in vitro* de orquídea. **Científica**, Jaboticabal, v.40, n.1, p.28–34, 2012.

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.

TOGASHI, M.; SCARBIERI, V. C. Caracterização química parcial do fruto do baru (*Dipteryx alata* Vog.). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 14, n. 1, p. 85-95, 1994.

TORRES, G. A.; DAVIDE, L. C.; BEARZOTI, E. Sincronização do ciclo celular em meristema radicular de baru (*Dipteryx alata* Vog.). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 27, n. 2, p. 398-405, 2003.

VAN LEEUWEN, J.; GOMES, J.B.M. O pomar caseiro na Região de Manaus, Amazonas, um importante sistema agroflorestral tradicional. In: ACTAS II Encontro da Sociedade Brasileira de Sistemas de Produção, Londrina, 1995. IAPAR, Londrina: 180-189. 4353 **Rev. Bras. de Agroecologia**, v. 4. Londrina/PR, Brasil, nov. 2009.

CAPÍTULO 2

CARVÃO ATIVADO E MEIOS DE CULTURA NO ESTABELECIMENTO *IN VITRO* DE *Dipteryx alata* Vog.

RESUMO

SILVA, HERICK FERNANDO DE JESUS. **Carvão ativado e meios de cultura no estabelecimento *in vitro* de *Dipteryx alata* Vog.** 2015. 64 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia/ Fitotecnia) Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, MG.¹

O barueiro (*Dipteryx alata* Vog.) é uma espécie frutífera do Cerrado que ocorre em oito estados brasileiros. Possui múltiplas possibilidades de utilização, destacando-se o uso na alimentação humana e animal, na indústria madeireira, na arquitetura paisagística e na recuperação de áreas degradadas. Uma das dificuldades encontradas no cultivo desta frutífera é que por ela ainda estar em estado praticamente selvagem, possui alguns problemas que dificultam o seu possível cultivo comercial, como desuniformidade no desenvolvimento, além disso, encontra-se ameaçada de extinção. A propagação *in vitro* constitui uma importante ferramenta para a conservação e o intercâmbio de germoplasma, além de proporcionar a rápida propagação de mudas de qualidade em larga escala. Comumente o meio de cultivo mais utilizado é o MS, considerado um dos mais completos do ponto de vista nutricional. O meio WPM é indicado para a propagação de espécies lenhosas, porém não há relatos da sua utilização para a propagação do barueiro. Plantas lenhosas apresentam grandes problemas com oxidação em fase de estabelecimento *in vitro*, com isso, antioxidantes como o carvão ativado atua como coadjuvante na adsorção desses compostos fenólicos, atenuando os seus efeitos no meio. Diante disso o objetivo desse trabalho foi testar diferentes doses de carvão ativado e três meios de cultivo: MS, WPM e um contendo apenas água e ágar, no estabelecimento *in vitro* de barueiro. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado (DIC) em esquema fatorial 3x4 (três meios de cultivo e quatro doses de carvão ativado) com três repetições. Cada parcela foi constituída de dez frascos com uma única semente em cada. Aos 60 dias após a inoculação dos explantes foram avaliados: massa fresca (MF) e seca (MSC), diâmetro do caule (DIA), comprimento da parte aérea (CPA), número de folhas (NF), comprimento da raiz (CR), taxa de germinação (GER) e os teores de clorofilas por meio do aparelho SPAD 502 Minolta. Baseado nas melhores respostas o meio MS acrescido de 3,0 g L⁻¹ de carvão ativado mostra-se mais promissor para o estabelecimento *in vitro* de barueiro.

Palavras-chave: MS, WPM, barueiro, micropropagação.

¹Orientador: Berildo de Melo- UFU

ABSTRACT

SILVA, HERICK FERNANDO DE JESUS. **Activated charcoal and culture media *in vitro* establishment of *Dipteryx alata* Vog.** 2015. 64 p. Dissertation (Master's Program Agronomy/crop Science) Federal University of Uberlândia, Uberlândia, MG¹

The barueiro (*Dipteryx alata* Vog.) is a fruit species of the Cerrado that occurs in eight states. It has multiple possibilities of use, especially the use in food and feed, in the timber industry, landscape architecture and the recovery of degraded areas. One of the difficulties encountered in the cultivation of this plant is that for she was still in almost wild, has some problems that hinder the possible cash crop also is endangered. In vitro propagation is an important tool for the conservation and exchange of germplasm, and provide the rapid spread of quality seedlings on a large scale. Commonly the most popular means of cultivation is MS, considered one of the most complete nutritional point of view. The WPM is indicated for the propagation of woody species, but there are no reports of its use for the spread of barueiro. Woody plants have major problems with oxidation in vitro establishment phase, therefore, antioxidants such as activated carbon acts as an adjuvant in the adsorption of these phenolic compounds, mitigating its effects in the middle. Therefore the aim of this study was to test different doses of activated charcoal and three culture media: MS, WPM and containing only water and agar, in vitro establishment of barueiro. The experimental design was completely randomized (DIC) in a 3x4 factorial design (three means of cultivation and four activated carbon doses) with three replications. Each plot contained ten bottles with a single seed in each. At 60 days after inoculation of explants were evaluated: fresh (MF) and dry (MSC), stem diameter (DIA), shoot length (CPA), number of leaves (NF), root length (CR) , germination rate (GER) and chlorophyll contents from the phone SPAD 502 Minolta. Based on the best answers the MS medium supplemented with 3.0 g L⁻¹ of activated charcoal appears to be more promising for *in vitro* establishment of barueiro.

Keywords: MS, WPM, barueiro, micropropagation.

¹Major: Berildo de Melo – UFU.

1. INTRODUÇÃO

Os Cerrados brasileiros, com seus 204 milhões de hectares, aproximadamente 25% do território nacional, apresentam uma diversidade faunística e florística em suas diferentes fisionomias vegetais (ROCHA, 2009). Essa vegetação contém inúmeras espécies de plantas identificadas como portadoras de propriedades que as tornam propensas a exploração pelo homem (BLUMENSCHNEIN; CALDAS, 1995). São plantas com potencial para serem usadas como fonte de alimentos, de substâncias com propriedades medicinais, madeira e flores ornamentais, caracterizando o Cerrado como uma região de enorme biodiversidade a ser explorada, preservada e multiplicada (ALMEIDA et al., 1998; PEREIRA, 1992.).

O barueiro (*Dipteryx alata* Vog.) é uma espécie frutífera do Cerrado com múltiplas possibilidades de utilização, sendo o aproveitamento alimentar, com o consumo das suas sementes a opção mais promissora. Cabe ressaltar que o fruto do barueiro apresenta uma polpa aromática e de agradável sabor semelhante ao do amendoim, podendo ser consumida ao natural ou torrada (ALMEIDA et al., 1998). Trata-se de uma espécie com um cultivo muito promissor, pois pode ser usada para diversos fins, destacando-se o uso na alimentação, na indústria madeireira, na arquitetura paisagística e na recuperação de áreas degradadas (SILVÉRIO et al., 2013). Através da notória importância socioeconômica do barueiro torna-se necessário desenvolver técnicas que viabilizem o processo de produção de mudas, uma vez que estas informações ainda são incipientes. A micropropagação além de disponibilizar maior quantidade de mudas em curto período de tempo, permite o controle das condições ambientais durante a propagação e a preservação de plantas matrizes sem riscos de infecção por microrganismos (BARBOZA; CALDAS, 2001), no entanto, é necessário o estabelecimento de protocolos que melhor se adequem às exigências da espécie.

Os meios de cultura, segundo Caldas et al. (1990), além de fornecer as substâncias essenciais para o crescimento, também controlam o padrão de desenvolvimento *in vitro*. A grande variedade de meios de cultura que tem sido utilizada para a regeneração de espécies de diferentes gêneros foi relatada por Thorpe et al. (1991) entre diversos outros pesquisadores. Alguns desses meios foram especificamente desenvolvidos para fornecer os requisitos particulares à espécie trabalhada, como o meio básico de cultura de MS (MURASHIGE; SKOOG 1962),

desenvolvido inicialmente para tecido medular de *Nicotiana tabacum* e que atualmente é utilizado para um grande número de espécies; e o Woody Plant Medium (WPM) elaborado por Lloyd e McCown (1981), para propagação de plantas lenhosas. Na literatura ainda inexistem trabalhos utilizando o meio WPM para a produção de mudas de barueiro, além disso, as poucas pesquisas em que utilizaram o meio MS para o cultivo da espécie ainda precisam ser aprimoradas.

Limitações comumente encontradas no cultivo *in vitro* das espécies lenhosas são as altas concentrações de compostos fenólicos (KERBAUY, 2004). Tal oxidação é resultante da liberação de compostos fenólicos *in vitro*, precursores da síntese de lignina pelo tecido injuriado (VAN WINKLE et al., 2003). Esse acúmulo de polifenóis e produtos de oxidação, como melanina, suberina, lignina, cutina e calose em torno da superfície excisada, modifica a composição do meio de cultivo e, consequentemente, a absorção de metabólitos (ANDRADE et al., 2000). Os compostos fenólicos sofrem oxidação pelas enzimas polifenases, produzindo substâncias tóxicas que normalmente inibem o crescimento dos explantes, ocasionando, não raramente, até a morte dos mesmos (SATO et al., 2001)

O carvão ativado, quando adicionado ao meio de cultura, possui a capacidade de adsorver substâncias tóxicas liberadas pelos explantes ou impurezas de outros componentes (GRATTAPAGLIA; MACHADO, 1998). George e Ravishankar (1997) complementam que, além de adsorver os compostos fenólicos o carvão ativado ainda atenua a interceptação luminosa no meio de cultura, estimulando o enraizamento. Entretanto, este antioxidante possui efeito não seletivo o que pode induzir androgenia, alterar o pH, remover nutrientes orgânicos e reguladores vegetais, inibir o crescimento e a morfogenia (ARDITTI; ERNST, 1992; GEORGE, 1993; PAN; STADEN, 1998; SANTOS-SEREJO et al., 2006). Sendo assim, a concentração desse aditivo ao meio de cultura deve ser ajustado a fim de proporcionar máxima eficiência, sem deixar que efeitos antagônicos ao desenvolvimento da espécie venham a influenciar significativamente o desenvolvimento dos explantes.

Pinhal (2012) testando diferentes fontes de antioxidantes no cultivo *in vitro* do barueiro obteve maior percentual de desenvolvimentos de plantas tratadas com carvão ativado. Outros trabalhos demonstram a importância desse aditivo em outras espécies lenhosas, como *Bowdichia virgilioides* (MOURA et al., 2012), *Eugenia pyriformis* (NASCIMENTO et al., 2008), *Anadenanthera colubrina* (NEPOMUCENO et al., 2009) e *Acacia mearnsii* (DIZARS et al., 2009).

Diante do exposto, objetivou-se neste trabalho avaliar o meio de cultura mais adequado para o estabelecimento *in vitro* de sementes de barueiro, visando a não oxidação fenólica por meio de diferentes concentrações de carvão ativado.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi conduzido no Laboratório de Biotecnologia do Instituto de Ciências Agrárias (ICIAG) da Universidade Federal de Uberlândia. Os frutos dos barueiros (*Dipteryx alata* Vog.) foram coletados de árvores situadas na zona rural da cidade de Uberlândia- MG, próximo ao distrito de Cruzeiro dos Peixotos.

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 2013 e armazenados em local seco, a temperatura ambiente, protegidos da luz solar.

No mês de janeiro de 2014 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. Antecedendo a inoculação, as sementes passaram por um processo de assepsia que consistiu em lavagem com detergente líquido em água corrente por cinco minutos, imersão em álcool 70% v/v por dois minutos e posteriormente foram submetidas a uma solução de hipoclorito de sódio 2% v/v sob agitação por um período de 30 minutos. Ao término desse processo, as sementes passaram por uma tríplice lavagem em água destilada e autoclavada em câmara de fluxo laminar.

Os tratamentos consistiram de três diferentes meios de cultura – MS (MURASHIGE e SKOOG, 1962), WPM (Woody Plant Medium) (LLOYD e MCCOWN, 1981) e água mais ágar (AA) e quatro concentrações de carvão ativado- 0, 2, 4 e 6 g L⁻¹ (Tabela 1). O experimento foi instalado em delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 3x4 (12 tratamentos) e três repetições, totalizando 36 parcelas, sendo que cada parcela foi composta por 10 frascos com uma semente em cada.

TABELA 1- Tratamentos utilizados para o estabelecimento *in vitro* de barueiros (*Dypterix alata* Vog.)

Tratamentos	Meio de Cultura	Dose de Carvão Atívado (g L ⁻¹)
T1	AA ¹	0,0
T2	AA ¹	2,0
T3	AA ¹	4,0
T4	AA ¹	6,0
T5	MS ²	0,0
T6	MS ²	2,0
T7	MS ²	4,0
T8	MS ²	6,0
T9	WPM ³	0,0
T10	WPM ³	2,0
T11	WPM ³	4,0
T12	WPM ³	6,0

¹Água mais ágar; ² Murashige e Skoog (1962); ³Lloyd e McCown (1981).

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⁻¹) além de serem submetidos à radiação U.V. durante 15 minutos.

Os explantes foram inoculados em frascos com capacidade para 150 mL. Foram colocados nos frascos 40 mL de meio MS, WPM ou AA. Todos os meios foram acrescidos de 6,5 g L⁻¹ de ágar e o pH foi ajustado para 5,7. Os frascos contendo os meios foram vedados com tampas plásticas e em seguida autoclavados a uma temperatura de 121°C durante 20 minutos um dia antes da inoculação.

Feita a inoculação das sementes, os frascos foram acondicionados em sala de crescimento, mantida em temperatura de 25 °C \pm 1°C e com fotoperíodo de 16 horas/dia, fornecida por lâmpadas fluorescentes brancas frias que proporcionavam uma intensidade luminosa de 25 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

O desenvolvimento das plântulas foi acompanhado por um período de dois meses sendo que ao final foram avaliadas as seguintes características: taxa de germinação (sendo consideradas germinadas as sementes que possuísem a parte aérea ou a radícula visível e desenvolvida) (GER); comprimento da parte aérea (CPA) e da maior raiz (CR), massa seca (MSC) e massa fresca (MF), diâmetro do caule (DIA), número de folhas (NF) e teores de clorofila A (CA), B (CB) e total (CT).

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância através do programa computacional Sistema para Análise de Variância (SISVAR) (FERREIRA, 2000) e as médias comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade de erro. Antes disso a normalidade dos resíduos e homogeneidade das variâncias, com os testes de Shapiro-Wilk ($\alpha = 0,01$) e Levene ($\alpha = 0,01$), foram testadas e atendidas através do programa computacional SPSS.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Através do resumo da análise de variância (Tabela 2), observa-se que houve interação significativa entre os fatores apenas para as variáveis massa fresca (MF) e diâmetro (DIA). Já para as características massa seca (MSC), comprimento da parte aérea (CPA), comprimento da maior raiz (CR), porcentagem de germinação (GER), clorofila A (CA), B (CB) e Total (CT), a interação não foi significativa, o que caracteriza independência dos fatores estudados, sendo assim, foram analisados isoladamente. O número de folhas (NF) foi a única característica que não apresentou diferença significativa entre os tratamentos.

TABELA 2- Resumo da análise de variância das características massa seca (MSC), massa fresca (MF), comprimento da parte aérea (CPA), comprimento da maior raiz (CR), diâmetro do caule (DIA), número de folhas (NF), % de germinação (GER), índice de clorofila A (CA), B (CB) e Total (CT), de plântulas de barueiro (*Dipteryx alata* Vog.) cultivadas *in vitro* sob três meios nutricionais e quatro doses de carvão ativado. Uberlândia, MG, 2014.

FV	GL	MSC	MF	CPA	CR	DIA	NF	GER	CA	CB	CT
Meio	2	1,31 ^{ns}	11,00*	2,90 ^{ns}	11,95*	6,11 ^{ns}	0,39 ^{ns}	1,37 ^{ns}	5,94*	5,47*	6,24*
Carvão	3	7,92 ^{ns}	10,00*	3,75*	6,86*	2,89 ^{ns}	1,41 ^{ns}	10,28*	0,91 ^{ns}	0,74 ^{ns}	0,86 ^{ns}
MeioxCarvão	6	1,22 ^{ns}	2,58*	0,515 ^{ns}	1,86 ^{ns}	3,93*	0,16 ^{ns}	0,93 ^{ns}	0,27 ^{ns}	1,70 ^{ns}	1,12 ^{ns}
CV (%)		8,28	10,36	8,39	16,89	7,21	14,56	14,28	4,55	20,37	9,11
Média geral		0,70	3,06	16,41	25,84	4,22	22,29	79,16	44,09	21,70	65,80

*Significativo a 5% de probabilidade pelo teste F, ^{ns} não significativo pelo teste F.

A massa fresca (MF) das plântulas de barueiro teve comportamento linear tanto em meio MS, como no meio WPM, apontando que o incremento gradual das doses de carvão ativado favoreceu o ganho de biomassa dessas plantas (Figura 1). Quanto à testemunha, nenhuma regressão de modelo linear se adequou aos dados, por isso nenhum gráfico foi exposto para representar a massa fresca para esse tratamento. O efeito adsorvente sobre as substâncias tóxicas do meio pelo carvão ativado pode ter promovido a inatividade destas, evitando interferência no ganho de biomassa dessas plântulas. Respostas deste trabalho condizem com as encontradas no desenvolvimento de embriões de citros cultivados *in vitro* (RIBEIRO et al., 2000), onde neste caso as

maiores doses de carvão ativado foram as que favoreceram melhores incrementos de parte aérea e sistema radicular.

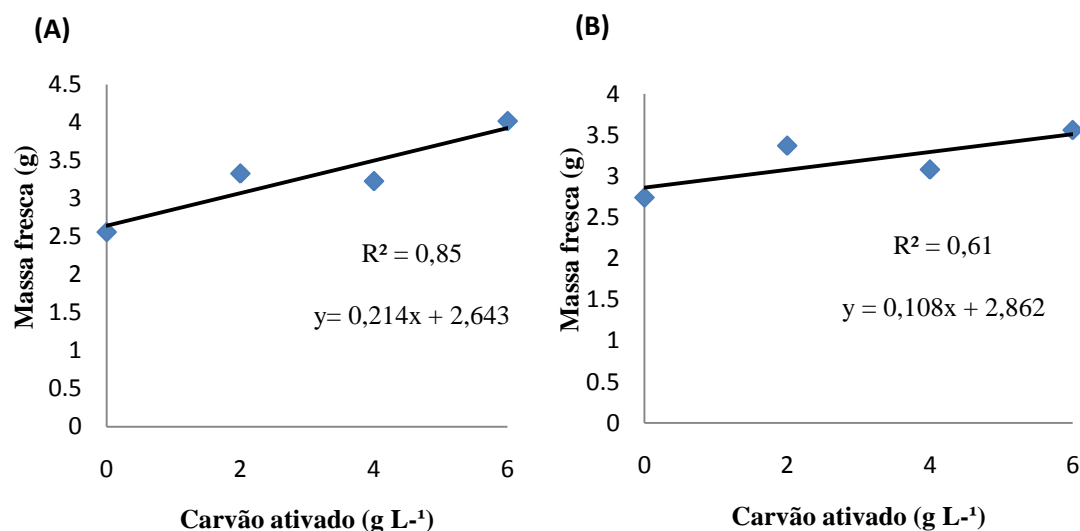


FIGURA 1- Massa fresca de plântulas de barueiro (*Dipteryx alata* Vog.) em diferentes doses de carvão ativado sob meios de cultivos MS (A) e WPM (B). Uberlândia, MG, 2014.

Até a dose de 4 g L⁻¹ a variável MF foi significativamente igual para todos os meios de cultura testados, já os tratamentos acrescidos de 6 g L⁻¹ de carvão ativado só foram superiores para os meios MS e WPM (Tabela 3). A maior concentração de carvão ativado (6 g L⁻¹) em meio de cultivo isento de nutrientes (água+ágar) pode ter desfavorecido o desenvolvimento dessas plântulas devido ao efeito adsorvente exercido por esse aditivo, que nessas condições provavelmente comprometeu a absorção de reservas do próprio endosperma do explante.

TABELA 3 – Massa fresca (g) média de plântulas de barueiro (*Dipteryx alata* Vog.) sob três meios nutricionais de cultivo e quatro doses de carvão ativado durante a micropropagação. Uberlândia, MG, 2014.

Meio nutritivo	Carvão ativado (g L ⁻¹)			
	0	2	4	6
AA	2,54 A	2,86 A	2,84 A	2,64 B
MS	2,56 A	3,33 A	3,08 A	3,57 A
WPM	2,74 A	3,37 A	3,23 A	4,02 A
CV= 10,36%; DMS= 0,32				

Médias seguidas de mesma letra maiúscula, na coluna, não diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.; CV: coeficiente de variação; DMS: diferença mínima significativa.

Comportamento similar também foi observado para o diâmetro (DIA) (Tabela 4), reforçando a hipótese de que em condições de meios de cultura desprovidos de sais, o carvão vem a competir com próprias reservas naturais das plântulas. Em explantes de híbridos de citros o carvão ativado favoreceu resultados positivos para a massa fresca das plântulas, porém, os explantes passaram a requerer maior concentração de GA₃, fato que aponta interferência desse aditivo na assimilação deste fitorregulador (CHAGAS et al., 2005). Diversos autores ressaltam que, apesar do efeito benéfico do carvão ativado em adsorver componentes tóxicos e impurezas do meio, ele também age sobre os agentes úteis, como sacarose, sais e em alguns casos nos reguladores de crescimento, tornando-os inativos ou indisponíveis para o explante. Dessa forma, sugerem que concentrações entre 0,1% e 2,0% é a faixa segura de ação desejável deste componente (BOULAY, 1964; CHAGAS et al., 2005; GRATTAPAGLIA; MACHADO, 1998; RICCI et al., 2002).

Tabela 4- Médias de diâmetro (mm) de plântulas de barueiro (*Dipteryx alata* Vog.) sob três meios nutricionais de cultivo e quatro doses de carvão ativado durante a micropropagação. Uberlândia, MG, 2014.

Meio nutritivo	Carvão ativado (g L ⁻¹)			
	0	2	4	6
AA	3,53 B	4,68 A	4,15 A	3,82 B
MS	4,43 A	4,51 AB	4,27 A	4,64 A
WPM	4,10 AB	4,00 B	3,99 A	4,53 A
CV= 7,21%; DMS= 0,31				

Médias seguidas de mesma letra maiúscula, na coluna, não diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.; CV: coeficiente de variação; DMS: diferença mínima significativa.

Com o aumento das concentrações de carvão, houve acréscimo seguindo o modelo quadrático tanto para DIA quanto para a porcentagem de germinação (GER) (Figuras 2 e 3). Níveis acima de 3 g L⁻¹ de carvão ativado mostram-se prejudiciais ao incremento do diâmetro. Dada a eficiência do carvão ativado em adsorver compostos indesejáveis que ocasionalmente estão presentes no meio de cultivo, este passa a agir também nas substâncias desejáveis, as tornando indisponíveis para o explante o que induz um limite tolerável deste agente ao meio de cultivo. A dose ótima neste estudo foi próxima a 2,5 g L⁻¹, resultado que corrobora aos encontrados por Schneiders et al., (2012) e Chagas et al., (2005) que trabalharam com *Cattleya harrisoniana* e com diversas espécies de citros respectivamente, apontando que o suprimento adequado de carvão ativado é quesito fundamental para um satisfatório desenvolvimento de explantes *in vitro*.

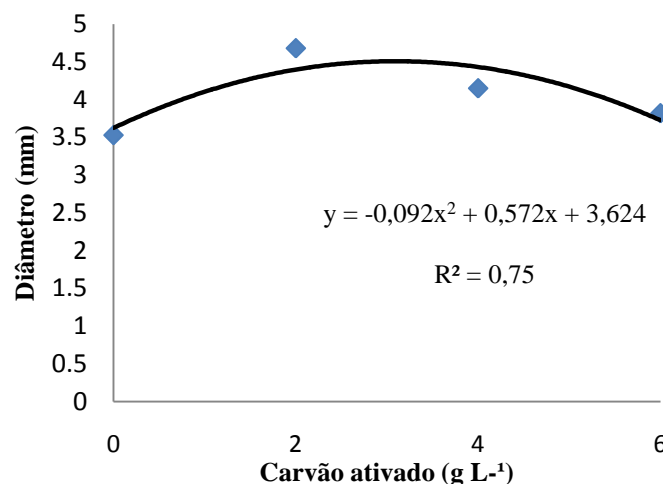


FIGURA 2- Diâmetro médio dos caules de plântulas de barueiro (*Dipteryx alata* Vog.) em diferentes concentrações de carvão ativado. Uberlândia, MG, 2014.

Na porcentagem de germinação foi observado comportamento semelhante da variável diâmetro, ou seja, atingiu-se uma dose máxima onde a taxa de germinação foi favorecida proporcionalmente. Até a concentração aproximada de 4,7 g L⁻¹ de carvão ativado essa taxa alcançou um valor máximo de 88%, doses maiores desse aditivo desfavoreceram esse processo biológico que começou a decrescer proporcionalmente (Figura 3). As respostas obtidas nesse trabalho confirmam a hipótese de que a adição de carvão ativado em meio de cultura pode promover ou inibir o crescimento *in vitro*, a depender da concentração utilizada (PAN; STADEN, 1998). Em *Hancornia speciosa* (LÉDO et al., 2007), por exemplo, a dose de carvão de 2 g L⁻¹ acrescida ao meio de cultura proporcionou 100% de germinação, implicando que a concentração deste aditivo exerce grande influencia em fase de estabelecimento.

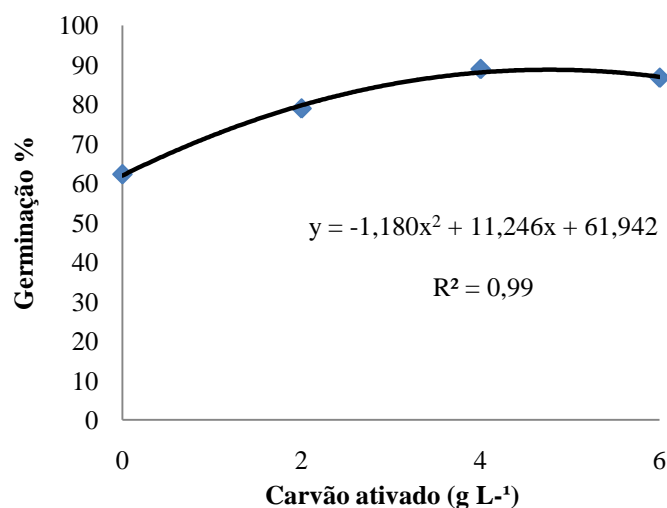


FIGURA 3- Taxa de germinação (GER) de sementes de barueiro (*Dipteryx alata* Vog.) em diferentes concentrações de carvão ativado. Uberlândia, MG, 2014.

A maior concentração de carvão ativado maximizou os ganhos de massa seca (MSC), comprimento da parte aérea (CPA) e comprimento da maior raiz (CR) (Figura 4). O carvão ativado é um dos compostos mais utilizados para induzir a rizogênese *in vitro*, por auxiliar na adsorção de substâncias tóxicas em excesso no meio de cultura, como fenóis e reguladores de crescimento. Além disso, proporciona redução na incidência de luz na zona de crescimento ativo do sistema radicular, o que estimula a formação de raízes (BONGA, 1985) e estimula o alongamento destas, que vão em busca de luz (NUNES et al., 2008). Esse princípio explica a ação linearmente positiva na expansão das raízes dos barueiros. Semelhante atividade do carvão ativado foi verificada no comprimento da haste e do sistema radicular de embriões do híbrido *Citrus limonia* Osb.x*Poncirus trifoliata* (L.) Raf., demonstrando a tendência de que, maiores dosagens de carvão ativado têm correlação positiva com o incremento dessas variáveis (RIBEIRO et al., 2000). Os dados deste trabalho ainda confirmam com os obtidos por Ledo et al., (2007) e Gomes et al., (2010) que obtiveram melhor desenvolvimento radicular para plantas de mangabeira (*Hancornia speciosa*) e em explantes de *Maclura tinctoria* respectivamente, quando cultivados *in vitro*.

É evidente que o carvão ativado mostra-se importante no desenvolvimento de estruturas vegetativas, pois quanto maior a dose, maior foi o incremento (Figura 4). Além disso, visualmente constatou-se que houve grande porcentagem de plântulas com

desenvolvimento anormal ou deficiente desses órgãos na ausência desse antioxidante. O retardo do desenvolvimento de explantes de espécies lenhosas devido à oxidação foi relatado também em cupuaçuzeiro (*Theobroma grandiflorum* Schum.) (LEDO et al., 2002). A importância do carvão ativado na micropropagação de espécies nativas ainda é reforçado a exemplo de trabalhos feitos com mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes) e o araticunzeiro do brejo (*Annona glabra* L.) (LÉDO et al., 2007; SANTANA et al., 2011), que também demonstram essa afirmação.

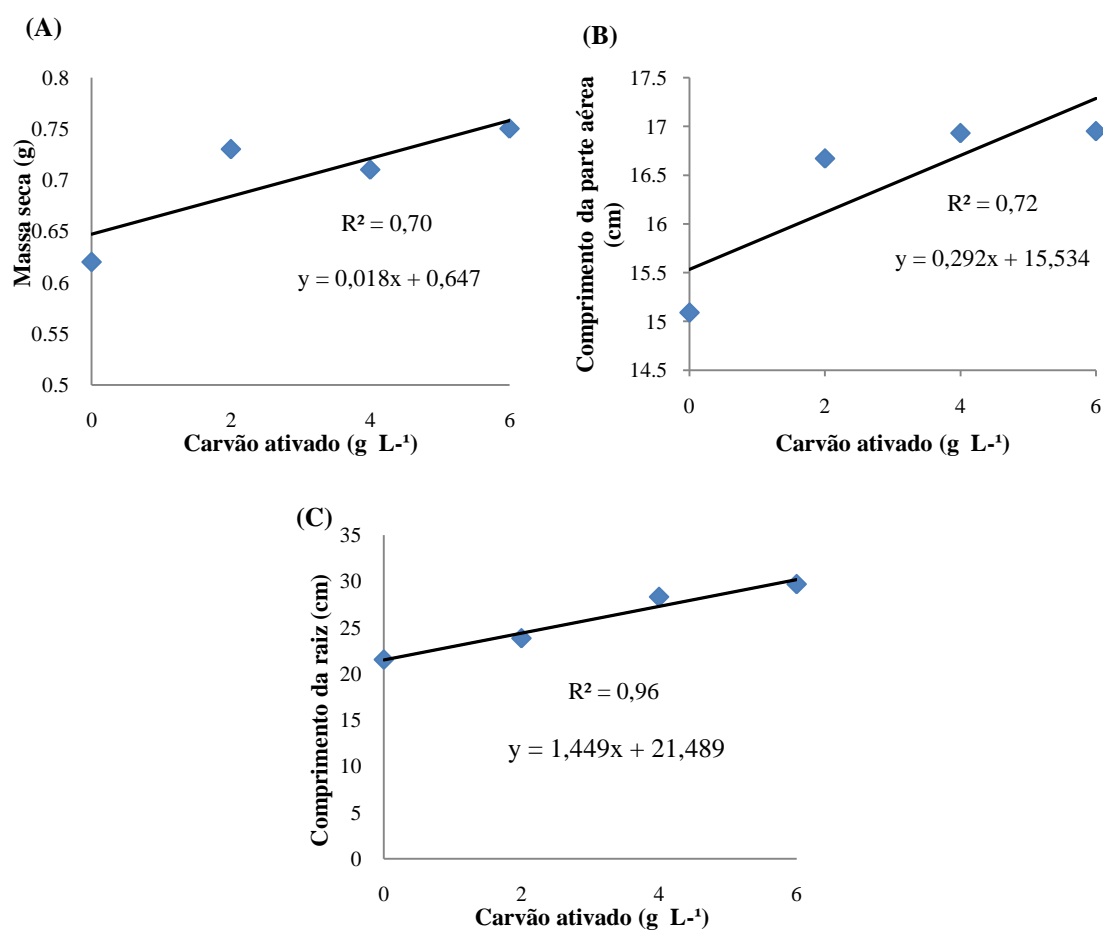


FIGURA 4- Massa seca (A), comprimento da parte aérea (B) e comprimento da raiz (C) de plântulas de barueiro (*Dipteryx alata* Vog.) em diferentes concentrações de carvão ativado. Uberlândia, MG, 2015.

É importante salientar que houve uma sincronia no desenvolvimento da parte aérea e do incremento da massa seca com o desenvolvimento do sistema radicular das plântulas em todos os tratamentos. Sendo assim, infere-se que carvão ativado proporcionando melhor desenvolvimento das raízes favoreceu indiretamente benefícios a outras partes das plântulas. De acordo com Peres e Kerbaui (2000), esse equilíbrio entre caule e raízes é vantajoso considerando que ambos possuem funções complementares na sobrevivência geral das plantas.

Nota-se que o meio MS favoreceu um desenvolvimento menor da maior raiz em comparação aos meios WPM e testemunha, que sobressaíram para essa variável (Tabela 5).

TABELA 5- Comprimento médio da maior raiz de plântulas de barueiro (*Dipteryx alata* Vog.) sob três meios nutricionais de cultivo *in vitro*. Uberlândia, MG, 2014.

Meio nutritivo	Comprimento da maior raiz
MS	21,04 B
WPM	29,55 A
AA	26,92 A

CV= 16,89%; DMS= 4,45

Médias seguidas de mesma letra maiúscula, na coluna, não diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade; CV: coeficiente de variação; DMS: diferença mínima significativa.

É importante frisar que o meio MS possui altas concentrações de sais nitrogenados em sua composição quando comparado aos outros meios de cultura. Sendo assim, o meio MS pleno mostra-se inadequado ao processo de rizogênese de *D. alata*. Este mesmo efeito negativo foi observado na regeneração de segmentos nodais de *A. othonianum* Rizz. (ASSIS, 2010). Esse pode ser um indício que espécies do Cerrado por estarem adaptadas a solos pobres, tendem a ter maior desenvolvimento em meios artificiais, que simulem de forma mais próximas às condições naturais em que estas estão inseridas. É importante ressaltar que durante o cultivo *in vitro*, as soluções de sais e açúcares que compõem os meios de cultura não exercem efeito puramente nutritivo, mas também influenciam o crescimento celular e na morfogênese por meio de

propriedades osmóticas (GEORGE, 1996; MALDANER et al., 2006). Conforme Taiz e Zeiger (2004), a pressão osmótica muito alta limita a absorção de água, sendo que a diluição aumenta a disponibilidade de água e reduz a oxigenação. A concentração absoluta de um meio nutritivo nem sempre é a mais adequada dependendo da espécie. No cultivo *in vitro* de jenipapeiro (*Genipa americana*) e cerejeira (*Amburana acreana*), por exemplo, a germinação foi desfavorecida quando se aumentou as concentrações de sais MS (ALMEIDA et al., 2013; FERMINO JÚNIOR; PEREIRA et al., 2012), assim como em ingazeiro (*Inga vera* Willd. subsp. *affinis*), onde foi verificado maior percentual de germinação em meio WPM/2 (STEIN et al., 2007). Portanto, o uso de diferentes composições de meio de cultura demonstra resposta específica.

Russowski e Nicoloso (2003), estudando o efeito da variação de N e P do meio MS no desenvolvimento de ginseng brasileiro (*Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen), constataram que o número de raízes e o percentual de enraizamento foi maior na concentração de N equivalente a 50% daquela do meio MS original. Com espécies lenhosas, o meio MS não se mostra satisfatório em alguns casos, e composições mais diluídas em macronutrientes apresentam melhor desempenho (GRATTAPAGLIA; MACHADO, 1998). Dessa forma o ajuste de concentração desses sais se faz importante para cada espécie, buscando a otimização de protocolos adequados para cada uma.

Para o índice Falker os teores de clorofila A, B e total foram maiores nos tratamentos supridos com meio MS, partindo da comparação com o meio WPM, que apresentou resultados inferiores para esta variável (Tabela 6). Esses resultados se assemelham aos encontrados com *Aspasia variegata*, em que os meios MS proporcionaram níveis mais altos de clorofilas nesta espécie (NETO et al., 2013).

O teor de clorofila correlaciona-se positivamente com o teor de N na planta e com o rendimento das culturas. Essa relação é atribuída, principalmente, ao fato de que 50 a 70% do N total das folhas fazem parte de enzimas que estão associadas aos cloroplastos (SINGH et al., 2010; REINBOTHE et al., 2010). O meio nutritivo WPM, por exemplo, apresenta 25% das concentrações dos íons nitrato e amônia do meio MS (PASQUAL, 2001), esse fato elucida os maiores índices de clorofilas em tratamentos nutridos com sais MS, que fornecendo mais nitrogênio, favorece maior síntese de clorofila. Os resultados desse trabalho vão de encontro com a afirmação de Silva et al. (2012) em que mencionam que o teor de clorofila tem correlação com a concentração de nitrogênio na planta e, também, com a produtividade das culturas. Partindo desse princípio, o uso do índice de clorofila vem sendo usado não só no auxílio de cultivo *in*

vitro como também no manejo de fruteiras já instaladas em campo, como citros e nogueira-pecã (SOUZA et al., 2011; HARDIN et al., 2012). Além disso, Neto et al. (2013) constataram que plântulas cultivadas *in vitro* que apresentam maiores teores de clorofilas apresentam maiores taxas de sobrevivência e melhor desenvolvimento na fase de aclimatização. Informação que ressalta a importância de se avaliar a concentração desta molécula desde a fase de estabelecimento de uma espécie, auxiliando na escolha do melhor protocolo a ser seguido e consolidado.

TABELA 6- Teores médios de clorofila A, B e Total de plântulas de barueiro (*Dipteryx alata* Vog.) sob três meios nutricionais de cultivo e quatro doses de carvão ativado durante a micropropagação. Uberlândia, MG, 2014.

Meio nutritivo	Clorofila A	Clorofila B	Clorofila Total
AA	44,86 A	22,02 AB	66,86 AB
MS	44,95 A	24,52 A	69,48 A
WPM	42,46 B	18,57 B	61,04 B

CV= 14,28%; DMS= 11,52

Médias seguidas de mesma letra maiúscula, na coluna, não diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade; CV: coeficiente de variação; DMS: diferença mínima significativa.

4. CONCLUSÕES

O meio nutritivo que melhor supriu às exigências do barueiro foi o MS, sendo este o mais adequado para o estabelecimento *in vitro* da espécie estudada.

A adição de carvão ativado mostrou-se essencial para o cultivo *in vitro* do barueiro, sendo 3 g L⁻¹ a concentração recomendada para o estabelecimento *in vitro* dessa fruteira.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, C. S.; LÉDO, A. S.; ARAÚJO, A. G.; SILVA, A. V.; SILVA JÚNIOR, J. S.; SANTOS, J. E.; RIBEIRO, M. M. J.; VILANOVA NETA, J. L. Efeito do meio de cultura na germinação *in vitro* do jenipapeiro. **Scientia Plena**, Aracaju, v. 9, n. 10, 2013.
- ALMEIDA, S. P.; PROENÇA, C. E. B.; SANO, S. M.; RIBEIRO, J. F. **Cerrado: espécies vegetais úteis**. Planaltina: Embrapa - CPAC, p. 464, 1998.
- ANDRADE, M. W.; LUZ, J. M. Q.; LACERDA, A. S. Micropropagação da aroeira (*Myracrodruon urundeuva* Fr. All.). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.24, n.1, p.174-180, 2000.
- ARDITTI, J.; ERNST, R. **Micropropagation of orchids**. New York: John Wiley 1992. 682p.
- ASSIS, K. C. **Propagação *in vitro* de *Anacardium othonianum* Rizz., uma espécie frutífera e medicinal do Cerrado**. Dissertação- Jataí, GO: UFG, 2010. 89p.
- BARBOZA, S. B. S. C.; CALDAS, L. S. Estiolamento e regeneração na multiplicação *in vitro* do abacaxizeiro híbrido PExSC – 52. Revista **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.36, n.3, p.417-423, 2001.
- BLUMENSCHIEIN, A; CALDAS, R. A. **Projeto de domesticação de plantas do Cerrado e sua incorporação a sistemas produtivos regionais**. Goiânia: UFG, 1995. 91p.
- BONGA, J. M. Tissue culture techniques. In: BONGA, J. M.; DURZAN, D.J. **Tissue culture in forestry**. Dordrecht: Martinus Nijhoff, 1985. p.4-35.
- BOULAY, M. Aspects pratiques de la multiplication *in vitro* de essences forestiers. **Annales de Recherches Sylvicoles AFOCEL**, Nangis, p. 7-43, 1964.
- CALDAS, L. S.; HARIDASAN, P.; FERREIRA, M. E. Meios nutritivos. In: TORRES, A. C., CALDAS, L. S. **Técnicas e aplicações da cultura de tecidos de plantas**. Brasília: ABCTP, EMBRAPA-CNPq, 1990. p. 37-70.
- CHAGAS, E. A.; PASQUAL, M.; RAMOS, J. D.; PIO, L. A. S.; DUTRA, L. F.; CAZETTA, J. O. Cultivo de embriões imaturos de citros em diferentes concentrações de carvão ativado e ácido giberélico. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.29, p.1125-1131, 2005.

DONALDSON in MARTINELLI G., MORAES, M. A. **Livro vermelho da flora do Brasil** - 1. ed. - Rio de Janeiro : Andrea Jakobsson: Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2013. 1100 p.

DISARZ, R.; CORDER, M. P. M. Multiplicação de gemas axilares de *Acacia mearnsii* De Wild. sob diferentes meios de cultura. **Revista Árvore**, Viçosa, v.33, n.4, p.599-606, 2009.

FERMINO JUNIOR, P. C. P.; PEREIRA, J. E. S. Germinação e propagação *in vitro* de cerejeira (*Amburana acreana* (Ducke) A.C. Smith - Fabaceae). **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 22, n. 1, p. 1-9, jan.-mar., 2012.

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.

GEORGE, P. S.; RAVISHANKAR, G. A. In vitro multiplication of *Vanilla planifolia* using axillary bud explants. **Plant Cell Reports**, Berlin. v. 16, n. 6, p. 490-495, 1997.

GEORGE, E. F. **Plant propagation by tissue culture**. Part 1 - the technology. 2. ed. Edington Limited, 1993. 574 p.

GEORGE, E. F. **Plant propagation by tissue culture**. Edington: Exegetics, 574p. 1996.

GOMES, G. A. C.; PAIVA, R.; HERRERA, R.C.; PAIVA, P.D. O. Micropropagation of *Maclura tinctoria* L.: an endangered wood species. **Revista Árvore**, Viçosa. v.34, p.25-30, 2010.

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. (Ed.). **Cultura de tecidos e transformações genéticas de plantas**. Brasília: Embrapa- SPI; Embrapa- CNPH. 1998 v. 1. p.183-260.

HARDIN, J. A.; SMITH, M. W.; WECKLER, P. R.; CHEARY, B. S. In Situ Measurement of Pecan Leaf Nitrogen Concentration using a Chlorophyll Meter and Vis-near Infrared Multispectral Camera. **Hortscience**, Alexandria, v.47, n.7, p.955-960, 2012.

KERBAUY, G. B. **Fisiologia vegetal**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. 452p.

LÉDO, A. S.; LAMEIRA, O. A.; BENBADIS, A. K. Explantes de cupuaçuzeiro submetidos a diferentes condições de cultivo *in vitro*. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal - SP, v. 24, n. 3, p. 604-607, Dezembro 2002.

- LÉDO, A. S.; SECA, G. S. V.; BARBOZA, S. B. S. C.; SILVA JÚNIOR, J. B. Crescimento inicial de mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes) em diferentes meios de cultivo *in vitro*. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.5, n.4, p.989-993, 2007.
- LLOYD, G.; McCOWN, B. Commercially feasible micropropagation of montain laurel, *Kalmia latifolia*, by use of shoot tip culture. **Com. Proc. Int. Plant Prop. Soc.**, Bellefonte, v.30, p.421-327, 1981.
- MALDANER, J.; NICOLOSO, F. T.; SANTOS, E. S.; FLORES, R.; SKREBSKY, E. C. Sacarose e nitrogênio na multiplicação *in vitro* de *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 36, n. 4, p. 1201-1206, jul./ago. 2006.
- MOURA, L. C.; TITON, M.; FERNANDES, J. S. C.; SANTANA, R. C.; OLIVEIRA, M. L. R. Micropropagação de sucupira-preta por meio de gemas axilares. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. Brasília, v.47, n.12, p.1691-1698, dez. 2012.
- MURASHIGE, T., SKOOG, F. Manipulation of organ initiation in plant tissue cultures. **Bot. Bull. Academia Sinica**, Shangai, v. 18, p.1-24, 1962.
- NASCIMENTO, A. C.; PAIVA, R.; NOGUEIRA, R. C.; PORTO, J. M. P.; NOGUEIRA, G. F.; SOARES, F. P. BAP e AIB no Cultivo *in vitro* de *Eugenia pyrifolia* Cambess. Rev. Acad., **Ciências Agrárias e Ambientais**, Curitiba, v. 6, n. 2, p. 223-228, abr./jun. 2008.
- NEPUMUCENO, C. F.; RIOS, A. P. S.; QUEIROZ, S. R. O. D.; PELACANI, C. R.; SANTANA, J. R. Respostas morfofisiológicas *in vitro* de plântulas de *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan var. *cebil* (Griseb) Altschul. **Revista Árvore**, Viçosa-MG, v.33, n.3, p.481-490, 2009.
- NETO, V. B. P.; CAMPOS, G. O.; BOARETTO, A. G.; ZUFFO, M. C. R.; TORREZAN, M. A.; BENETÃO, J. Comportamento *in vitro* de *Aspasia variegata*, uma orquídea epífi ta do cerrado brasileiro. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.43, n.12, p.2178-2184, dez, 2013.
- NUNES C. F.; DALILHIA, M. P.; SANTOS, N.; CUSTÓDIO, T. N.; ARAÚJO, A. G. Diferentes suplementos no cultivo *in vitro* de embriões de pinhão-manso. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 43, p. 9-14, 2008.
- PAN, M. J.; STADEN, J. V. The use of charcoal *in vitro* culture-A review. **Plant Growth Regulation**, Berlin, v.26, n. 3, p. 155-163, jun./aug. 1998.
- PASQUAL, M. **Textos acadêmicos**: meios de cultura. Lavras: FAEPE/UFLA, 2001, 127 p.

PEREIRA, B. A. S. Flora nativa. In: DIAS, B. F. S. **Alternativas de desenvolvimento dos cerrados: manejo e conservação dos recursos naturais renováveis**. Brasília: FUNARPA - IBAMA, 1992. p. 53-62.

PERES, L. E. P.; KERBAUY, G. B. Controle hormonal do desenvolvimento de raízes. **Revista Universa**, Brasília, v. 8, n. 1, p. 181-196, mar. 2000.

PINHAL, H. F. **Estabelecimento *in vitro* de barueiro (*Dipteryx alaata* Vog.)**. 54 f. Dissertação de mestrado (Mestrado em Agronomia). Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2011.

REINBOTHE, C.; BAKKOURI, M.; BUHR, F.; MURAKI, N.; NOMATA, J.; KURISU, G.; FUJITA, Y. E REINBOTHE, S. Chlorophyll biosynthesis: spotlight on protochlorophyllide reduction. **Trends in Plant Science**, Oxford, v.15, n.11, p.614-624, 2010.

RICCI, A. P., MOURÃO FILHO, F. D. A. A., MENDES, B. M. J.; PIEDADE, S. M. D. S. Somatic embryogenesis in *Citrus sinensis*, *C. reticulata* and *C. nobilis* x *C. deliciosa*. **Scientia Agricola**, São Paulo, v. 59, p. 41-46, 2002.

RIBEIRO, V. G.; SANÁBIO, D.; SOUZA, C. N.; LOPES, P. S. N.; BOCARDO, M. R.; PASQUAL, M. Efeitos de ácido giberélico e carvão ativado no cultivo *in vitro* de *Citrus limonia* Osbeck x *Poncirus trifoliata* (L.) Raf. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.35, n.1, p.27-30, jan. 2000.

ROCHA, J. P. **Fatores genéticos e ambientais na emergência de plântulas de pequi (Caryocar brasiliense camb.)**. 34 f. Dissertação – Diamantina: Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, 2009.

RUSSOWSKI, D.; NICOLOSO, F. T. Nitrogênio e fósforo no crescimento de plantas de Ginseng Brasileiro [*Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen] cultivadas *in vitro*. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 33, n. 1, p. 57-63, 2003.

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-SEREJO, J.; JUNGHANS, T. G.; SOARES, T. L.; SILVA, K. M. Meios Nutritivos para Micropropagação de Plantas, 2006 In: SOUZA, A. S., JUNGHANS, T. G. **Introdução à Micropropagação de Plantas**. Embrapa mandioca e fruticultura tropical, 1. Ed. Cruz das Almas-BA., c.4,122p.

SATO, A. Y.; DIAS, H. C. T.; ANDRADE, L. A. et al. Micropropagação de *Celtis* sp.: controle da contaminação e oxidação. **Cerne**, Lavras, v.7, n.2, p.117-123, 2001.

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, M.; MANNIGEL, A. R.; MUNIZ, A. S.; PORTO, S. M. A.; MARCHETTI, M. E.; NOLLA, A.; BERTANI, R. M. A. Ammonium sulphate on maize crops under no tillage. **Bragantia**, Campinas, v.71, n.1, p. 90-97, 2012.

SILVÉRIO, M. D. O.; CASTRO, C. F. S.; MIRANDA, A. R. Avaliação da atividade antioxidante e inibitória da tirosinase das folhas de *Dipteryx alata* Vogel (Baru). **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, Botucatu, v.15, n.1, p.59-65, 2013.

SINGH, V.; SINGH, B.; SINGH, Y.; THIND, H. S.; GUPTA, R. K. Need based nitrogen management using the chlorophyll meter and leaf colour chart in rice and wheat in South Asia: a review. **Nutrient Cycling Agroecosyst**, Dordrecht, v.88, p.361-380, 2010.

SOUZA, T. R.; SALOMÃO, L. C.; ANDRADE, T. F.; BÔAS, R. L. V.; QUAGGIO, J. A. Medida indireta da clorofila e sua relação com o manejo da adubação nitrogenada em plantas cítricas fertirrigadas. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 33, n. 3, p. 993-1003, 2011.

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, 2007.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal** 3- ed. Porto Alegre: Artmed, 2004.

THORPE, T. A.; HARRY, I. S.; KUMAR, P. P. Application of micropropagation to forestry. In: DEBERGH, P. C.; ZIMMERMAN, R. H. **Micropropagation**: technology and application. Dordrecht: Kluwer Academic Press, 1991. p. 311-336.

VAN WINKLE, S.; JOHNSON, S.; PULLMAN, G. S. The impact of gelrite and activated carbon on the elemental composition of plant tissue culture media. **Plant Cell Report**, New York, v.21, p.1175-1182, 2003.

CAPÍTULO 3

SUPLEMENTOS ALTERNATIVOS E CONCENTRAÇÕES DE MEIO MS NO ESTABELECIMENTO *IN VITRO* DE *Dipteryx alata* Vog

RESUMO

SILVA, HERICK FERNANDO DE JESUS. **Suplementos alternativos e concentrações de meio MS no estabelecimento *in vitro* de *Dipteryx alata* Vog.** 2015. 64 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Fitotecnia) Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, MG.¹

O barueiro (*Dipteryx alata* Vog.) é uma espécie arbórea da família Fabaceae de ocorrência natural no Cerrado. Seus frutos podem ser utilizados na alimentação humana e as sementes, consumidas de diversas maneiras. Porém, esta espécie encontra-se sob risco de extinção e dificuldade de obtenção de mudas selecionadas e grande desuniformidade de produção. Dessa forma, a cultura de tecidos vegetais pode trazer grande aplicabilidade na propagação e conservação dessa fruteira. Entre os extratos naturais utilizados nessa técnica está a polpa de banana homogeneizada e água de coco. O objetivo deste trabalho foi avaliar concentrações do meio MS (25, 50, 75 e 100%) suplementados com água de coco (100 mL L⁻¹), polpa de banana nanica (60 g L⁻¹) ou ausência de suplemento no estabelecimento *in vitro* de sementes de barueiro. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado (DIC) em esquema fatorial 3x4 (três meios de cultivo e quatro doses de sais MS) com três repetições. Foram avaliadas as características: taxa de germinação (GER), comprimento da parte aérea (CPA) e da maior raiz (CR), diâmetro do caule (DIA), número de folhas (NF), teores de clorofila A (CA), B (CB) e total (CT), massa fresca (MF) e massa seca (MSC) das plântulas. Para os referidos dados aplicou-se teste de Tukey a 5% de significância e para os fatores quantitativos foi feita análise de regressão. Quanto às respostas obtidas concluiu-se que o meio MS sem suplemento a 25% mostra-se mais viável para o estabelecimento *in vitro* de plântulas de barueiro.

Palavras-chave: meio de cultura, fruteira do Cerrado, água de coco, polpa de banana.

¹Orientador: Berildo de Melo- UFU

ABSTRACT

SILVA, HERICK FERNANDO DE JESUS. **Alternative supplements and MS medium concentrations *in vitro* establishment of *Dipteryx alata* Vog.** 2015 64 p. Dissertation (Master in Agronomy / Plant) Federal University of Uberlândia, MG.¹

The barueiro (*Dipteryx alata* Vog.) is a tree species of naturally occurring Fabaceae family in Savannah. Its fruits can be used as food and seeds, consumed in different ways. However, this species is at risk of extinction and difficulty of obtaining selected seedlings and great variability production. Thus, the plant tissue culture can bring great applicability in the propagation and preservation of the fruit bowl. Among the natural extracts used in this technique is homogenized banana pulp and coconut water. The objective of this study was to evaluate concentrations of the MS (25, 50, 75 and 100%) supplemented with coconut water (100 ml L⁻¹), dwarf banana pulp (60 g L⁻¹) or no supplement in the establishment *in vitro* barueiro seeds. The experimental design was completely randomized (DIC) in a 3x4 factorial design (three means of cultivation and four doses of MS salts) with three replications. The characteristics evaluated were: germination rate (GER), shoot length (CPA) and the main root (CR), stem diameter (DIA), number of leaves (NF), chlorophyll content (CA), B (CB) and total (CT), fresh (MF) and dry matter (MSC) of the seedlings. For these data applied Tukey test at 5% significance and quantitative factors was taken regression analysis. As the responses obtained it was concluded that free medium supplement with 25% seems to be more feasible to establish *in vitro* barueiro seedlings.

Keywords: growing medium, the Cerrado fruit tree, coconut water, banana pulp.

¹Major: Berildo de Melo – UFU.

1. INTRODUÇÃO

Dentre os biomas brasileiros, o Cerrado assume grande valor, abrangendo uma área de aproximadamente 204 milhões de hectares, o que corresponde a 22% do território nacional, abriga a segunda maior biodiversidade do planeta e constitui a maior fronteira agrícola do país (JUNQUEIRA et al., 2012).

No Cerrado, existe uma infinidade de fruteiras nativas de importância fundamental para a manutenção da vida silvestre e silvícola desse bioma. De acordo com Silva et al., (2001) existem 58 espécies frutíferas com potencial econômico, mas acredita-se que esse número chegue a 100 espécies com esse valor agregado.

O barueiro (*Dipteryx alata* Volg.) é umas das fruteiras típicas do Cerrado, sendo conhecida como fixadora de nitrogênio no solo, ocorrendo em áreas mais férteis (BOTEZELLI, 2006). Apresenta ampla utilidade desde paisagismo, madeira para construção civil, na culinária regional e medicina alternativa (FERREIRA, 1998). É uma das poucas espécies que apresentam frutos com polpa carnosa durante a estação seca no Bioma Cerrado, sendo importante para alimentação da fauna nessa época do ano (SANO et al., 2004).

De acordo com Donaldson et al. (2013) verifica-se que o barueiro encontra-se em risco de extinção projetado. Vários são os fatores atribuíveis a esse fato, como exploração irracional da espécie, desmatamento de matas nativas, avanço da monocultura, urbanização, etc. De acordo com Junqueira et al. (2012) o extrativismo tem se apoderado da maior parte dos frutos com características superiores afim de atender as exigências dos consumidores, fato quem tem contribuído para uma forte erosão genética e perpetuação natural de material inferior. Baseado nessa problemática se faz importante dominar técnicas que viabilizem a propagação desta espécie, garantindo subsídio para a produção de mudas em larga escala, conservação de germoplasma e melhoramento genético.

Desta forma, a cultura de tecidos vegetais torna-se uma técnica auxiliar de grande valia para a micropropagação e outras aplicações nestas espécies.

Diversas formulações de meios básicos têm sido utilizadas no cultivo *in vitro* (NOGUEIRA et al., 2004). Nesse sentido, não existe formulação padrão, mas o meio

MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962), com suas modificações e diluições, tem sido utilizado com sucesso para diversas espécies. Para espécies lenhosas, entretanto, o meio MS não se mostra satisfatório em alguns casos, e composições mais diluídas em macronutrientes apresentam melhor desempenho (GRATTAPAGLIA; MACHADO, 1998). A redução dos sais promoveu melhor crescimento de tecidos em *Inga vera* (STEIN et al., 2007), *Byrsonima intermédia* (NOGUEIRA et al., 2004) e *Genipa americana* (ALMEIDA et al., 2013), reforçando a importância de que ajustes das concentrações destes solutos é importante antes de se estabelecer um protocolo.

Para redução dos custos, estudos com suplementos orgânicos (água de coco, banana, mamão, milho) adicionados aos meios de cultura convencionais foram realizados (MARTÍNEZ; GARCÍA, 2007; ARAÚJO et al., 2006b; VIEIRA et al., 2009; CAMPOS, 2010). Esses suplementos são também fontes de aminoácidos, vitaminas, sais minerais e reguladores de crescimento, que são os componentes mais onerosos dos meios de cultura, segundo Araújo et al. (2006a).

A água de coco contém sais minerais, mio-inositol e citocinina(s), bem como nucleotídeos e outros compostos orgânicos. A concentração de água de coco utilizada na composição dos meios de cultura é de 3 a 15% para um grande número de espécies vegetais cultivadas *in vitro*. Ela é utilizada para estimular o crescimento de calos, aumentar a germinação assimbiótica, formar embriões somáticos, induzir a divisão de grãos de pólen e o desenvolvimento de embriões imaturos (CALDAS et al., 1998). Vários trabalhos citam sua utilização no cultivo *in vitro* de espécies perenes, como os de Ferreira et al., (2004) sobre o cupuaçu, e Latado et al. (1999) sobre citros.

Su et al. (2012) relatam que a polpa de banana é um componente natural que vem sendo muito utilizado no cultivo *in vitro* de orquídeas por ser fonte de potássio e estimulador de enraizamento. George et al., (2008) indicam que a polpa de banana que pode suplementar o teor de vitaminas, aminoácidos e reguladores de crescimento. Como informação complementar, Torres et al., (2001) mencionam que essa substância pode surtir diferentes efeitos no cultivo *in vitro*, como espessamento e/ou crescimento das raízes a depender da cultivar e da quantidade de polpa utilizada. Informações referentes ao uso desse suplemento no cultivo de plantas lenhosas ainda são incipientes na literatura, carecendo assim de aplicações e pesquisas dessas substâncias na nutrição dessas espécies.

A preocupação com a conservação de recursos genéticos de barueiros que hoje está potencialmente ameaçado de extinção levanta a necessidade de aprimorar

protocolos de micropropagação voltados à espécie. Dessa forma, o objetivo desse trabalho foi estudar o efeito de diferentes concentrações de sais MS e de suplementos alternativos (água de coco e polpa de banana) no cultivo *in vitro* de *D. alata*.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi conduzido no Laboratório de Biotecnologia do Instituto de Ciências Agrárias (ICIAG) da Universidade Federal de Uberlândia. Os frutos dos barueiros (*Dipteryx alata* Vog.) foram coletados de árvores situadas na zona rural do município de Uberlândia, MG.

Foram recolhidos apenas os frutos caídos ao chão, que encontravam-se em estágio de maturação completa. Estes frutos foram coletados durante o mês de outubro de 2013 e armazenados em local seco, a temperatura ambiente, protegidos da luz solar.

No mês de abril de 2014 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. Antecedendo a inoculação, as sementes passaram por um processo de assepsia que consistiu em lavagem com detergente líquido em água corrente por cinco minutos, imersão em álcool 70% v/v por dois minutos e posteriormente submetidas a uma solução de hipoclorito de sódio 2% v/v sob agitação por um período de 30 minutos. Após o término desse processo, as sementes passaram por uma tríplice lavagem em água destilada e autoclavada, sendo inoculadas em câmara de fluxo laminar.

Os tratamentos consistiram de quatro concentrações de meio MS (25, 50, 75 e 100%) e três formas de suplementação: com água de coco (100 mL L⁻¹), polpa de banana nanica (*Musa spp*) (60 g L⁻¹) e ausência de suplemento (Tabela 1). O experimento foi constituído em esquema fatorial 3x4 (12 tratamentos) e três repetições, totalizando 36 parcelas, sendo que cada uma foi composta por 10 frascos com uma semente em cada. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado.

TABELA 1- Tratamentos utilizados para o estabelecimento *in vitro* de barueiros (*Dypterix alata* Vog.)

Tratamentos	Concentração MS (%)	Suplemento
T1	25	Ausente
T2	50	Ausente
T3	75	Ausente
T4	100	Ausente
T5	25	Polpa de banana ¹
T6	50	Polpa de banana ¹
T7	75	Polpa de banana ¹
T8	100	Polpa de banana ¹
T9	25	Água de coco ²
T10	50	Água de coco ²
T11	75	Água de coco ²
T12	100	Água de coco ²

¹Polpa de banana: 60 g L⁻¹; ²Água de coco: 100 mL L⁻¹

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

Os explantes foram inoculados em frascos com capacidade para 150 mL. Foram colocados nos frascos 40 mL de meio MS (MURASHIGE e SKOOG, 1962) em suas diferentes concentrações suplementados com polpa de banana (60 g L⁻¹), água de coco (100 ml L⁻¹) e sem suplementação. Todos os meios foram acrescidos de 6,5 g L⁻¹ de ágar e o pH ajustado para 5,7. Os frascos contendo os meios foram vedados com tampas plásticas e em seguida autoclavados a uma temperatura de 121°C durante 20 minutos um dia antes da inoculação.

Após a inoculação das sementes, os frascos foram acondicionados em sala de crescimento, mantida em temperatura de 25 °C ± 1°C e com fotoperíodo de 16

horas/dia, fornecida por lâmpadas fluorescentes brancas frias que proporcionavam uma intensidade luminosa de $25 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

O desenvolvimento das plântulas foi acompanhado por um período de dois meses sendo que ao final foram avaliadas as seguintes características: taxa de germinação (sendo consideradas germinadas as sementes que possuísem a parte aérea ou a radícula visível e desenvolvida) (GER); comprimento da parte aérea (CPA) e da maior raiz (CR), massa seca (MSC) e massa fresca (MF), diâmetro do caule (DIA), número de folhas (NF), teores de clorofila A (CA), B (CB) e total (CT).

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância através do programa computacional Sistema para Análise de Variância (SISVAR) (FERREIRA, 2000). Quando o valor de “F” foi significativo, as médias qualitativas foram comparadas por meio do teste de Tukey e para as doses de MS aplicou-se análise de regressão polinomial, ao nível de 5% de probabilidade de erro. Foram testadas a normalidade dos resíduos e a homogeneidade das variâncias, com os testes de Shapiro-Wilk ($\alpha = 0,01$) e Levene ($\alpha = 0,01$), através do programa computacional SPSS.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não foi observado efeito significativo das concentrações de sais MS e dos suplementos sobre a massa seca (MSC), taxa de germinação (GER) e clorofila A (CA), B (CB) e total (CT). Para as demais características houve efeito significativo dos fatores isolados, exceto pra massa fresca (MF) e comprimento da maior raiz (CR) em que a interação concentrações de sais MS e suplementos, foi significativa (Tabela 2).

TABELA 2- Resumo da análise de variância das características massa seca (MSC), massa fresca (MF), comprimento da parte aérea (CPA), comprimento da maior raiz (CR), diâmetro do caule (DIA), número de folhas (NF), % de germinação (GER), índice de clorofila A (CA), B (CB) e Total (CT), de

FV	GL	MSC	MF	CPA	CR	DIA	NF	GER	CA	CB	CT
Doses(D)	3	0,32 ^{ns}	1,20 ^{ns}	3,04*	17,65*	0,82 ^{ns}	0,42 ^{ns}	1,41 ^{ns}	1,12 ^{ns}	1,14 ^{ns}	1,28 ^{ns}
Suplemento(S)	2	0,57 ^{ns}	2,16 ^{ns}	3,75*	22,71*	4,92*	11,13*	1,58 ^{ns}	1,27 ^{ns}	1,09 ^{ns}	1,46 ^{ns}
D x S	6	1,96 ^{ns}	2,56*	2,05 ^{ns}	4,82*	0,51 ^{ns}	2,14 ^{ns}	1,96 ^{ns}	0,36 ^{ns}	0,84 ^{ns}	0,69 ^{ns}
CV (%)		10,51	10,67	7,05	13,09	8,37	14,84	19,92	10,48	42,66	19,13
Média geral		0,70	2,98	15,51	23,98	4,22	23,92	14,22	42,23	22,25	64,49

plântulas de barueiro (*Dipteryx alata* Vog.) cultivadas em quatro concentrações de meio MS suplementados com água de coco, polpa de banana ou sem suplementação. Uberlândia, MG, 2014.

*Significativo a 5% de probabilidade pelo teste F, ^{ns} não significativo pelo teste F.

A massa fresca não sofreu forte influência dos suplementos testados, isso porque só veio a diferir entre o meio MS puro e adicionado de polpa de banana na concentração de 75% (Tabela 3), demonstrando que esse suplemento não favorece o incremento de biomassa das plântulas. Embora tenha ocorrido significância de interação dos fatores para a massa fresca, as regressões das doses salinas aditivadas (água de coco e polpa de banana) não foram significativas, sendo assim desprezadas. A regressão obtida faz menção aos tratamentos desprovidos de suplementos. É possível notar que o meio MS com concentrações maiores que 70% mostram-se prejudiciais à incorporação de massa fresca de *D. alata* (Figura 1). Derivando a equação dessa regressão obtém-se que o incremento máximo proporcionado foi de 3,40 g de biomassa a uma concentração de 71% dos sais. A concentração original salina de MS foi inadequada também no cultivo *in vitro* de *Syngonanthus elegantulus* (PÊGO et al., 2013). Além de ter influenciado no

menor incremento da massa fresca, as plântulas cultivadas em meio MS pleno obtiveram menores resultados para o número de folhas e altura, além de apresentarem sintomas de fitotoxidez nas folhas. Assim como esta espécie herbácea estudada, o barueiro está adaptado a solos de baixa fertilidade, fato que pode explicar o seu melhor desempenho a meios artificiais com menor carga de nutrientes.

TABELA 3. Massa fresca (g) média de plântulas de barueiro (*Dipteryx alata* Vog.) cultivadas em quatro concentrações de meio MS puro ou suplementado com água de coco polpa de banana. Uberlândia, MG, 2014.

Tratamento	Concentração de sais MS (%)			
	25	50	75	100
MS puro	2,87 A	3,03 A	3,63 A	3,04 A
Água de coco	3,01 A	3,03 A	3,15 AB	2,55 A
Polpa de banana	3,05 A	2,89 A	2,64 B	2,97 A

CV= 10,67%; DMS= 0,65

Médias seguidas de mesma letra maiúscula, na coluna, não diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.; CV: coeficiente de variação; DMS: diferença mínima significativa.

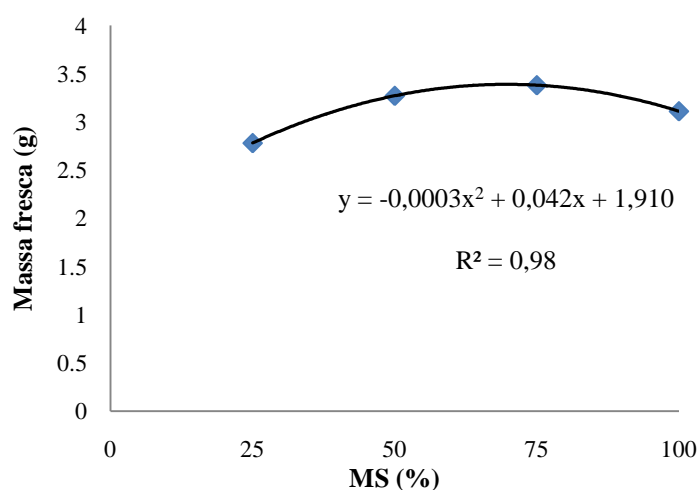


FIGURA 1- Massa fresca de plântulas de barueiro (*Dipteryx alata* Vog.) cultivadas em diferentes concentrações de meio MS. Uberlândia, MG, 2014.

Para o desenvolvimento da parte aérea o uso de polpa de banana apresenta-se desfavorável, pois proporcionou respostas inferiores ao tratamento sem suplemento (Figura 2A). O tratamento adicionado de água de coco não diferiu dos demais. Embora esse endosperma líquido tenha oferecido resultados positivos nessa estrutura vegetativa, o seu uso parece não ser vantajoso, já que na sua ausência o êxito da planta é o mesmo. Quanto à adição de polpa de banana, os resultados aqui encontrados discordam aos obtidos por Pasqual et al., (2009) que, trabalhando com orquídea, obtiveram resultados positivos no desenvolvimento *in vitro* das plântulas com a suplementação desse produto. A quantidade de raízes formadas *in vitro* possibilita maior superfície de contato raiz/planta, favorecendo maior absorção de nutrientes, o que neste caso é possível pelo vigoroso sistema radicular que o barueiro desenvolve, permitindo maior captação de recursos nutricionais.

A regressão do comprimento da parte aérea aponta que maiores concentrações salinas de MS, superiores a 25%, atuam negativamente no incremento desta variável (Figura 2B). Resposta semelhante também foi encontrada em trabalhos conduzidos no cultivo *in vitro* de jenipapeiro (ALMEIDA et al., 2013), mangabeira (LÉDO et al., 2007) e videira (DZAZIO et al., 2002), em que a concentração de sais MS reduzida a metade, foi a que proporcionou melhor desempenho da parte aérea das plântulas. No entanto, esses dados confrontam aos obtidos para *Stanhopea tigrina* (MARTÍNEZ; GARCÍA, 2007), onde o melhor desempenho da parte aérea das plantas foi favorecido quando estas foram cultivadas em meio MS pleno acrescido de 120 mL L⁻¹ de água de coco e 100 g L⁻¹ de polpa de banana, concentrações de suplementos superiores às utilizadas nesse trabalho. Já em *Cattleya loddigesii* (PASQUAL et al., 2009), 200 g L⁻¹ de polpa de banana favoreceu melhor vigor no desenvolvimento das plântulas. As diferenças entre esses dados e de outros experimentos podem ser decorrentes da especificação dos meios de cultura para cada espécie, uma vez que diferentes combinações de carboidratos, sais minerais, vitaminas e reguladores de crescimento estimulam, ou não, o crescimento de órgãos, tecidos ou células e o desenvolvimento da planta (GEORGE et al., 2008), fato notoriamente observado no comportamento da espécie foco deste trabalho.

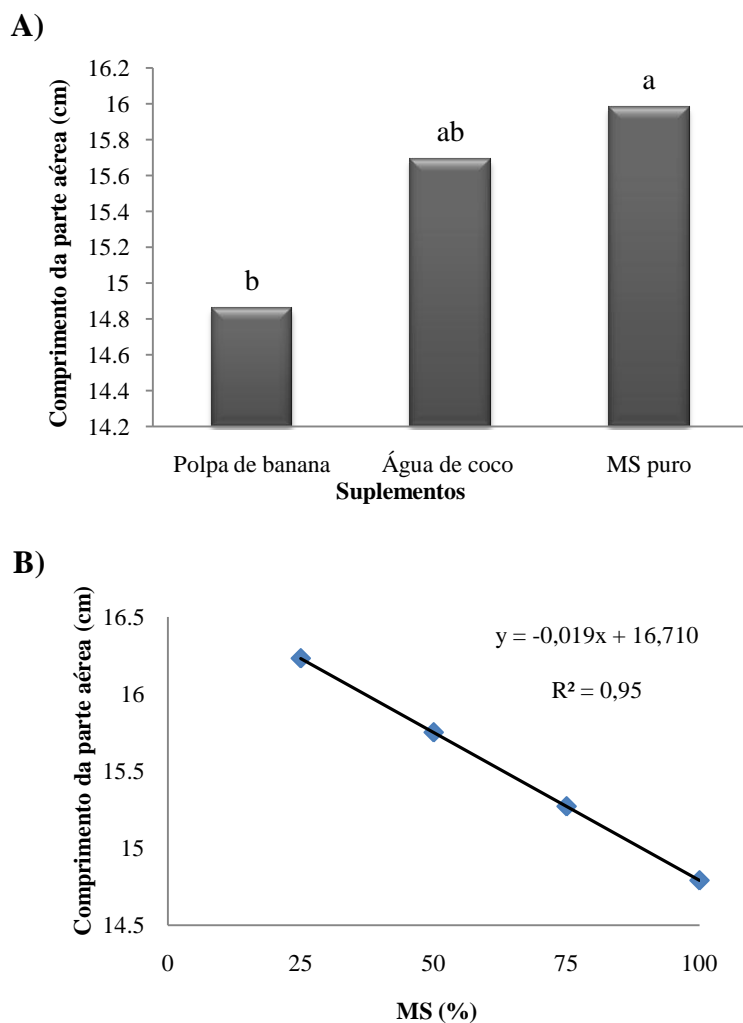


FIGURA 2- Comprimento da parte aérea de plântulas de barueiro (*Dipteryx alata* Vog.) cultivadas em meio MS puro, suplementado com polpa de banana e água de coco (A) e sob diferentes concentrações de sais MS (B). Uberlândia, MG, 2014.

O meio MS puro ou suplementado com água de coco foram os que favoreceram melhor desenvolvimento do sistema radicular, não diferindo entre si em praticamente todas as concentrações de sais testadas (Tabela 4). De acordo com Torres e Barbosa (2001), a polpa de banana pode promover diferentes efeitos no cultivo *in vitro*, como espessamento e/ou crescimento de raízes, dependendo da cultivar e da quantidade de polpa utilizada. Porém, neste trabalho esse suplemento não se mostrou vantajoso, pois foi o que apresentou os menores resultados para o comprimento da raiz até a concentração de 75% de sais MS, conforme ilustrado na tabela. Através da análise de regressão é possível visualizar esse efeito, onde a partir de doses superiores a 75% de

sais MS o incremento dessa estrutura foi sendo retomado (Figura 3A). O processo de expansão radicular foi prejudicado linearmente com as concentrações de meio MS, tanto puro, quanto suplementado com água de coco (Figuras 3B e 3C), sugerindo que o barueiro tem melhor desenvolvimento radicular em meio de cultivo com menor concentração de sais. Com espécies lenhosas, o meio MS não se mostra satisfatório em alguns casos e composições mais diluídas em macronutrientes apresentam melhor desempenho (GRATTAPAGLIA; MACHADO, 1998).

TABELA 4- Comprimento médio da maior raiz (cm) de plântulas de barueiro (*Dipteryx alata* Vog.) cultivadas em quatro concentrações de meio MS puro ou suplementado com água de coco ou polpa de banana. Uberlândia, MG, 2014.

Tratamento	Concentração de sais MS (%)			
	25	50	75	100
MS puro	28,96 AB	29,52 A	28,00 A	23,04 A
Água de coco	35,15 A	28,15 A	19,67 B	18,81 A
Polpa de banana	23,70 B	20,09 B	12,72 C	19,98 A
CV= 13,09 % ; DMS= 6,40				

Médias seguidas de mesma letra maiúscula, na coluna, não diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.; CV: coeficiente de variação; DMS: diferença mínima significativa.

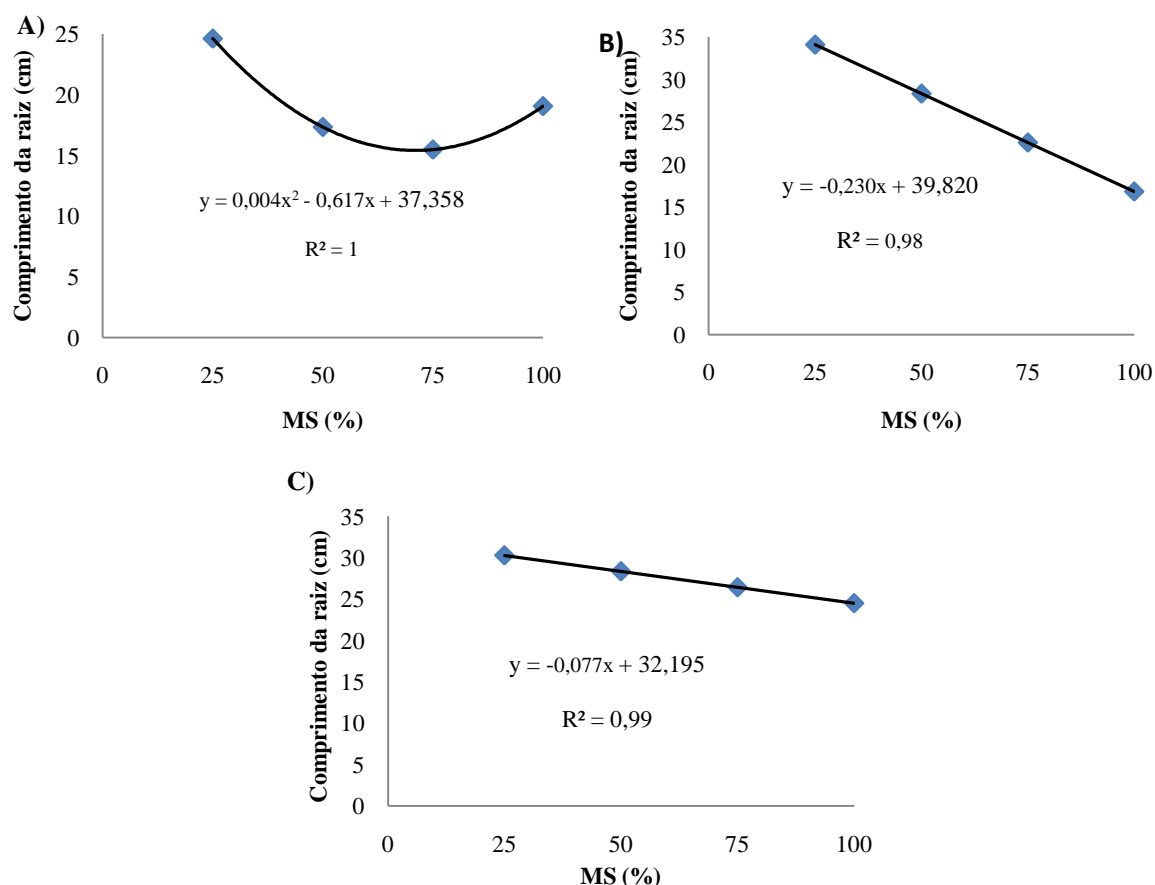


FIGURA 3- Comprimento da maior raiz (cm) de plântulas de barueiro (*Dipteryx alata* Vog.) cultivadas em meio MS suplementados com (A) polpa de banana (B) água de coco e (C) sem suplemento. Uberlândia, MG, 2014.

As plântulas de barueiro, como uma gama de espécies do Cerrado, demonstram exigir menor quantidade de nutrientes durante o desenvolvimento, fato comprovado neste trabalho pelo menor desenvolvimento radicular e de parte aérea quando estas foram submetidas ao meio MS pleno. Os resultados aqui encontrados corroboram pelos obtidos por Soares et al. (2011), onde constataram que o meio MS original foi desfavorável ao desenvolvimento de plântulas de macaúba (*Acrocomia aculeata*), outra frutadeira nativa do Cerrado. Malavolta (2006) explica que todo nutriente em excesso, provoca um desbalanço nutricional no sistema, que consequentemente provoca prejuízos no desenvolvimento da plântula, explicação condizente com o efeito observado nesse trabalho.

Baseando no diâmetro das plântulas ambos os suplementos testados (água de coco e polpa de banana) não mostraram-se vantajosos, já que não diferiram do meio MS puro. Para o número de folhas o meio MS desprovido de suplementos sobressai para

essa variável se compararmos aos tratamentos adicionados de polpa de banana (Tabela 5). Em pinhão manso (NUNES et al., 2008) a água de coco exerceu grande influência na produção de folhas, sendo que até a dose de 250 mL L⁻¹ esse incremento foi linearmente positivo. A polpa de banana parece não fornecer recursos nutricionais que induzam maior número de folhas. Em *Dendrobium nobile* (SOARES et al., 2011) por exemplo, a utilização deste aditivo ao meio de cultura não diferiu no número médio de folhas em relação aos meio MS sem modificações, já a dose de 200 mL L⁻¹ de água de coco promoveu diâmetro superior dos pseudobulbos das plântulas.

TABELA 5- Médias de diâmetro (mm) e número de folhas de plântulas de barueiro (*Dipteryx alata* Vog.) cultivadas em meio MS puro, acrescido de água de coco e polpa de banana. Uberlândia, MG, 2014.

Tratamento	Diâmetro (mm)	Número de folhas
MS puro	4,28 AB	27,36 A
Água de coco	3,97 B	23,86 AB
Polpa de banana	4,41 A	20,52 B
CV	8,37%	14,84%
DMS	0,36	3,62

Médias seguidas de mesma letra maiúscula, na coluna, não diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.; CV: coeficiente de variação; DMS: diferença mínima significativa.

De acordo com Pedroso de Moraes et al., (2009), é importante frisar que o uso de polpas de frutas e de endosperma líquido serve como complemento para meios de cultura, principalmente em relação a fontes de sais potássicos, fosfatos e fitormônios. Mas essa carga extra de nutrientes será viável ou não a depender da espécie em foco. Diferente de muitas espécies herbáceas e algumas lenhosas, para o barueiro nota-se que os aditivos naturais testados não mostraram vantagens adicionais em relação ao meio MS básico.

As melhores respostas obtidas neste trabalho referente à redução da concentração de sais MS tem sido uma estratégia adotada em outras pesquisas de estabelecimento *in vitro*, visto às vantagens econômicas e fisiológicas das plântulas. Resultados semelhantes foram confirmados por Teixeira (2001) que alterando a concentração original de macronutrientes do meio MS em 50% obteve melhor eficiência

no estabelecimento e na proliferação de brotações em explantes de pupunha. Essa mesma redução dos componentes do meio MS favoreceu também resultados superiores para o estabelecimento *in vitro* de casca-preciosa (*Aniba canelilla*). De acordo com os autores deste mesmo trabalho a redução dos sais, bem como de vitaminas e outros componentes do meio de cultura, além de promover redução dos custos, proporciona maior controle na liberação de compostos antioxidantes (RAMOS et al., 2013), fator de grande relevância quando se trabalha com plantas lenhosas e que é um dos entraves na busca da conservação e multiplicação destas espécies.

4. CONCLUSÕES

A água de coco e a polpa de banana como suplementos não forneceram vantagens no desenvolvimento *in vitro* de plântulas de barueiro, portanto o meio MS puro é o que melhor atende as exigências iniciais desta espécie.

A concentração de 25% dos sais de MS é a que melhor se aplica para o estabelecimento *in vitro* de *Dipteyx alata*.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, C. S.; LÉDO, A. S.; ARAÚJO, A. G.; SILVA, A. V.; SILVA JÚNIOR, J. S.; SANTOS, J. E.; RIBEIRO, M. M. J.; VILANOVA NETA, J. L. Efeito do meio de cultura na germinação *in vitro* do jenipapeiro. **Scientia Plena**, Aracaju, v. 9, n. 10, 2013.
- ARAUJO, A. G.; PASQUAL, M.; SILVA, A. B.; VILLA, F.; ROCHA, H. S.; COSTA, F. C. Propagação *in vitro* de plântulas de orquídea em diferentes meios de cultura e concentrações de citocinina. **Plant Cell Culture and Micropropagation 2**: Lavras, editora UFLA, 2006 a.
- ARAUJO A. G; PASQUAL M; VILLA F.; COSTA F. C. Água de coco e polpa de banana no cultivo *in vitro* de plântulas de orquídea. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 53, p. 608-613. 2006 b.
- BOTEZELLI, L.; DAVIDE, A. C.; MALAVASI, M. M. Características dos frutos e sementes de quatro procedências de *Dipteryx alata* Vogel (Baru). **Cerne**, Lavras, v. 6, n. 1, p. 9 - 15, 2006.
- CALDAS, L. S; HARIDASAN, P; FERREIRA, M. E. 1998. Meios nutritivos. In: TORRES AC; CALDAS LS; BUSO JA (eds). **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: EMBRAPA/ CNPH. p. 87-132.
- CAMPOS D. M. Reprodução por sementes em laboratório caseiro. 1. Rio de Janeiro: Expressão e Cultura, 100p. 2010.
- DONALDSON in MARTINELLI G., MORAES, M. A. **Livro vermelho da flora do Brasil** - 1. - Rio de Janeiro : Andrea Jakobsson: Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2013. 1100 p.
- DZAZIO, P. M.; BIASI, L. A.; ZANETTE, F. Micropropagação do porta-enxerto de videira '420-A'. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 24, n. 3, p. 759-764, dez, 2002.
- 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.
- FERREIRA, M. G. R.; CÁRDENAS, F. E. N.; CARVALHO, C. H. S.; CARNEIRO, A. A. C.; DAMIÃO FILHO, C. F. D. Indução de calos embriogênicos em explantes de cupuaçuzeiro. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.26, p.372-374, 2004.

FERREIRA, R. A.; BOTELHO, S. A.; DAVIDE, A. C.; MALAVASI, M. M. Caracterização morfológica de fruto, semente, plântula e muda de *Dipteryx alata* Vogel - baru (Leguminosae Papilionoideae). **Cerne**, Lavras, v.4, n.1, p. 73 - 87, 1998.

GEORGE, E. F.; HALL, M. A.; DEKLERK, G. J. **Plant propagation by tissue culture**. Dordrecht: The Background, 2008. 501p.

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

JUNQUEIRA, N. T. V., JUNQUEIRA, K. P., PREREIRA, A. V., PEREIRA, E. B. C., BRAGA, M. F., CONCEIÇÃO, L. D. H. C. S., FALEIRO, F. G. **Fruteiras Nativas do Cerrado: o extrativismo e a busca da domesticação**. XXII CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA. Bento Gonçalves, 2012.

LATADO, R. R.; VAZ, F. B. D.; TULMANN NETO, A. Obtenção de plantas de limão-cravo (*Citrus limonia* Osbeck) e tangerina 'Cleópatra' (*Citrus reshni* Hort.) a partir do cultivo de protoplastos de suspensão celular. **Scientia Agricola**, São Paulo, v.56, p.421-428, 1999.

LÉDO, A. S.; SECA, G. S. V.; BARBOZA, S. B. S. C.; SILVA JÚNIOR, J. B. Crescimento inicial de mangabeira (*Hancornia speciosa*) em diferentes meios de germinação *in vitro*. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 5, n.4, p.989-993, 2007.

MALAVOLTA, E. Manual de nutrição mineral de plantas. Piracicaba: POTAFOS, 2006. 638p.

MARTÍNEZ, D. M.; GARCÍA, R. A. M. Efecto de los compuestos orgánicos en la propagación *in vitro* de *Stanhopea tigrina* bateman (Orchidaceae). **Foresta Veracruzana**, México, v. 9, p. 27-32, 2007.

MURASHIGE, T., SKOOG, F. Manipulation of organ initiation in plant tissue cultures. **Bot. Bull. Academia Sinica**, Shanghai, v. 18, p.1-24, 1962.

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 agrotécnica**, Lavras, v. 28, n. 5, p. 1053-1059, set. out., 2004.

NUNES, C. F.; DALILHIA, M. P.; SANTOS, N.; CUSTÓDIO, T. N.; ARAÚJO, A. G. Diferentes suplementos no cultivo *in vitro* de embriões de pinhão-manso. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 43, p. 9-14, 2008.

PASQUAL, M.; FIGUEIREDO, M. A.; REZENDE, J. C.; ARAÚJO, A. G.; SANTOS, F. C.; FERREIRA, E. A.; JUNQUEIRA, K. P. Fontes de nitrogênio, polpa de banana e

Agar no desenvolvimento *in vitro* de plântulas de orquídea. **Horticultura brasileira**, Brasília, v. 27, n. 2, abr.-jun. 2009.

PEDROSO DE MORAES, C.; DIOGO, J. A.; PEDRO, N. P.; CANABRAVA, R. I.; MARTINI, G. A.; MARTELINE, M. A. Desenvolvimento *in vitro* de *Cattleya loddigesii* Lindley (Orchidaceae) utilizando fertilizantes comerciais. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v.7, n.1, p.67-69, jan./mar. 2009.

PÊGO, R. G.; PAIVA, P. D. O.; PAIVA, R. Micropropagation of *Syngonanthus elegantulus*. **Ciência e agrotecnologia**, Lavras, v. 37, n. 1, p. 32-39, jan./fev., 2013.

RAMOS, S. L. F.; LOPES, M. T. G.; SAMPAIO, P. T. B.; CHAGAS, E. A.; PASQUAL, M.; SILVA, P. P. Tipo de explante e diferentes concentrações de sais em meio de cultura MS no estabelecimento *in vitro* de *Aniba canelilla*. **Revista Ciências Agrárias**. Recife, v. 56, n. 4, p. 376-379, out./dez. 2013.

SANO, S. M.; RIBEIRO, J. F.; BRITO, M. A. de. **Baru: biologia e uso**. Documentos, 116. Planaltina, DF : Embrapa Cerrados, 2004. 52 p.

SILVA, D. B.; SILVA, J. A.; JUNQUEIRA, N. T. V.; ANDRADE, L. R. M. **Frutas do cerrado**. Brasília: Embrapa Informações Tecnológica, 2001.179p.

SOARES, J. D. R.; RODRIGUES, F. A.; PASQUAL, M.; NUNES, C. F.; ARAÚJO, A. G. Germinação de embriões e crescimento inicial *in vitro* de macaúba. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.41, n.5, p.773-778, 2011.

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**, v.31, p.1702-1708, 2007.

SU, M. J.; SCHNITZER, J. A.; FARIA, R. T. Polpa de banana e fertilizantes no cultivo *in vitro* de orquídea. **Científica**, Jaboticabal, v.40, n.1, p.28-34, 2012.

TEIXEIRA, J. B. **Limitações ao processo de cultivo *in vitro* de espécies lenhosas**. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2001.

TORRES, A. C.; BARBOSA, N. V, WILLADINO, L.; GUERRA, M. P.; FERREIRA, C. F.; PAIVA, S. A. V. **Meio e condições de incubação para cultura de tecidos de plantas**. Brasília, DF: Embrapa Hortaliças (Circular Técnica). 20p. 2001.

TORRES, A. C.; BARBOSA, N. V. R. Condições de incubação para cultura *in vitro*. **ABCTP Notícias**, Lavras, p.1-7, 2001.

VIEIRA, J. G. Z.; UNEMOTO, L. K.; YAMAKAMI, J. K.; NAGASHIMA, G. T.; FARIA, R. T.; AGUIAR, R. S. Propagação *in vitro* e aclimatização de um híbrido de *Cattleya* Lindl. (Orchidaceae) utilizando polpa de banana e água de coco. **Científica**, Jaboticabal, v. 37, p. 48-52, 2009.