

TIPOS DE VEDAÇÃO E CONCENTRAÇÃO DE ÁGAR NA MATURAÇÃO *IN VITRO* DE EMBRIÕES SOMÁTICOS DE MURICI-PEQUENO

DIOGO PEDROSA CORRÊA DA SILVA¹, RENATO PAIVA²; MILENE ALVES DE FIGUEIREDO CARVALHO³, RONY SWENNEN⁴, BART PANIS⁵, GERALDO ALVES DA SILVA⁶

RESUMO

Este trabalho foi realizado com o objetivo de determinar um protocolo de maturação de embriões somáticos de murici-pequeno *in vitro*. No presente trabalho os embriões somáticos de murici-pequeno foram inoculados em meio de cultura WPM, solidificado com diferentes concentrações de ágar (0,6; 0,7 e 0,8%) e suplementado com 3% de sacarose, 0,1% de carvão ativado e 28,87 μM de GA_3 . Foram utilizados três tipos de vedação (tampa normal com e sem PVC e Bio-sama[®]). Os resultados demonstraram que o uso das tampas bio-sama[®] favoreceu o número de plântulas, plântulas normais e anormais e formação de raiz, e também para formação de calos embriogênicos e embriões somáticos juntamente com o uso de tampas normais com PVC. Já o uso da concentração de 0,8% de ágar favoreceu o número de plântulas e a formação de raiz. Assim recomenda-se o uso de tampas bio-sama[®] e a concentração de 0,8% de ágar.

Palavras-chaves: *Byrsonima intermedia*, Embriogênese somática, Geleificante, tampas Bio-sama[®]

INTRODUÇÃO

O murici-pequeno (*Byrsonima intermedia* A. Juss.) é um arbusto do Cerrado, pertencente à família Malpighiaceae, que apresenta ocorrência em Minas Gerais. É uma planta medicinal rica em taninos, cuja infusão é utilizada como febrífugo e adstringente nas diarreias e disenterias (Rodrigues & Carvalho, 2001), além de possuir atividade anti-séptica, antimicrobiana, anti-hemorrágica, cicatrizante e antiinflamatória (Pinto & Bertolucci, 2002; Monteiro et al., 2005). A principal utilização medicinal se dá através do chá da casca do caule picada e a coleta do material silvestre é realizada de forma extrativista, o que coloca a espécie em grande risco de extinção. Além deste fato, segundo Lorenzi (2002), o gênero *Byrsonima* possui taxa de germinação baixa, emergência lenta das plântulas e dormência tegumentar.

Nesse contexto, as técnicas de cultivo *in vitro* constituem um promissor instrumento para o desenvolvimento de pesquisas que estabeleçam formas alternativas para a produção de mudas, conservação e melhoramento do material genético. Dentre as técnicas de cultura de tecidos destaca-se a embriogênese somática, que a partir de células somáticas originam estruturas semelhantes a embriões zigóticos (George, 1996).

Baseado neste contexto, a determinação de um protocolo para a maturação de embriões somáticos do murici-pequeno viabilizará a propagação assexuada desta espécie, auxiliará na conservação de germoplasma e estimulará a exploração racional.

MATERIAL E MÉTODOS

Os embriões somáticos cordiforme e torpedo de murici-pequeno foram inoculados em frascos contendo 30ml em meio de cultura WPM (Lloyd & Mccown, 1980), solidificado com diferentes concentrações de ágar (0,6; 0,7 e 0,8%) e suplementado com 3% de sacarose, 0,1% de carvão ativado e 28,87 μM de GA_3 . O meio teve o pH ajustado para 5,8 antes da autoclavagem a 121°C por 20 minutos. Foram utilizados 3 tipos de vedação (tampa normal com e sem PVC e Bio-sama[®]).

Após a inoculação, os embriões foram mantidos por 30 dias em sala de crescimento a 27 \pm 2°C de temperatura na presença de luz com irradiância de 25 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e fotoperíodo de 16 horas.

¹ Doutorando em Agronomia/Fisiologia Vegetal, DBI/UFLA pedrosacorrea@yahoo.com.br.

² Professor Associado, DBI/UFLA, renpaiva@dbi.ufla.br

³ Pós- doutorando em Agronomia/Fisiologia Vegetal, DBI/UFLA, migueiredo@yahoo.com.br

⁴ Professor, Katholieke Universiteit Leuven, swennen@biw.kuleuven.be

⁵ Assistente de pesquisa, Katholieke Universiteit Leuven, bart.panis@biw.kuleuven.be

⁶ Professor Associado, Universidade Federal de Alfenas, pharmacobotanica@yahoo.com.br.

Após este período foi avaliado o número de plântulas formadas, número de plântulas normais e anormais, formação de raiz e formação de calos embriogênicos e formação de embriões secundários. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade no programa estatístico SISVAR[®] (Ferreira, 2000).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para número de plântulas, a interação concentração de ágar e forma de vedação para frascos não foi significativa. Somente apresentou estatística significativa, a concentração de ágar e forma de vedação, separadamente.

Para a forma de vedação, o uso de tampas Bio-sama[®] apresentou maior número de plântulas, cerca de 0,64 plântulas. O uso de tampas normais e normais com PVC não diferiu estatisticamente entre si (Figura 1).

O maior número de plântulas em tampas bio-sama[®] pode ser explicado pois esse tipo de tampa permite trocas gasosas com o meio externo, assim possibilitando a perda de água aumentando a eficiência da respiração e diminuindo a hiperhidricidade das plântulas.

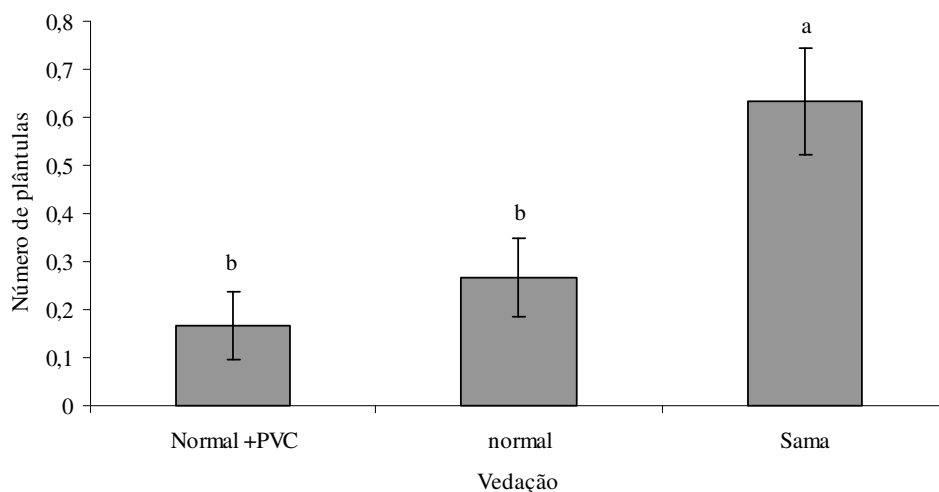


FIGURA 1: Número de plântulas de murici-pequeno *in vitro* a partir de embriões somáticos em diferentes vedações.

Para a concentração de ágar, o uso da concentração de 0,8% de ágar favoreceu o maior número de plântulas (0,60 plântulas), e o uso das concentrações de 0,6 e 0,7% de ágar não diferiram entre si (figura 2).

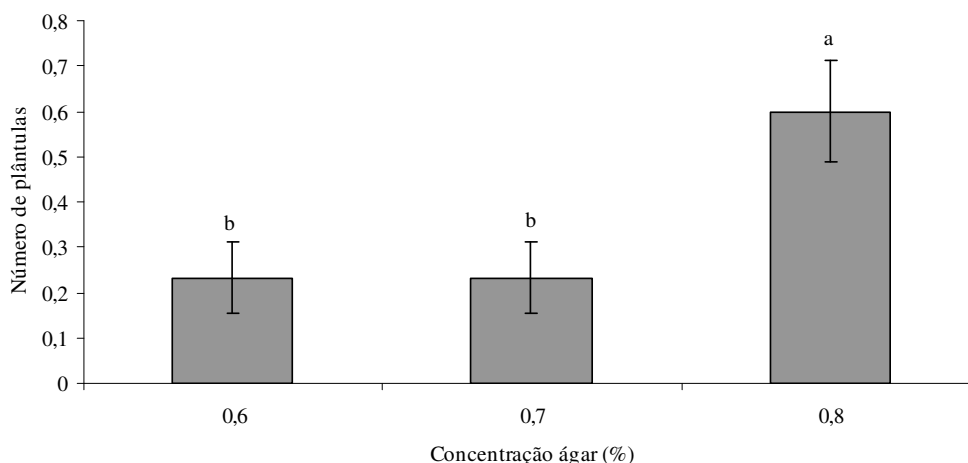


FIGURA 2: Número de plântulas de murici-pequeno *in vitro* a partir de embriões somáticos em diferentes concentrações de ágar.

Para número de plântulas normais, a interação entre concentração de ágar e formas de vedação não foi significativa estatisticamente. Somente a forma de vedação foi significativa estatisticamente, separadamente.

Os resultados encontrados demonstram uma superioridade da tampa Bio-sama® com maior número médio de plântulas normais (0,20 plântulas). Os outros tipos de vedação não diferiram entre si, demonstrando mesmo valor médio de plântulas normais (0,033 plântulas) (Figura 3).

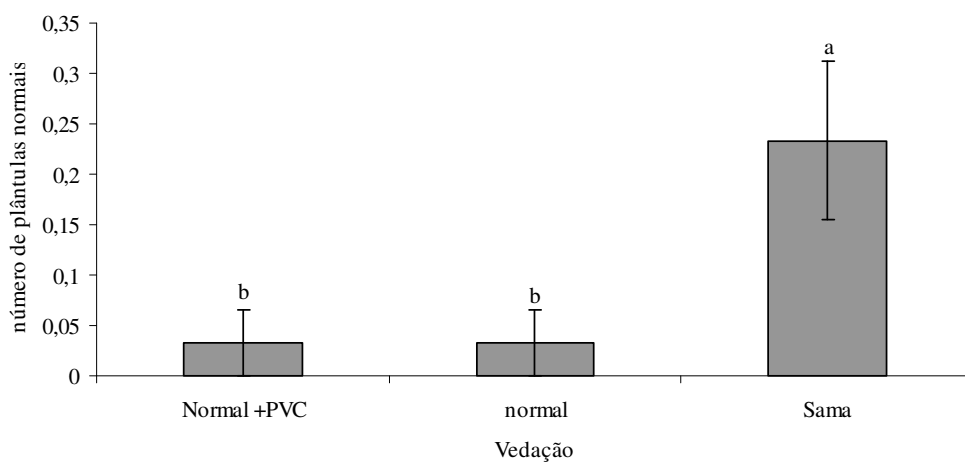


FIGURA 3: Número de plântulas normais de murici-pequeno *in vitro* a partir de embriões somáticos em diferentes vedações.

Para número de plântulas anormais a interação, vedação e ágar, não foi estatisticamente significativa em nível de 0,5%. Somente a forma de vedação e concentração de ágar, separadamente, foram significativas. Para a forma de vedação o uso da tampa comercial Bio-sama® apresentou maior número de plântulas anormais, com média de 0,43 plântulas anormais (Figura 4).

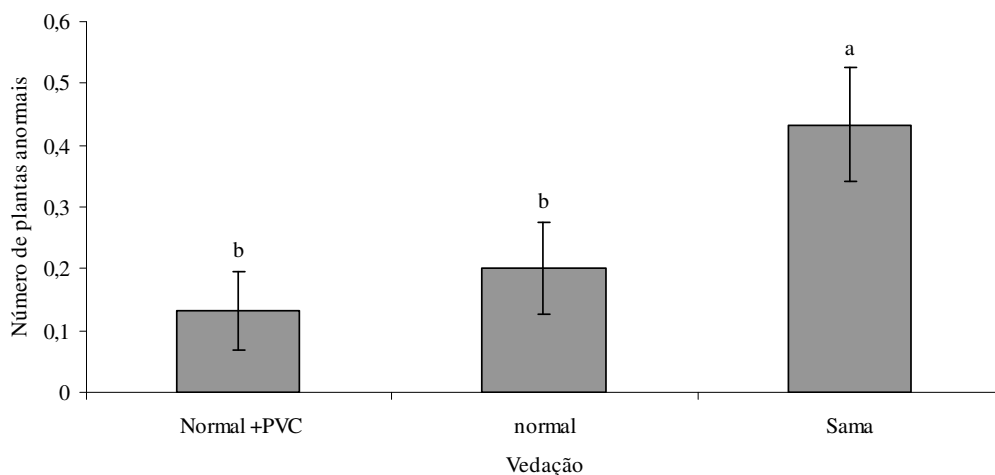


FIGURA 4: Número de plântulas anormais de murici-pequeno *in vitro* a partir de embriões somáticos em diferentes vedações.

Para Formação de raiz, somente forma de vedação e concentração de ágar, separadamente, apresentaram significância em nível de 5% de probabilidade. Para forma de vedação, os resultados encontrados demonstraram que o uso de tampas bio-sama® teve maior formação de raiz que as demais formas de vedação. O valor foi considerado alto, onde 56,66% dos frascos apresentaram formação de raiz (Figura 5).

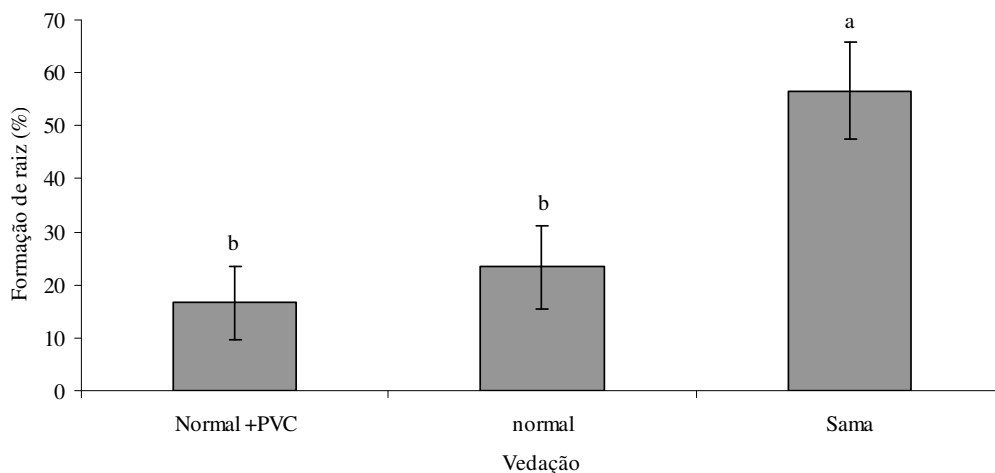


FIGURA 5: Formação de raiz de murici-pequeno *in vitro* a partir de embriões somáticos em diferentes formas de vedações.

Os resultados para concentração de ágar a concentração de 0,8% oi observado a maior formação de raízes (50%), sendo que sua formação foi 2 vezes maior que as outras concentrações utilizadas (Figura 6) .

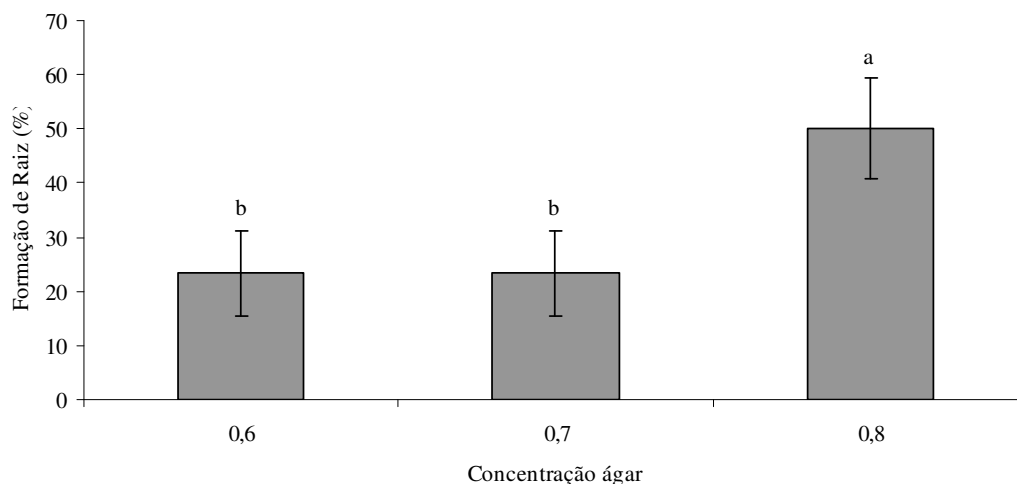


FIGURA 6: Formação de raiz de murici-pequeno *in vitro* a partir de embriões somáticos em diferentes concentrações de ágar.

Para formação de calos, a interação vedação x concentração de ágar, não apresentou significância estatística, e somente vedação individualmente, foi significativo. Os resultados encontrados nas diferentes formas de vedação demonstraram que, tanto para as tampas bio-sama e para tampas normais com PVC, os valores não diferiram estatisticamente, apresentando maior presença de calos nos frascos. Os valores encontrados para bio-sama e tampa normais com PVC (70% e 73,33%) forma considerados altos (Figura 7).

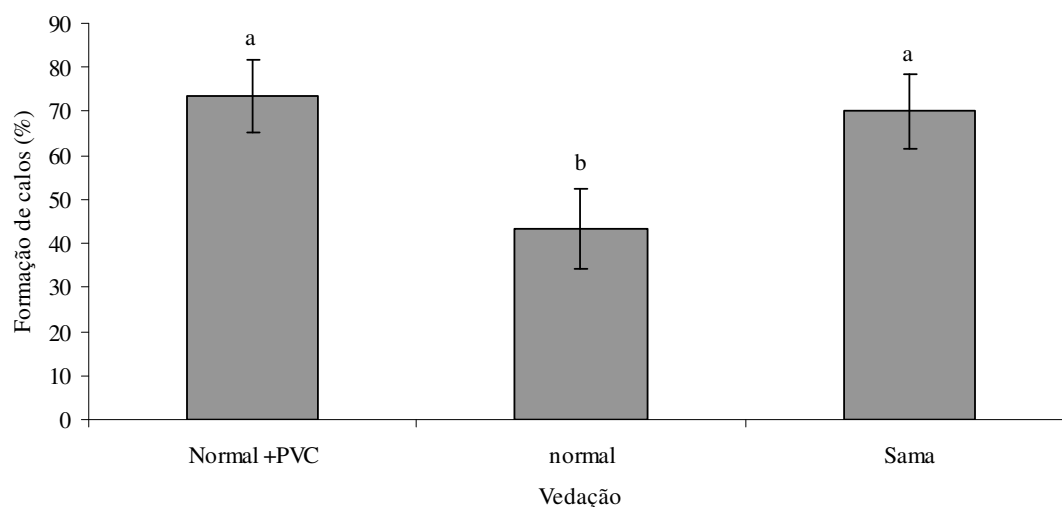


FIGURA 7: Formação de calos embriogênicos de murici-pequeno *in vitro* a partir de embriões somáticos em diferentes formas de vedações.

Para formação de embriões somáticos secundários, novamente não foi observado interação entre vedação e ágar, e somente foi significativa a forma vedação separadamente.

Os resultados demonstraram que, para presença de calos embriogênicos secundários, a tampa bio-sama e tampa normal envolta com PVC apresentaram maior formação de embriões somáticos (83,33 e 76,67%, respectivamente), não diferindo estatisticamente entre si (Figura 8).

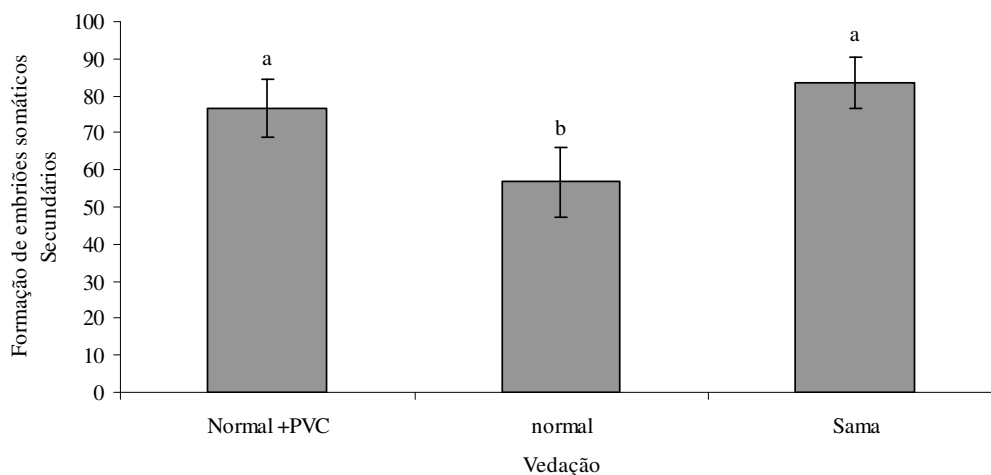


FIGURA 8: Formação de embriões somáticos secundários de murici-pequeno *in vitro* a partir de embriões somáticos em diferentes concentrações de ágar.

Os melhores resultados em tampas bio-sama® pode ser explicado pois esse tipo de tampa permite trocas gasosas com o meio externo, assim possibilitando a perda de água aumentando a eficiência da respiração e diminuindo a hiperhidricidade das plântulas.

Já o uso de 0,8% ágar pode ter diminuído a absorção de água pela planta e assim diminuída o acúmulo de água diminuindo a hiperhidricidade das plântulas.

CONCLUSÃO

O uso das tampas bio-sama® para apresentou maiores resultados para número de plântulas, plântulas normais e anormais e formação de raiz, e também para formação de calos embriogênicos e embriões somáticos. Já o uso da concentração de 0,8% de ágar favoreceu o número de plântulas e a formação de raiz.

Recomenda-se o uso de tampas bio-sama® e concentração de 0,8% de ágar para a maturação de embriões somáticos de murici pequeno cultivados *in vitro*.

REFERÊNCIAL BIBLIOGRÁFICO

FERREIRA, D.F. 1992. **SISVAR (Sistema para análise de variância para dados balanceados)**. Lavras, UFLA, 79p.

GEORGE, E. F. **Plant propagation by tissue culture**. part 1 - The Technology. Edington: Exegetics, 1996. 574 p.

LLOYD, G.; McCOWN, B. Commercially-feasible micropropagation of mountain laurel, *Kalmia latifolia*, by use of shoot-tip culture. **Combined Proceedings International Plant Propagators Society**, Seattle, v.30, p.421- 427, 1980.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. São Paulo: Nova Odessa, 2002. v. 1, 386 p.

MONTEIRO, J. M., ALBUQUERQUE, U. P., ARAÚJO, E. de L. Taninos: uma abordagem da química à ecologia. **Química Nova**, vol. 28, No. 5, 892-896, 2005.

PINTO, J. E. B. P.; BERTOLUCCI, S. K. V. **Textos acadêmicos: cultivo e processamento de plantas medicinais**. Lavras: FAEPE/UFLA, 2002. 169 p.

RODRIGUES, V. E. G.; CARVALHO, D. A. de. **Plantas medicinais no domínio dos cerrados**. Lavras: UFLA, 2001. 180 p.