

Germinação *in vitro* de aroeira do sertão (*Astronium urundeuva* (M. Allemão) Engl.)

Nayara dos Santos de Souza¹; Leonardo Máximo Silva²; Glenda Araújo de Souza Honorato³;
Ariane da Silva Nogueira⁴; Leandro Silva de Oliveira⁵

¹.Engenharia Florestal; Graduanda; Universidade Federal de Minas Gerais; Campus Montes Claros-MG; E-mail: souzass.nayara@gmail.com.

².Engenheiro Agrônomo, Mestrando em Ciências Florestais; Universidade Federal de Minas Gerais; Montes Claros-MG; E-mail: leomaxsyl4@hotmail.com

³.Engenharia Florestal; Graduanda; Universidade Federal de Minas Gerais; Montes Claros-MG; E-mail: glenda1_ash@hotmail.com

⁴.Engenharia Florestal, Mestranda em Produção Vegetal na Universidade Federal de Minas Gerais; Montes Claros-MG; E-mail: ariane.nogueira77@gmail.com

⁵.Engenheiro Florestal, Dr. em Recursos Florestais; Professor do Curso de Engenharia Florestal; Universidade Federal de Minas Gerais; Montes Claros-MG; E-mail: leandroengflor@gmail.com.

Resumo

A micropropagação é apontada como ferramenta para conservação e propagação de genótipos de interesse, como a aroeira do sertão. Porém, a contaminação e a recalcitrância dos explantes no estabelecimento *in vitro* são frequentes. Uma das alternativas é usar sementes para obter explantes vigorosos e livres de patógenos. O objetivo foi avaliar a germinabilidade *in vitro* de *A. urundeuva*. Os diásporos foram coletados de árvores matrizes e desinfetados e inoculados em meio MS (50%). Transcorridos 31 dias após a inoculação, a taxa de germinação foi de 61,53%. O maior número de plântulas germinadas foi obtido 28 dias após a inoculação. Os resultados do presente estudo são importantes para avanços nos estudos biotecnológicos com a aroeira do sertão.

Palavras-chave: micropropagação, estabelecimento *in vitro*, restauração florestal.

Introdução

O Brasil assumiu frente à ONU no Acordo de Paris o compromisso de restaurar 12 milhões de hectares de florestas até 2030, no entanto restaurou apenas 0,5% dessa área até o momento (Girard, 2021). Em vista do enorme desafio para cumprir essa meta em apenas oito anos, será necessário grande esforço para produção de mudas, além de precisar elencar espécies adequadas para essa finalidade. Aroeira do sertão (*Astronium urundeuva* (M. Allemão) Engl.) é uma espécie nativa brasileira com grande potencial de uso para restauração ambiental. No entanto, devido ao seu alto valor madeireiro, sofreu exploração predatória, fazendo com que fosse incorporada à lista de espécies ameaçadas de extinção (MMA, 2008). Diante desses fatores, viabilizar a produção de mudas da espécie é imprescindível.

A cultura de tecidos tem sido apontada para a conservação e propagação de genótipos, sendo a micropropagação a técnica mais utilizada. Contudo, ainda são poucos os trabalhos com espécies nativas de interesse, como a aroeira. A micropropagação, apesar do grande potencial para produção de mudas de forma rápida e em grande quantidade, esbarra em problemas que ainda não foram solucionados para muitas espécies florestais. Dentre os entraves que impedem o sucesso da técnica, está a dificuldade na fase de estabelecimento *in vitro*. Essa etapa é uma das mais críticas de todo o processo, principalmente por causa da contaminação e recalcitrância das espécies ao cultivo *in vitro*.

Tentativas de estabelecer explantes provenientes de materiais adultos geralmente falham por causa das elevadas taxas de contaminação fúngica e bacteriana. Tais problemas são decorrentes da coleta dos materiais que é feita, geralmente, direto do campo, sem controle fitossanitário. Além disso, a recalcitrância, caracterizada pela falta de adaptação de espécies ao cultivo *in vitro*, também é um problema frequente na micropropagação de espécies florestais e que tem relação com a idade ontogenética da planta matriz. É verificado que os materiais juvenis apresentam maior capacidade para responderem aos estímulos do meio de cultura, ao contrário do que ocorre com materiais adultos (Wendling et al., 2014).

O uso de sementes na fase de estabelecimento *in vitro* muitas vezes é adotado como forma de contornar os problemas mencionados. As plântulas obtidas nessa fase servirão de explante para

os explantes terão menor idade ontogenética e, portanto, maior capacidade de resposta. Além disso, as plântulas obtidas estarão habituadas às condições *in vitro* e livres de patógenos. Em vista do exposto, este trabalho teve como objetivo conhecer o potencial germinativo de diásporos de *A. urundeuva* em condição *in vitro*.

Material e Métodos

O trabalho foi conduzido no Laboratório de Melhoramento Florestal, localizado no Centro de Pesquisas em Ciências Agrárias (CPCA) do Instituto de Ciências Agrárias (ICA) da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG)

Obtenção do material vegetal

Diásporos de *A. urundeuva* foram coletados de matrizes situadas no ICA em Montes Claros, Minas Gerais, em outubro de 2021. O material permaneceu armazenado em um recipiente plástico no Laboratório de Melhoramento Florestal até a execução do teste em dezembro de 2021.

Desinfestação e germinação *in vitro*

Antes da desinfestação, os diásporos passaram pelo processo de beneficiamento, sendo feita a retirada manual do cálice. Após esse procedimento, o material passou por lavagem em água corrente durante 10 minutos. Em seguida, em câmara de fluxo laminar, os diásporos foram imersos em solução de hipoclorito de sódio (NaOCl) a 1,25% (v/v) de cloro ativo durante 15 minutos sob agitação constante. Ao final, o material foi enxaguado 5 vezes em água destilada e autoclavada.

Após a desinfestação, cada diásporo foi inoculado em um tubo de ensaio (Ø 2,5 cm e 15 cm de altura) contendo 5 mL do meio de cultura MS meia força (MURASHIGE & SKOOG, 1962), suplementado com 0,1 g/L de Inositol; 30,0 g/L de sacarose e solidificado com 5 g/L de ágar. Além disso, para a desinfestação do meio de cultura, foi acrescentado 0,2 mL/L de fungicida PolyBac 7DC®. O pH do meio foi ajustado para $5,7 \pm 0,1$. Os tubos de ensaio foram mantidos em sala de crescimento com temperatura de 25 ± 2 °C sob fotoperíodo de 16 horas por 31 dias.

Avaliações e Análise estatística

As avaliações foram feitas com um intervalo de três dias cada, totalizando 9 avaliações, sendo contabilizados a protrusão radicular e a emissão de plântulas. O teste foi constituído por 390 repetições, sendo a unidade experimental representada por um tubo de ensaio contendo um diásporo. Os resultados de protrusão radicular e emergência de plântulas foram submetidos à análise de regressão logarítmica. Para obtenção do modelo de regressão foi utilizado o software CurveExpert Basic 2.2.3.

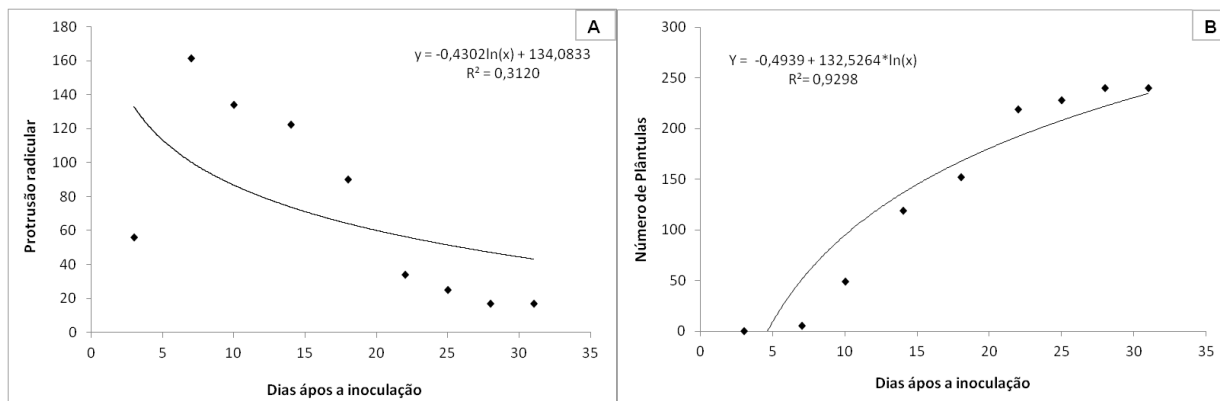
Resultados e Discussão

Na germinação *in vitro* de *A. urundeuva*, a porcentagem de germinação foi de 61,53%. Dorneles et al. (2005) relatam que esse parâmetro para a espécie varia entre 20 e 90%, com valores abaixo de 70% sendo os mais frequentes. Essa grande amplitude de valores provavelmente está relacionada à variabilidade genética existente no material seminal. A porcentagem de germinação obtida neste trabalho foi considerada satisfatória, uma vez que trata-se de uma espécie nativa sem a disponibilidade de material propagativo com algum grau de melhoramento.

Os valores observados no trabalho ajustaram-se ao modelo logarítmico, tanto para protrusão radicular como para emergência de plântulas. A protrusão radicular ocorreu de forma mais intensa durante os primeiros dias após a inoculação, observando-se um decréscimo nos valores até o 28º dia após a inoculação, depois do qual os valores apresentaram tendência a se estabilizar (Figura 1A). Já em relação à emergência de plântulas, o pico ocorreu aos 28 dias após a inoculação. Depois de atingir o valor máximo, foi observado uma tendência de estabilização na taxa de emergência de plântulas. Verificou-se também que o intervalo entre 10 e 14 dias de avaliação foi o que apresentou

maior número relativo de diásporos com emergência de plântulas, havendo um crescimento exponencial no número de plântulas germinadas (Figura 1B).

Figura 1. Aspectos da germinação *in vitro* de *Astronium urundeuva*. A: Número de diásporos com protrusão radicular ao longo do tempo; B: Número de plântulas emergidas ao longo do tempo.



A taxa de protrusão radicular é inversamente proporcional ao número de plântulas germinadas (Figura 1A e B). Isso decorre do fato de que com o passar do tempo, os diásporos que haviam emitido radícula passam a formar parte aérea e desenvolver seu sistema radicular, culminando na emergência de uma plântula.

Em relação a este estudo, visando melhorar a eficiência e custo do processo de germinação *in vitro*, alguns autores defendem que fazer uso de meios contendo solução nutritiva é dispensável, uma vez que as sementes possuem reservas que suprem as plântulas durante seu desenvolvimento inicial (Almeida et al., 2013). Nascimento et al (2020) sugerem que menores taxas de germinação *in vitro* de aroeira foram obtidas ao utilizar ágar como agente de suporte no meio de cultura. Por outro lado, maior germinabilidade quando utilizaram vermiculita ao invés de ágar. Dessa maneira, a taxa germinativa dos diásporos obtida no presente estudo pode ser maximizada com o uso apenas de água e ágar no meio de cultura. Cabe ressaltar, no entanto, que o potencial germinativo também está relacionado a outros fatores, como o vigor da planta matriz, a procedência, o grau de amadurecimento das sementes/diásporos, e a variabilidade genética, já que cada semente/diásporo é um genótipo distinto.

O estudo aqui apresentado abre perspectivas para maiores investigações para o desenvolvimento de um protocolo completo e eficiente de micropropagação da espécie. A definição de um protocolo de estabelecimento do material *in vitro* é fundamental para que seja possível o prosseguimento das demais etapas da técnica, até a obtenção final de mudas. O estabelecimento de um protocolo de micropropagação da espécie é de grande relevância pois possibilitaria a formação de bancos de germoplasma *in vitro*, para a conservação de genótipos remanescentes da espécie. Ademais, em programas de melhoramento genético da *A. urundeuva*, o cultivo *in vitro* possibilita a manutenção e multiplicação de genótipos superiores selecionados. Portanto, há viabilidade da propagação em massa da espécie com a produção de mudas de forma rápida, suprimindo parte da demanda do Brasil em relação à meta de restauração florestal, bem como abastecer o setor silvicultural voltado para nativas.

Conclusão

A *urundeuva* (aroeira do sertão) possui germinabilidade *in vitro* considerada satisfatória, sendo obtido 61,53% de germinação dos diásporos. A maior emergência de plântulas foi obtida aos 28 dias após a inoculação, correspondendo ao tempo ótimo para obtenção de plântulas para utilização nas demais etapas da micropropagação.

Agradecimentos/Apoio

Os autores agradecem ao CNPq pelo financiamento do projeto de pesquisa, ao Programa de Ensino Tutorial de Engenharia Florestal da UFMG e à FAPEMIG pela concessão de bolsas aos alunos da graduação.

Referências Bibliográficas

ALMEIDA C S · LÉDO A S · DE ARAÚJO A G · DA SILVA A V C · DA SILVA JUNIOR J E · DOS

DORNELES, M. C.; RANAL, M. A.; SANTANA, D. G. Germinação de diásporos recém-colhidos de *Myracrodruon urundeuva* Allemão (Anacardiaceae) ocorrente no cerrado do Brasil Central. **Brazilian Journal of Botany**, v. 28, p. 399-408, 2005.

GIRARD, G. Brasil restaura menos de 1 % dos 12 milhões de hectares de florestas prometidos no Acordo de Paris. **Jornal Estadão**. São Paulo, SP. Disponível em: <https://sustentabilidade.estadao.com.br/noticias/geral,brasil-restaura-menos-de-1-dos-12-milhoes-de-hectares-de-florestas-prometidos-no-acordo-de-paris,70003639716#:~:text=Com%20uma%20meta%20de%20restaurar,desenvolvimento%20em%20todo%20o%20Pa%C3%ADs>. Acesso: em 28 abr. 2022

MMA (MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE). Lista oficial das espécies da flora brasileira ameaçadas de extinção. **Instrução Normativa Ministério do Meio Ambiente**, n. 06, 2008.

NASCIMENTO, A. V. S.; MENDONÇA, A. M. C.; DA SILVA JÚNIOR, C. D.; DE SANTANA, M. C.; SANTOS, P. A. A. *In vitro* germination and micropropagation of *Myracrodruon urundeuva* Allemão (Anacardiaceae). **Plant Cell Culture & Micropropagation**, v. 16, p. 16: e156-16: e156, 2020.

WENDLING, I; TRUEMAN, S. J.; XAVIER, A. Maturation and related aspects in clonal forestry—Part I: Concepts, regulation and consequences of phase change. **New Forests**, v. 45, n. 4, p. 449-471, 2014.