

Ácido ascórbico e carvão ativado no controle de oxidação fenólica em explantes de *Astronium urundeuva* (M.Allemão) Engl.

Leonardo Máximo Silva¹; Ariane da Silva Nogueira²; Nayara dos Santos de Souza³; Glenda Araújo de Souza honorato⁴; Leandro Silva de Oliveira⁵.

¹Engenheiro Agrônomo; Mestrando em Ciências Florestais; Universidade Federal de Minas Gerais; Montes Claros - MG; leomaxsyl4@hotmail.com

². Engenheira Florestal, Mestranda em Produção Vegetal na Universidade Federal de Minas Gerais; Montes Claros-MG; E-mail: ariane.nogueira77@gmail.com

³ Engenharia Florestal; Graduanda; Universidade Federal de Minas Gerais; Campus Montes Claros-MG; E-mail: souzass.nayara@gmail.com.

⁴. Engenharia Florestal; Graduanda; Universidade Federal de Minas Gerais; Montes Claros-MG; E-mail: glenda1_ash@hotmail.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

Astronium urundeuva é uma espécie nativa com potencial madeireiro. No estabelecimento *in vitro* da espécie, a oxidação fenólica é um entrave, com isso a utilização de explantes seminais se torna uma alternativa. Neste contexto, o objetivo do estudo foi avaliar o uso de antioxidantes na fase de estabelecimento *in vitro* de *A. urundeuva*. Transcorridos 31 dias de cultivo *in vitro* das brotações apicais, o ácido ascórbico e o carvão ativado nas concentrações de 75mg.L⁻¹ e de 12g.L⁻¹, respectivamente, efetivos no controle de oxidação fenólica. O carvão ativado nesta concentração controlou 100% da oxidação fenólica. Os resultados deste estudo com *A. urundeuva*, contribui para a sua conservação e trabalhos com melhoramento genético da espécie.

Palavras-chave: Aroeira do sertão; Estabelecimento *in vitro*; Antioxidantes; Fenóis.

Introdução

As espécies florestais nativas representam um patrimônio genético de valor inestimável e garantem a sustentabilidade de ecossistemas naturais. Na região norte de Minas Gerais são encontradas espécies florestais pertencentes a dois biomas brasileiros, o Cerrado e a Caatinga. Grande número dessas espécies estão sob risco de extinção, devido à exploração extrativista predatória por populações locais e à ocupação danosa da agropecuária. Dentre as espécies florestais que ocorrem no cerrado com aptidão para exploração madeireira, está a *Astronium urundeuva*, popularmente conhecida como aroeira do sertão. Em virtude das suas características como madeira de grande resistência mecânica e casca rica em tanino, foi intensamente explorada e por esse motivo foi incluída na lista oficial de espécies brasileiras ameaçadas de extinção (MMA, 2008). A carência de informações científicas, bem como a falta de tecnologias adequadas à sua propagação e de programas de melhoramento genético, tem limitado a exploração silvicultural da espécie. O cultivo desta espécie, além de possibilitar a conservação *in situ* de recursos genéticos é uma opção sustentável para restaurar áreas desmatadas ou degradadas. Nesse âmbito, a micropropagação corresponde a uma alternativa para suprir tais demandas.

O estabelecimento *in vitro* por meio de sementes selecionadas de árvores matrizes adultas é uma alternativa para a definição de protocolos de propagação de genótipos superiores. Além disso, corresponde a uma alternativa para a conservação de genótipos sob risco de extinção. Para tanto, são imprescindíveis investigações acerca do controle da oxidação fenólica na fase de estabelecimento *in vitro*. A oxidação fenólica é um fator limitante na micropropagação e naturalmente algumas espécies nativas produzem grandes quantidades de fenóis, o que é um entrave à sobrevivência de explantes na micropropagação. Dentre as principais substâncias antioxidantes utilizadas no cultivo *in vitro* estão o ácido ascórbico e carvão ativado.

Os antioxidantes atuam na inativação dos radicais livres, na complexação de íons metabólicos ou na redução dos peróxidos para produtos incapazes de formar radicais livres com potencial para se oxidarem. A ação do carvão ativado ocorre por meio de suas cargas residuais, que conseguem aderir às substâncias fenólicas ou aos produtos oriundos de sua oxidação. Por sua vez, o ácido ascórbico é capaz de eliminar radicais de oxigênio.

Portanto, o presente trabalho tem como objetivo avaliar a viabilidade dos antioxidantes ácido ascórbico e carvão ativado no controle da oxidação fenólica de plântulas de *A. urundeuva* na fase de estabelecimento *in vitro*.

Material e Métodos

Árvores matrizes de *A. urundeuva* foram selecionadas em áreas de vegetação nativa, no Instituto de Ciências Agrárias, campus Montes Claros da Universidade Federal de Minas Gerais. A partir das matrizes selecionadas foram coletadas diásporos em setembro de 2021. Os diásporos, após beneficiamento com a remoção do cálice, passaram por um processo de desinfestação em solução de hipoclorito de sódio (NaOCl) a 1,25% (v/v) de cloro ativo durante 15 minutos. A germinação *in vitro* ocorreu com a inoculação dos diásporos desinfestados em meio de cultura MS^{1/2} (MURASHIGE & SKOOG, 1962). Transcorridos 30 dias, as plântulas com melhor vigor vegetativo foram utilizadas como fonte de explantes, os quais foram as brotações apicais. Os explantes foram subcultivados em meio de cultura MS^{1/2}, suplementado com ácido ascórbico (25; 50; 75; 100 mg L⁻¹) e carvão ativado (3; 6; 9; 12 g L⁻¹).

A avaliação procedeu-se pela quantificação da oxidação fenólica ocorreu a cada 4 dias em um período de 31 dias, totalizando 8 avaliações. A oxidação foi detectada visualmente pela presença ou ausência de fenóis no meio de cultura, detectados pelo escurecimento do mesmo.

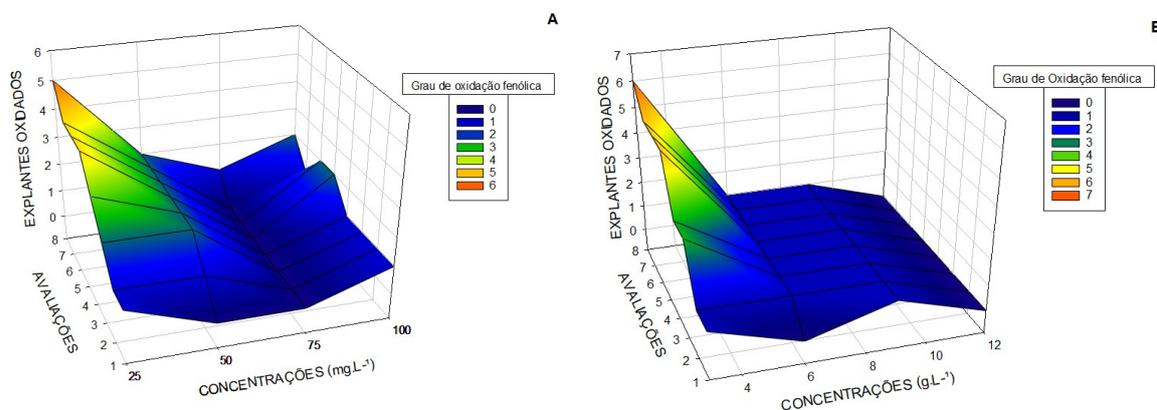
O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, contendo 8 tratamentos com 16 repetições, onde cada parcela experimental foi composta por um explante. As equações de regressão foram obtidas por meio do software CurveExpert Basic versão 2.2.3 e os gráficos de superfície de resposta foram construídos no software SigmaPlot versão 14.0.

Resultados e Discussão

A rápida taxa de oxidação fenólica dos explantes, sejam de segmentos nodais ou brotações epicórmicas obtidas a partir de árvores matrizes adultas de espécies lenhosa dificulta o seu estabelecimento *in vitro*. Diversos autores relatam a grande dificuldade de controlar ou diminuir a exsudação dos compostos fenólicos no meio de cultura. As enzimas polifenase oxidam os produtos químicos fenólicos, ocasionando um acúmulo dos mesmos no meio de cultura, sendo tóxicos aos explantes.

Houve um aumento da oxidação fenólica ao longo das avaliações realizadas. A concentração de 75 mg.L⁻¹ de ácido ascórbico foi a mais efetiva para o controle da oxidação fenólica em *A. urundeuva* (Figura 1.A). Os antioxidantes atuam na eliminação de radicais de oxigênio quando são produzidos, ajudando no processo de inibição ou prevenção de oxidação. A oxidação fenólica presente nos tratamentos com ácidos ascórbico está correlacionada a diversos fatores, como: calor, altos valores de pH, alta concentração de oxigênio no ambiente e luz. Portanto, sua eficácia irá diminuir ao longo do tempo, necessitando transferir para outro meio de cultura após 25 dias de subcultivo.

Figura 1: Valores médios da oxidação fenólica em plântulas de *A. urundeuva* subcultivadas em meio de cultura MS^{1/2}, suplementado com ácido ascórbico (A) e carvão ativado (B).



O modelo utilizado para ácido ascórbico foi: $F = 1,9598 - 0,0255 \cdot X + 0,2589 \cdot Y$ com coeficiente de determinação $R^2: 0,4917$ e para o carvão ativado $F = 3,1260 - 0,3583 \cdot X + 0,2083 \cdot Y$ com $R^2: 0,6259$, onde F é o número de explantes oxidados, X a concentração e Y os dias de avaliações.

As respostas aos tratamentos com carvão ativado evidenciaram uma correlação positiva para o aumento das concentrações do mesmo com a redução da oxidação fenólica no meio de cultura (Figura 1.B). O melhor tratamento com carvão ativado correspondeu à concentração de 12 g.L⁻¹, controlando em 100% a oxidação fenólica nos explantes de *A. urundeuva*. A eficiência do carvão ativado provavelmente deve-se à capacidade de adsorção da do mesmo, o que contribui na neutralização dos efeitos tóxicos dos fenóis no meio de cultura. No entanto, deve-se evitar o cultivo *in vitro* prolongado em meio de cultura suplementado com carvão ativado, pois este pode adsorver uma parcela considerável dos macro e micro nutrientes presentes nos meios de cultura, tornando-os indisponíveis para o explante e possivelmente causando déficits nutricionais ou baixo vigor (Tomaz et al., 2001).

De modo geral, este trabalho abre precedentes para maiores estudos relacionados à propagação de *A. urundeuva*, abrindo precedentes para pesquisas também com outras espécies florestais nativas sob risco de extinção ou com potencial de uso comercial ou para recuperação de áreas degradadas. A utilização de antioxidantes se tornou promissora para a fase de estabelecimento *in vitro* de *A. urundeuva*, recomendando sua utilização nos processos de micropropagação.

Conclusões

A presença de ácido ascórbico e carvão ativado no meio de cultura foram efetivos para o controle de oxidação fenólica das brotações apicais de *A. urundeuva* na fase de estabelecimento *in vitro*.

As concentrações de 75 mg.L⁻¹ e de 12 g.L⁻¹ de ácido ascórbico e de carvão ativado, respectivamente foram as mais eficientes no controle da oxidação fenólica no estabelecimento *in vitro* de *A. urundeuva*.

Agradecimentos/Apoio

Agradeço ao CNPq pelo financiamento do projeto de pesquisa, à CAPES e à FAPEMIG pela concessão de bolsas estudiantis de fomento à pesquisa.

Referências Bibliográficas

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

MURASHIGE, T.; SKOOG, F.. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. **Physiologia plantarum**, v. 15, n. 3, p. 473-497, 1962.

TOMAZ, M. L.; MENDES, B. M.; MOURÃO FILHO, F. A. A.; DEMÉTRIO, C. B.; JANSKUL, N.; RODRIGUEZ, A. P. M. Somatic embryogenesis in *Citrus* spp: carbohydrate stimulation and histodifferentiation. **In Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant**, v. 37, n. 4, p. 446-452, 2001.