

## DIFERENTES MEIOS DE CULTURA E ANTIOXIDANTES NO ESTABELECIMENTO *in vitro* DO JACARANDÁ DA BAHIA

### *DIFFERENT CULTURE MEDIA AND ANTIOXIDANTS in vitro ESTABLISHMENT OF JACARANDA DA BAHIA*

Fernanda Raquel SARTOR<sup>1</sup>; Rafael Fonsêca ZANOTTI<sup>2</sup>; Kátia Ferreira PÔSSA<sup>3</sup>; Anderson Martins PILON<sup>4</sup>; Claudio Hiroshi FUKUSHIMA<sup>5</sup>

1. Bióloga, Doutoranda em Fisiologia Vegetal, Universidade Federal de Viçosa – UFV, Viçosa, MG, Brasil.

fernanda\_sartor@biologa.bio.br; 2. Biólogo, Doutorando em Produção Vegetal, Universidade Federal do Espírito Santo – UFES, Alegre, ES, Brasil. faelzanotti@gmail.com; 3. Biotecnóloga, Doutoranda em Biotecnologia Vegetal, Universidade Federal de Lavras – UFLA, Lavras, MG; 4. Engenheiro agrônomo, Doutor em Bioquímica Agrícola - UFV, Viçosa, MG, Brasil; 5. Acadêmico Engenharia Agrônômica - UFV, Viçosa, MG, Brasil.

**RESUMO:** O Jacarandá da Bahia é uma espécie florestal nativa pertencente a família Leguminosae - Papilionoideae com ocorrência desde o sul da Bahia até o estado de São Paulo. O extrativismo e a pecuária contribuíram para a sua quase extinção e apesar disso, pouco tem sido feito para a multiplicação desta espécie. A micropropagação é uma alternativa para obtenção de grande quantidade de mudas sadias em curto espaço de tempo. Foram utilizados meristemas apicais e gemas axilares de plântulas de Jacarandá da Bahia, cultivadas em condições assépticas nos tratamentos compostos por meios de cultura (MS e WPM), concentrações de BAP (4, 9 e 18 µM) e com a ausência ou presença de agente antioxidante (PVP ou carvão ativado), totalizando 18 tratamentos, cada um com 10 repetições. As avaliações foram realizadas com 4 e 8 semanas de cultivo, considerando a porcentagem de explantes oxidados. Os meios de cultura de antioxidantes testados não diferiram estatisticamente entre si, porém tratamentos com BAP na concentração de 18 µM foram os que apresentaram maior oxidação.

**PALAVRAS-CHAVE:** Micropropagação. Carvão ativado. Meios de cultivo. PVP. *Dalbergia nigra*

### INTRODUÇÃO

O Jacarandá da Bahia é uma espécie florestal, nativa da mata atlântica, com características decíduas, pertencente à família Leguminosae-Papilionoideae e com ocorrência em formações florestais do complexo atlântico desde o sul da Bahia até o estado de São Paulo. Esta espécie tem altura de 12 a 15 m, possui casca fina pardo-acinzentada, que se descama em placas longitudinais, permitindo o aparecimento da madeira avermelhada-escura. As folhas são compostas, as flores pequenas, violáceas e perfumadas, os frutos são sâmaras, oblongo e as sementes achatadas, negras e lisas. Apresenta floração nos meses de janeiro a fevereiro e frutificando de março a agosto (LORENZI, 2002).

O extrativismo intenso, a abertura de estradas e a pecuária contribuíram para a ameaça de extinção. Pouco tem sido feito para a multiplicação das reservas naturais, pois faltam estudos sobre vários aspectos do desenvolvimento, mesmo assim os programas de reflorestamento vêm buscando explorar o potencial de espécies nativas, pelas condições adaptativas e por estas facilitarem o restabelecimento do equilíbrio entre a fauna e a flora, além da grande importância que essas espécies têm na produção de madeira e na conservação

ambiental (BERNARDINO et al., 2007; MARQUES et al., 2006).

A falta de interesse no plantio do jacarandá da Bahia é consequência da idéia difundida sobre o seu crescimento, considerado lento (GALVÃO et al., 1979). Diante disso as técnicas de cultura de tecidos de plantas surgem como uma alternativa ao método de propagação convencional. A técnica é baseada na totipotencialidade da célula vegetal, ou seja, na sua capacidade de, por si só, originar uma nova planta, (GRATTAPAGLIA; MACHADO, 1998).

A micropropagação além de disponibilizar maior quantidade de mudas em curto 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), porém cada espécie requer ajustes finos em seus protocolos afim de melhorar as condições de cultivo da planta.

Limitações comumente encontradas no cultivo *in vitro* das espécies lenhosas são as altas concentrações de compostos fenólicos, que acabam oxidando e matando o material vegetal e a promoção da abscisão foliar precoce, ocasionada pelo acúmulo de etileno nos tecidos submetidos ao ambiente *in vitro*, tornando o explante mais frágil e reduzindo o crescimento (KERBAUY, 2004).

Na literatura poucos são os trabalhos referentes à micropropagação do jacarandá da Bahia, importância da espécie, o grande valor de sua madeira e a ameaça de risco de extinção, torna-se imprescindível maior atenção e pesquisa para a disponibilidade de mudas, além da necessidade de estudos para superar ou amenizar os problemas com a oxidação fenólica na etapa de estabelecimento que de forma geral é enfrentado por todas espécies lenhosas quando submetidas ao cultivo *in vitro*.

Diante do exposto, objetivou-se avaliar o meio de cultura adequado para o estabelecimento *in vitro* de meristemas de Jacarandá da Bahia, visando à não oxidação fenólica.

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Cultura de Tecidos do Setor de Fisiologia Vegetal do Departamento de Biologia

Vegetal da Universidade Federal de Viçosa (UFV). Os meios de cultura tiveram seu pH ajustado para 5,7 antes da autoclavagem, que foi realizada a 120°C, por 15 minutos. O preparo do material vegetal e a inoculação no meio de cultura foram feitos em condições assépticas e as culturas mantidas em sala de crescimento com intensidade luminosa de 52  $\mu\text{moles.m}^{-2}\text{s}^{-1}$ , temperatura de 25  $\pm$  2°C e fotoperíodo de 16 horas.

Foram utilizados gemas apicais e axilares de Jacarandá da Bahia oriundos de plântulas anteriormente cultivadas *in vitro*. Os tratamentos foram compostos por 10 repetições, cada repetição contendo uma gema, totalizando 18 tratamentos, onde variaram-se os meios de cultura (MS e WPM), as concentrações de 6-benzilaminopurina - BAP (4; 9 e 18  $\mu\text{M}$ ) e a ausência ou presença de agentes antioxidantes (PVP (polivinilpropilona) e carvão ativado). Verificam-se na Tabela 1 os tratamentos utilizados.

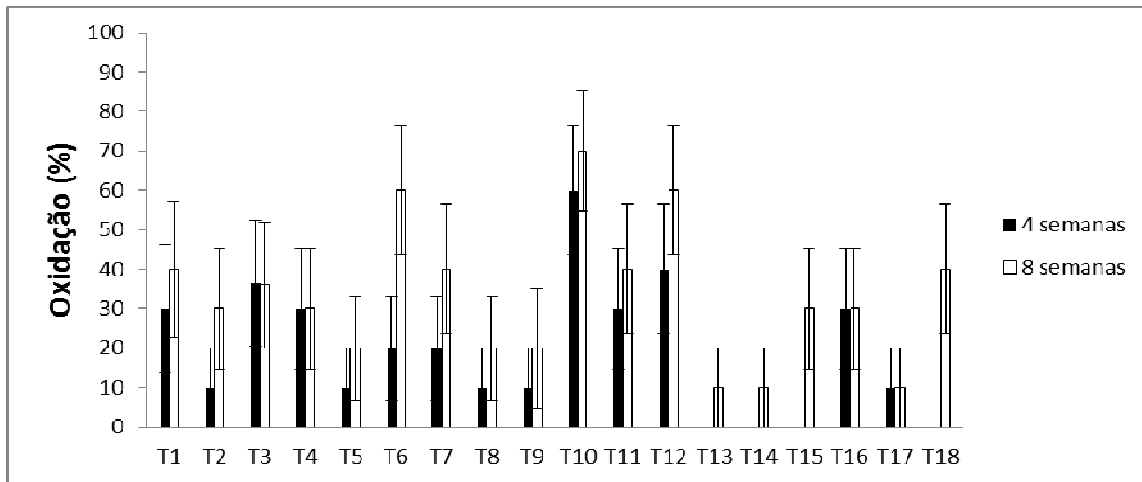
**Tabela 1.** Tratamentos utilizados para o estabelecimento de Jacarandá da Bahia.

Tratamentos	Meio de cultura	Antioxidante (1g.L <sup>-1</sup> )	BAP ( $\mu\text{M}$ )
T1	MS	PVP	4
T2	MS	PVP	9
T3	MS	PVP	18
T4	MS	Carvão ativado	4
T5	MS	Carvão ativado	9
T6	MS	Carvão ativado	18
T7	MS		4
T8	MS		9
T9	MS		18
T10	WPM	PVP	4
T11	WPM	PVP	9
T12	WPM	PVP	18
T13	WPM	Carvão ativado	4
T14	WPM	Carvão ativado	9
T15	WPM	Carvão ativado	18
T16	WPM		4
T17	WPM		9
T18	WPM		18

As avaliações referentes à presença ou ausência de explantes oxidados em meio de cultura e desenvolvimento dos explantes foram realizadas após quatro semanas de inoculação, quando ocorreu um sub cultivo utilizando dos mesmos meios de cultura, e após oito semanas de cultivo. O delineamento experimental foi fatorial 2 x 3 x 3 (meios de cultura, antioxidantes, concentrações de BAP) A análise dos dados foi feita pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade para cada período de inoculação.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Quando avaliado os resultados da quarta semana de cultivo, pode-se observar que os meios de cultura testados (MS e WPM) não diferiram entre si, porém, quando se trata do fator antioxidante, os tratamentos que continham PVP foram os que apresentaram explantes mais oxidados, enquanto que tratamentos sem antioxidantes e com carvão ativado não apresentaram diferenças (Figura 1).



**Figura 1.** Percentagem de oxidação em explantes de Jacaradá da Bahia submetidos a diferentes tratamentos e avaliados com quatro e oito semanas de inoculação.

O resultado encontrado por Siqueira e Inque (1991), entretanto, foi de que o PVP no meio de cultura na concentração de  $1\text{g.L}^{-1}$  não diminuiu a oxidação de explantes de coqueiro. Da mesma maneira, BIASI (1999) não encontraram efeito antioxidante do PVP no isolamento de caquizeiro, mesmo em concentrações de 10 e  $20\text{g.L}^{-1}$ . Os resultados encontrados neste trabalho concordam com os obtidos pelos autores citados anteriormente no que se refere a falta de efeito do antioxidante PVP para a oxidação de explantes. Para o fator concentração de BAP, os tratamentos com  $9\ \mu\text{M}$  foram os que aparentemente apresentaram menos formação de fenóis, enquanto que com 4 e  $18\ \mu\text{M}$  não houve diferenças.

Na oitava semana de cultivo, os dados quanto ao meio de cultura utilizado se mantiveram constantes para a oxidação, como na quarta semana. O efeito dos antioxidantes também não diferiu neste período de observação, nem um dos utilizados mostrou superioridade. Provavelmente isso aconteceu, pois a espécie trabalhada é lenhosa e necessita de elevadas concentrações de antioxidantes para ser efetivo no combate ou diminuição de fenóis, como se pode observar em trabalhos realizados por Carvalho et al. (1990), que

ao testarem diferentes concentrações de PVP no isolamento de eucalipto, encontraram como melhor tratamento, a concentração de  $10\text{g.L}^{-1}$ . Principalmente por causa de características lenhosas, em que o antioxidante associado ao meio de cultura tem função na diminuição da formação de fenóis produzidos pelo próprio explante nas condições de cultivo.

## CONCLUSÕES

Meios de cultura MS e WPM foram indiferentes na diminuição da oxidação de meristemas apicais e gemas axilares de Jacarandá da Bahia.

Os antioxidantes e concentrações testadas não apresentaram respostas diferentes quando comparados.

## AGRADECIMENTOS

Ao Centro Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico e a Fundação de Pesquisa e Ensino de Minas Gerais pelo auxílio financeiro e concessão das bolsas.

**ABSTRACT:** *Dalbergia nigra* is a native forest species belonging the Papilionoideae-Leguminosae family occurring from southern Bahia to the state of Sao Paulo. The extraction and livestock contributed to its near extinction and yet little has been done to the multiplication of this species. The micropropagation techniques are an alternative in order to achieve a large amount of seedlings in a short time and under conditions plant without diseases. Used apical and lateral meristems of *Dalbergia nigra* seedlings, grown in aseptic conditions in treatments consisting of different culture media (MS and WPM), BAP concentrations (4, 9 and  $18\ \mu\text{M}$ ) and the absence or presence of antioxidant agent (PVP or activated charcoal), all crossed each other, totaling 18 treatments, each with 10 repetitions. Evaluations were performed at 4 and 8 weeks of cultivation, considering the percentage of browning explants. The culture media of antioxidants tested did not differ statistically, but BAP at a concentration of  $18\ \mu\text{M}$  were those with the highest oxidation.

**KEYWORDS:** Micropropagation. Activated charcoal. PVP. Culture medium. *Dalbergia nigra*.

**REFERÊNCIAS**

- AUGUSTO, C. S. S. Micropropagação de amoreira-preta cv. Brazos. 2001.116p. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2001.
- BARBOZA, S. B. S. C.; CALDAS, L. S. Estiolamento e regeneração na multiplicação *in vitro* do abacaxizeiro híbrido PExSC – 52. Revista Pesquisa Agropecuária Brasileira, v.36, n.3, p.417-423, 2001.
- BERNARDINO, D. C. S.; PAIVA, H. N.; NEVES, J. C. L.; GOMES, J. M.; MARQUES, V. B. Influência da saturação por bases e da relação Ca:Mg do substrato sobre o crescimento inicial de Jacarandá da Bahia (*Dalbergia nigra* (Vell.) Fr. All. ex Benth). Revista Árvore, Viçosa, v. 31, n. 4, p. 567-573, 2007.
- BIASI, L. A. et al. Estabelecimento *in vitro* do caquizeiro “Fuyu” por meio de ápices meristemáticos. Revista Brasileira de Fruticultura, Jaboticabal, v. 21, n. 3, p. 279-283, 1999.
- CARVALHO, D.; PINTO, J. E. B. P.; PASQUAL, M. Uso de fungicida e antioxidantes em cultura *in vitro* de segmentos nodais ou *Eucalyptus grandis* Hill ex Maiden. Revista Ciência e Prática, Lavras, v. 14, n. 1, p. 97-106, 1990
- GALVÃO, A. P. M., FERREIRA, C. A.; TEIXEIRA, L. B. Observações sobre o comportamento do Jacarandá da Bahia (*Dalbergia nigra* Fr. Allem) em Povoamento puro na Amazônia. IPEF, n. 19, p. 47-59, dez/1979.
- 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, EMBRAPA-SPI, EMBRAPA-CNPQ, 1998, v. 1, p. 183-260.
- KERBAUY, G. B. Fisiologia vegetal. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. 452p.
- LORENZI, H. Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. 4. ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2002. v. 1, 352 p.
- MARQUES, V. B.; PAIVA, H. N.; NEVES, J. C. L.; GOMES, J. M.; BERNARDINO, D. C. S. Efeito de fontes e doses de nitrogênio sobre o crescimento inicial e qualidade de mudas de Jacarandá da Bahia (*Dalbergia nigra* (Vell.) Fr. All. ex Benth). Revista Árvore, Viçosa, v. 30, n. 5, p. 725-735, 2006.
- SIQUEIRA, E. R.; INQUE, M. T. Controle de oxidação na cultura de tecidos de coqueiro. Revista Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília, v. 26, n. 7, p. 949-953, 1991.