

**TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO**

**ENGENHARIA FLORESTAL**

**GERMINAÇÃO E CULTIVO *IN VITRO* DE BARBATIMÃO**

**KAROLINE FERREIRA MARTINS**



**Karoline Ferreira Martins**

## **GERMINAÇÃO E CULTIVO *IN VITRO* DE BARBATIMÃO**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial, para a obtenção do título de Bacharel em Engenharia Florestal.

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Lourdes Silva de Figueiredo

Co orientadora: Prof.<sup>a</sup> Claudineia Ferreira Nunes

Montes Claros

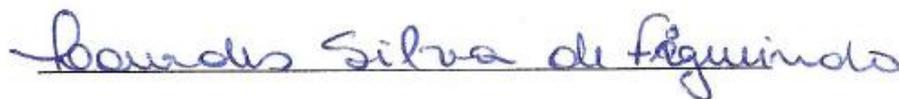
2017

Karoline Ferreira Martins. Germinação e cultivo *in vitro* de Barbatimão

Aprovada pela banca examinadora constituída por:

Karoline Paulino Costa – Doutoranda ICA/UFMG

Prof<sup>a</sup> Claudineia Ferreira Nunes – ICA/UFMG



Prof<sup>a</sup> Lourdes Silva de Figueiredo – Orientadora ICA/UFMG

Montes Claros, 28 de novembro de 2017.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeiramente a Deus, por ter me concedido à vida, me dado saúde e força para superar as dificuldades, além de sempre me cercar por pessoas boas.

Ao meu pai Abraão, que embora tenha partido cedo, me deixou lições que levarei por toda a minha vida. À minha mãe Cleide, por ser o meu maior exemplo de coragem, força, persistência e dedicação. Aos meus irmãos Francine, Francielle e Ernane pelos conselhos e apoio durante esta jornada.

Aos meus colegas da V Turma de Engenharia Florestal, por toda ajuda, apoio e paciência. Aos docentes, por todos os ensinamentos que foram fundamentais para a minha formação.

À Lourdes e Claudineia, por toda paciência, ensinamentos, correções, orientação além da amizade e apoio. Vocês foram fundamentais para a minha formação e amadurecimento pessoal e profissional.

À Karla e Fátima, pela ajuda e apoio para realização dos meus trabalhos. Aos laboratórios de Plantas Medicinais, Botânica Sistemática e Fisiologia Vegetal, e Biotecnologia por toda a estrutura proporcionada, além da ajuda.

À Nermy, por toda a paciência e ajuda fundamental para finalização deste trabalho.

À UFMG, especialmente o Instituto de Ciências Agrárias, pela oportunidade de me tornar Engenheira Florestal.

*“Força para lutar, fé para vencer!”*

Chorão

## RESUMO

*Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville, popularmente conhecido como barbatimão é uma espécie arbórea nativa do Cerrado, com diversas propriedades medicinais e potencial para exploração econômica. A produção de mudas da espécie é dificultada pela dormência das sementes, baixas taxas de germinação, além da contaminação das sementes. Com isso, o objetivo deste trabalho foi avaliar a influência de óleos de capim santo, alfavacão, alecrim pimenta e rosmaninho na sanidade e germinação de sementes de barbatimão sob condições convencionais e *in vitro*, e estabelecer um protocolo para a micropropagação da espécie. Foram realizados 4 experimentos: (1) Teste de germinação de sementes de barbatimão tratadas com óleos essenciais, onde avaliou-se o efeito dos óleos essenciais na germinação e sanidade das sementes; (2) Estabelecimento *in vitro* de sementes de barbatimão, no qual realizou-se teste de germinação *in vitro*, de forma a avaliar a germinação e sanidade das sementes; (3) Multiplicação e Alongamento de segmentos nodais de barbatimão: no qual avaliou-se o efeito de cinco doses de BAP no alongamento de segmentos nodais e (4) Enraizamento de segmentos nodais de barbatimão: onde avaliou-se a influência de cinco doses de AIB no enraizamento de segmentos nodais. Para o experimento 1 verificou-se que os óleos essenciais utilizados não geraram diferenças estatísticas sobre a germinação, sendo que apenas o óleo essencial de alfavacão ocasionou uma redução no IVG. Para o experimento 2 observou-se resultado similar, sendo que os tratamentos com hipoclorito e óleo essencial de capim santo promoveram menor porcentagem de sementes contaminadas. Para o experimento 3, notou-se que a ausência do BAP foi mais eficiente que os demais tratamentos aplicados. Para o experimento 4, observou-se que a ausência de AIB no meio de cultivo promoveu maior enraizamento dos explantes. A partir deste trabalho, pode-se concluir que os óleos essenciais são agentes sanitizantes potenciais para sementes de *S. adstringens*. Além disso, a espécie apresenta boa resposta para o cultivo *in vitro*, sem a necessidade de aplicação de hormônios ao meio de cultura.

**Palavras-chave:** *Stryphnodendron adstringens*, Plantas medicinais, Cerrado, micropropagação, cultura de tecidos vegetais

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Árvore de [ <i>Stryphnodendron adstringens</i> (Mart.) Coville] em área de cerrado.....	13
Figura 2 - Frutos e sementes de <i>Stryphnodendron adstringens</i> (Mart.) Coville.....	17
Figura 3 - Aparelho Clevenger – Utilizado para extração dos óleos essenciais.....	18
Gráfico 1 – Parte aérea .....	24
Gráfico 2 –Número de Brotos.....	25
Gráfico 3 -Número de folhas.....	25
Figura 4 – Influência de concentrações de Ácido indolbutírico (AIB) sobre o desenvolvimento de explantes de <i>S. adstringens</i> .....	29
Figura 5 - Explante de <i>Stryphnodendron adstringens</i> com a formação de raízes .....	31

## LISTA DE TABELAS

TABELA 2 –Valores médios para o Índice de Velocidade de Germinação (IVG) de sementes de <i>Stryphnodendron adstringens</i> (Mart.) Coville tratadas com óleos essenciais e coletadas do solo e da planta.....	22
TABELA 3 - Valores médios para porcentagem de sementes germinadas de <i>Stryphnodendron adstringens</i> (Mart.) Coville tratadas com óleos essenciais e coletadas do solo e da planta.....	22
TABELA 4 - Valores médios para porcentagem de sementes contaminadas de <i>Stryphnodendron adstringens</i> (Mart.) Coville tratadas com óleos essenciais e coletadas do solo e da planta.....	23
TABELA 5 - Médias obtidas no teste de germinação <i>in vitro</i> de sementes de <i>Stryphnodendron adstringens</i> (Mart.) Coville .....	25
TABELA 6 - Valores médios para o número de brotos de <i>Stryphnodendron adstringens</i> (Mart.) Coville sob diferentes doses de BAP e duas qualidades de luz.....	26

## **LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS**

**AIA** – Ácido indolacético

**AIB** – Ácido indolbutírico

**BAP** - 6 – benzilaminopurina

**IVG** – Índice de velocidade de germinação

**PVP** – Polivinilpolipirrolidona

**BOD** - Biochemical Oxygen Demand

**DIC** – Delineamento Inteiramente Casualizado

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	10
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	11
2.1 O CERRADO .....	11
2.2 EXTRATIVISMO NO CERRADO.....	11
2.3 PLANTAS MEDICINAIS .....	12
2.4 A ESPÉCIE <i>Stryphnodendron adstringens</i> (Mart.) Coville .....	12
2.4.1 POTENCIAL ECONÔMICO E PROPRIEDADES MEDICINAIS DE <i>S. adstringens</i> .....	13
2.5 GERMINAÇÃO DE SEMENTES FLORESTAIS.....	14
2.6 TRATAMENTOS CONVENCIONAIS E ALTERNATIVOS .....	15
2.7 ÓLEOS ESSENCIAIS .....	16
2.8 MICROPROPAGAÇÃO .....	16
2.9 REGULADORES DE CRESCIMENTO.....	17
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	17
3.1 COLETA, BENEFICIAMENTO E PREPARO DAS SEMENTES .....	17
3.2 EXTRAÇÃO DOS ÓLEOS ESSENCIAIS .....	18
3.3 TRATAMENTOS, DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E AVALIAÇÕES .....	19
3.2.1 Teste de germinação de sementes de <i>Stryphnodendron adstringens</i> (Mart.) Coville tratadas com óleos essenciais: .....	19
3.2.2 Estabelecimento in vitro de sementes de <i>Stryphnodendron adstringens</i> (Mart.) Coville:.....	19
3.2.3 Multiplicação e Alongamento de segmentos nodais de <i>Stryphnodendron adstringens</i> (Mart.) Coville:.....	20
3.2.4 Enraizamento de segmentos nodais de <i>Stryphnodendron adstringens</i> (Mart.) Coville:.....	20
3.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA .....	21
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	22
4.1 Teste de germinação de sementes de <i>Stryphnodendron adstringens</i> (Mart.) Coville tratadas com óleos essenciais: .....	22
4.2 Estabelecimento in vitro de sementes de <i>Stryphnodendron adstringens</i> (Mart.) Coville:.....	24
4.3 Multiplicação e Alongamento de segmentos nodais de <i>Stryphnodendron adstringens</i> (Mart.) Coville:.....	25
4.4 Enraizamento de segmentos nodais de <i>Stryphnodendron adstringens</i> (Mart.) Coville: .....	28
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	30

6 CONCLUSÃO.....	31
REFERÊNCIAS .....	10

## 1 INTRODUÇÃO

O Cerrado é o segundo maior bioma em extensão do Brasil, apresentando grande biodiversidade e com amplo potencial para exploração econômica de muitos produtos oriundos de seus recursos naturais. Há espécies vegetais com potencial para exploração econômica, tais como o pequizeiro, coquinho azedo, fava d'anta e barbatimão.

A espécie *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville popularmente conhecido como barbatimão pertence à família Fabaceae, subfamília Mimosoideae. É nativa e endêmica do Brasil, sendo de interesse econômico (MEIRA *et al.*, 2016). A madeira pode ser utilizada na construção civil e marcenaria, e as cascas e folhas são ricas em taninos. A casca é empregada popularmente como cicatrizante, adstringente e antisséptica.

Barbatimão vem sofrendo grande pressão pelo extrativismo predatório, e desmatamento das suas áreas de ocorrência. Não existem plantios comerciais da espécie, o que pode ser justificado pela dificuldade de produção de mudas. Como muitas espécies florestais silvestres, as sementes de barbatimão apresentam dormência tegumentar, e altos níveis de contaminação por microrganismos, que provocam a redução da taxa de germinação e prejudicam a sobrevivência das mudas no campo.

Com isso, estudos relacionados com a germinação e propagação via cultura de tecidos da espécie são importantes para subsidiar o processo de produção de mudas de boa qualidade, garantindo a sua conservação.

Diante do exposto, objetivou-se estudar a influência de óleos essenciais de *Cymbopogon citratus*, *Ocimum gratissimum*, *Lippia origanoides* e *Lippia rotundifolia* na sanidade e germinação de sementes de barbatimão sob condições convencionais e *in vitro*, e estabelecer um protocolo para a micropropagação da espécie.

## **2 REFERENCIAL TEÓRICO**

### **2.1 O CERRADO**

O bioma já ocupou uma área de cerca de dois milhões de km<sup>2</sup>. É o segundo maior bioma brasileiro, ocupando cerca de 25% de todo o território nacional. Apresenta biodiversidade rica, porém pouco conhecida. Essa riqueza ocorre devido à diversidade de ambientes encontrados neste bioma, tais como o campo cerrado e cerrado (MACHADO, 2004; SCARIOT; SOUZA-SILVA; FELFILI, 2005;).

Além disso, o bioma apresenta diversidade de povos e comunidades, tais como os indígenas, quilombolas, ribeirinhos, quebradeiras de coco babaçu, geraizeiros, sertanejos, vazanteiros, ciganos, e diversas comunidades de agricultura familiar. Tais povos utilizam os recursos naturais como fonte de renda e também como forma de sobrevivência (FILIZOLA, 2013). Segundo o mesmo autor, o Cerrado apresenta grande diversidade de produtos da biodiversidade, tais como o pequi, baru, jatobá, cagaita, araticum, coquinho azedo, fava d'anta, entre muitos outros. Contudo existem muitas limitações ao uso sustentável dos recursos, sendo o principal o desmatamento.

De acordo com Brasil (2003), cerca de 50% de todo o território do Cerrado foi devastado. Sua biodiversidade está ameaçada pelo avanço da fronteira agrícola, além da exploração das espécies para variados fins (MENDES; MARTINS; FIGUEIREDO, 2013). Segundo Machado (2005), a situação do bioma é crítica e até 2030 estará completamente devastado.

Para que seja conservado, é necessário que se conheça a biodiversidade presente, demonstrando toda a sua importância para manutenção dos ecossistemas, bem como a formulação de ações políticas que valorizem as comunidades tradicionais, as quais são dependentes deste bioma por meio do extrativismo de produtos madeireiros e não-madeireiros (TURINI; MACEDO, 2013).

### **2.2 EXTRATIVISMO NO CERRADO**

Para algumas comunidades, o extrativismo de espécies medicinais do cerrado constitui uma forma de garantia da sobrevivência, tendo em vista as dificuldades de estabelecimento de culturas de subsistência, que se dão predominantemente pela escassez de água, fertilidade inadequada dos solos e à falta de investimentos (NUNES *et al.*, 2012).

Segundo Filizola (2013), o cerrado possui um grande potencial para a exploração extrativista e econômica. Existem vários produtos úteis para o homem, seja como alimentação, remédios, utensílios, ferramentas, artesanatos. Tais produtos podem ser oriundos de flores, frutos, folhas, raízes, látex, resinas ou óleos.

Muitas espécies do cerrado apresentam potencial econômico (que pode ser conferido por propriedades medicinais ou para uso madeireiro) e sofrem com o extrativismo predatório, que é realizado por agricultores regionais, com o objetivo de expandir seus lucros (AVIDOS; FERREIRA, 2000).

### **2.3 PLANTAS MEDICINAIS**

Plantas medicinais são definidas como aquelas espécies que podem atuar no combate a doenças, causando destruição ou inibição do desenvolvimento de organismos patogênicos. A utilização de espécies medicinais é feita desde a antiguidade, sendo uma técnica muito antiga (RODRIGUES; CARVALHO, 2001).

As propriedades medicinais são conferidas devido à presença dos princípios ativos, que são substâncias que podem causar reações nos organismos vivos. Os princípios ativos são produzidos por meio do metabolismo secundário das plantas, que é resultado da interação planta com o ambiente, e podem ser alcaloides, heterosídeos, óleos essenciais, taninos, ácidos orgânicos, compostos inorgânicos e mucilagens (RODRIGUES; CARVALHO, 2001).

Segundo Martins *et al.* (2000), cerca de metade de todas as espécies vegetais existentes no Brasil apresenta potencial para uso terapêutico, contudo, menos de 1% destas espécies foram devidamente estudadas. Como exemplo, pode-se citar o levantamento realizado por Brandão, Gomes e Nascimento (2006), que estudou 23 espécies nativas do Brasil com propriedades medicinais, e constatou que apenas 43,5% destas têm produto registrado pela ANVISA. Dentre as espécies com propriedades medicinais, estão o pequi, coquinho azedo, fava d'anta e o barbatimão.

### **2.4 A ESPÉCIE *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville**

*Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville, conhecido popularmente como barbatimão, abaramotemo, barba-de-timan, barbatimão verdadeiro, barbatimão vermelho, casca da mocidade, ibatimô ou uabatimó é uma espécie arbórea pertencente à família Fabaceae subfamília Mimosoideae (LORENZI, 2008). Apresenta ampla distribuição,

predominantemente no cerrado. Ocorre nos estados do Tocantins, Bahia, Distrito Federal, Goiás, Mato Grosso do Sul, Mato Grosso, Minas Gerais, São Paulo e Paraná, nos domínios do Cerrado e Caatinga, em áreas de campos rupestres e cerrado (Lato sensu). É uma espécie endêmica no Brasil (SCALON, 2015). Pode alcançar até 5 metros de altura, apresentando tronco tortuoso e cascudo. As folhas são recompostas, alternas, as flores são pequenas, amareladas e os frutos são vagens cilíndricas indeiscentes, com cerca de 6 a 9 cm de comprimento, com sementes de cor parda (LORENZI, 2008). A floração ocorre de setembro à novembro e a frutificação ocorre de novembro a junho (ALMEIDA *et al.*, 1998).

A planta produz diversos compostos químicos através do metabolismo secundário, que agregam à espécie propriedades medicinais, e conseqüentemente potencial para explosão econômica (MEIRA, 2012).



**Figura 1** – Árvore de [*S. adstringens* (Mart.) Coville] em área de cerrado.

#### **2.4.1 POTENCIAL ECONÔMICO E PROPRIEDADES MEDICINAIS DE *S. adstringens***

A madeira do barbatimão apresenta coloração avermelhada no cerne com fibras reversas, indicada para a construção civil, obras expostas, marcenaria e torno. Sua casca

apresenta composição rica em taninos, sendo empregada na indústria de curtume. Segundo Lorenzi (2008), a madeira gera cinzas pelas quais se pode extrair a dicoada, substância que pode substituir a soda cáustica no processo de fabricação de sabão artesanal. De acordo com Nicioli (2006), a espécie pode ser empregada na recuperação de áreas degradadas e no paisagismo. A casca é empregada na medicina popular para tratamento de afecções escorbúicas, gonorreia, hérnia, hemorragias, diarreias. Também apresenta propriedades cicatrizante, adstringente, anti-séptica e hemostática (ALMEIDA *et al.*, 1998). Segundo Lorenzi (2008), o decocto das cascas de barbatimão também é empregado popularmente no tratamento de leucorreia, hemorroidas, conjuntivite e na limpeza de ferimentos. Segundo Teixeira (2009), a atividade cicatrizante da espécie está associada à presença de taninos condensados. É uma espécie de grande potencial para emprego na medicina, contudo um fator que pode ser limitante é a sua toxidez.

O barbatimão já tem cadeia produtiva consolidada, sendo capaz de gerar renda em um curto prazo de tempo, contudo ainda são escassos os estudos relacionados com a sua domesticação. Com isso, o potencial para extrativismo da espécie tende a ser reduzido, além de ser substituído por outras atividades (BORGES FILHO; FELFILI, 2003). A espécie é propagada exclusivamente via sementes. Contudo, ainda são escassos na literatura estudos que relacionem as melhores condições para a germinação, o que limita o processo de produção de mudas (QUEIROZ, 2014).

## **2.5 GERMINAÇÃO DE SEMENTES FLORESTAIS**

Pode-se definir a germinação como o conjunto de processos, que vão desde a embebição de água pela semente, até a protrusão radicular. A definição do processo de varia de acordo com o objetivo. Como exemplo, pode-se citar que um viveirista ou um produtor rural define como a emergência da plântula no solo, enquanto que para um analista sementes, é considerada como germinada quando ela produzir todas as estruturas essenciais para desenvolvimento de uma planta normal, produzindo todas as estruturas essenciais, que são: raiz primária, hipocótilo, cotilédones, epicótilo e plúmula (DAVIDE; SILVA, 2008).

É crescente o interesse na produção de mudas de espécies arbóreas nativas, para utilização na recuperação de áreas degradadas ou recompor a vegetação nativa. O processo de produção de mudas é uma fase essencial para todo o processo de produção florestal (SILVA *et al.*, 2011). Para espécies que apresentam dificuldade para germinação, pode-se recorrer à

germinação *in vitro*, que a mantém sob condições assépticas, podendo ser fonte de explantes para experimentos com micropropagação (MARTINOTTO *et al.*, 2007)

### **2.5.1 GERMINAÇÃO *IN VITRO***

O cultivo *in vitro* constitui uma alternativa importante para obtenção de mudas bem como a conservação de recursos genéticos de espécies de interesse cuja propagação é difícil. O processo de germinação *in vitro* é importante para a conservação de bancos de germoplasma, uma vez que possibilita a obtenção de mudas a partir de sementes que possuem algum impedimento quando expostas às condições convencionais (NICIOLI, 2006). O cultivo *in vitro* é importante tanto para uma propagação massal eficiente, quanto para o fornecimento de explante, para uso na micropropagação, ou como ferramenta para a aplicação de outras técnicas biotecnológicas.

No processo de germinação *in vitro*, utilizam-se tratamentos aplicados às sementes (agentes desinfestantes), de forma a garantir a ausência de patógenos (NASCIMENTO; FRANCO; FRASSETO, 2007).

### **2.6 TRATAMENTOS CONVENCIONAIS E ALTERNATIVOS**

De acordo com Machado (2000), o tratamento de sementes pode ser definido genericamente como qualquer procedimento relacionado com a semente, que pode ser o manejo ou incorporação de agentes químicos ou biológicos, ou emprego de produto físico, de maneira a garantir ou melhorar o desempenho no campo. Segundo o mesmo autor, no controle de patógenos associados nas sementes, podem-se utilizar métodos químicos, físicos ou biológicos, ou o conjunto destes. De acordo com Machado (2008), o uso de defensivos agrícolas em sementes pode comprometer a qualidade do produto final, além de gerar problemas com a poluição gerada a partir de seu uso inadequado, resultando também em riscos para a saúde humana e animal.

Os tratamentos convencionais são aqueles em que se utilizam produtos químicos, sendo de alta toxicidade, baixo custo e com boa eficiência (SILVA *et. al.*, 2011). Segundo Amaral (2005), estes produtos geram resíduos que ocasionam impactos negativos sobre o homem e ambiente, além da possibilidade do desenvolvimento de resistência por meio dos patógenos. Já os tratamentos alternativos são feitos à base de extratos de plantas.

De acordo com Daronco (2013), é de grande importância a busca por produtos alternativos aos agrotóxicos empregados no tratamento de sementes. O uso de extratos de plantas, assim como óleos essenciais em substituição aos pesticidas químicos vêm sendo pesquisados, por apresentarem ação antimicrobiana frente aos microorganismos presentes em sementes. As propriedades de tais compostos dependem da espécie utilizada, do tipo de patógeno, e também do processo utilizado na extração dos óleos essenciais. Apresentam como vantagem a menor toxidez para o homem e ambiente, com eficiência comprovada.

## **2.7 ÓLEOS ESSENCIAIS**

Os óleos essenciais são compostos de substâncias orgânicas voláteis, que apresentam consistência similar à de óleos, possuindo odor agradável em muitos casos. Podem ser obtidos por meio da extração em diversas partes das plantas. São empregados largamente na indústria farmacêutica, cosmética, alimentícia e de bebidas, objetivando-se evitar a degradação lipídica, a oxidação e problemas de contaminação por microorganismos (MIRANDA *et al.*, 2016; RODRIGUES; CARVALHO, 2001). Além disso, os óleos essenciais podem ser aplicados na micropropagação, de forma a manter os explantes livres de agentes patogênicos (SPINARDI *et al.*, 2011).

Segundo Morais (2009), a composição química dos óleos essenciais é variável, sendo determinada por diversos fatores, como a genética e condições ambientais a que a planta está submetida, além de outros fatores que podem direcionar a rota metabólica de produção destes compostos: tais como a época e horário de coleta do material para extração.

## **2.8 MICROPROPAGAÇÃO**

A micropropagação é a técnica de maior destaque da cultura de tecidos, e tem como objetivo principal clonar indivíduos, em escala industrial com altas taxas de crescimento, produtividade, resistência a pragas e doenças, além de tolerar situações de estresse abiótico (DUTRA *et al.*, 2009). A técnica já apresenta aplicação comercial, uma vez que permite a obtenção de mudas com elevada qualidade durante todo o ano, contribuindo também para a produção de mudas de espécies cujas sementes tenham baixo poder germinativo (PAIM, 2014). Segundo o mesmo autor, a técnica é utilizada em espécies florestais para amenizar problemas relacionados com a propagação seminal, tais como a

dormência das sementes, a perda da viabilidade conforme o tempo de armazenamento, a dificuldade de coleta, e a produção irregular de sementes.

De acordo com Couto *et al.* (2004), há certa dificuldade para o estabelecimento de espécies florestais *in vitro*, principalmente quando os explantes são procedentes de indivíduos adultos, o que aumenta as chances de contaminação por patógenos. Com isso, o emprego de plântulas obtidas a partir da germinação *in vitro*, sob condições controladas torna-se interessante para a obtenção de explantes para a futura multiplicação da espécie.

No cultivo *in vitro*, a fim de melhorar as repostas da cultura, é indicado adicionar-se ao meio de cultivo reguladores de crescimento, fatores essenciais para o sucesso da multiplicação da cultura (XAVIER; WENDLING; SILVA, 2009).

## **2.9 REGULADORES DE CRESCIMENTO**

Hormônios vegetais ou fitormônios são compostos orgânicos sintetizados na planta, ocasionando alguma resposta fisiológica. Já os reguladores de crescimento vegetal são substâncias sintéticas, que atuam como hormônios, influenciando o crescimento e desenvolvimento das plantas. Os reguladores mais utilizados no processo de micropropagação de plantas são: as auxinas e citocininas (XAVIER; WENDLING; SILVA, 2009).

Segundo os mesmos autores, as auxinas podem promover o alongamento de coleótilos, divisão celular e enraizamento adventício. Dentre as auxinas sintéticas com aplicação na cultura de tecidos vegetais, destaca-se o ácido indol-3-butírico (AIB). As citocininas podem promover a divisão e diferenciação celular. Dentre as citocininas sintéticas, destaca-se a 6-benzilaminopurina (BAP).

## **3 MATERIAL E MÉTODOS**

Os experimentos foram conduzidos nos Laboratórios de Botânica Sistemática/Fisiologia Vegetal, Plantas Medicinais e Biotecnologia do Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Minas Gerais (ICA/UFMG) entre os meses de setembro de 2016 a setembro de 2017.

### **3.1 COLETA, BENEFICIAMENTO E PREPARO DAS SEMENTES**

Frutos de barbatimão (Figura 2) foram coletados em setembro de 2016, no distrito de São Gonçalo do Rio das Pedras, município Serro, Minas Gerais, e armazenadas em sacos plásticos até o beneficiamento, que foi realizado em outubro do mesmo ano, com auxílio de

tesoura de poda. As sementes foram armazenadas em sacos de papel Kraft em temperatura ambiente (aproximadamente 25°C) até a montagem dos experimentos (aproximadamente dois meses). Para os testes de germinação, as sementes foram escarificadas com lixa para madeira.



**Figura 2** – Frutos e sementes de *Stryphnodendron adstringens*

### 3.2 EXTRAÇÃO DOS ÓLEOS ESSENCIAIS

Coletou-se folhas de *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf, (capim-santo); *Lippia origanoides* Kunth. (alecrim-pimenta); *Ocimum gratissimum* L. (alfavacão); *Lippia rotundifolia* Cham. (rosmaninho), no Horto Medicinal do Instituto de Ciências Agrárias da UFMG. O material foi levado à estufa de circulação forçada de ar à 45°C até obter peso constante. Após secagem, realizou-se a extração dos óleos essenciais, por meio da técnica de hidrodestilação, com o aparelho clevenger adaptado (Figura 3).



**Figura 3** – Clevenger Adaptado, utilizado para extração dos óleos essenciais.

### 3.3 TRATAMENTOS, DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E AVALIAÇÕES

Para o presente trabalho, realizaram-se quatro experimentos:

#### 3.2.1 Teste de germinação de sementes de *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville tratadas com óleos essenciais:

Utilizou-se o DIC, em esquema fatorial 2X6, com duas procedências de sementes (sementes coletadas do solo e sementes coletadas diretamente da planta), e seis agentes desinfestantes aplicados às sementes: óleos essenciais de *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf, (capim-santo); *Lippia origanoides* Kunth. (alecrim-pimenta); *Ocimum gratissimum* L. (alfavacão); *Lippia rotundifolia* Cham. (rosmaninho), vitavax-thiran e Tween 80, com concentração de 1%, com 4 repetições de 50 sementes.

O teste foi conduzido segundo metodologia proposta por Brasil (2009), com substrato de rolo de papel, onde as sementes foram dispostas sobre duas folhas de papel germitest umedecido com água estéril. Foram levadas à câmara de germinação do tipo BOD, com temperatura de 25°C e fotoperíodo de 12 horas. O teste teve duração total de 14 dias.

Para este experimento, foram realizadas avaliações diárias, onde calculou-se o Índice de velocidade de germinação (IVG), calculado de Maguire (1962), sendo:  $IVG = (G1 / N1) + (G2 / N2) + \dots + (Gn / Nn)$ , onde: G1 = número de sementes germinadas na primeira contagem; N1 = número de dias decorridos até a primeira contagem; G2 = número de sementes germinadas na segunda contagem; N2 = número de dias decorridos até a segunda contagem; n = última contagem. Calculou-se também a porcentagem de germinação, considerando-se como germinadas aquelas sementes que tiveram a protusão radicular e a porcentagem de sementes contaminadas, considerando as que apresentaram aspecto de contaminação por bactérias ou fungos.

#### 3.2.2 Estabelecimento *in vitro* de sementes de *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville:

Para este experimento, utilizou-se sementes aleatórias (coletadas do solo e da planta), aplicou-se o Delineamento Inteiramente Casualizado (DIC), com os tratamentos: óleos essenciais de capim-santo; alecrim-pimenta; alfavacão; rosmaninho, hipoclorito de sódio e Tween 80, com concentração de 1%. Cada tratamento contou com 15 repetições, constituídas por tubo de ensaio contendo um explante (semente).

As sementes passaram por lavagem durante 1 minuto em água destilada, e imersão durante 30 segundos em etanol 70% (v/v). Em câmara de fluxo laminar, as sementes foram imersas em cada um dos tratamentos durante 15 minutos. Em seguida, realizou-se a tríplice lavagem em água estéril. Após a aplicação dos tratamentos, inoculou-se individualmente as sementes em tubos de ensaio contendo 15 mL de meio de cultura MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962), adicionado de 7 g L<sup>-1</sup> de ágar, 30 g L<sup>-1</sup> de sacarose e pH ajustado para 5,8 ± 0,1 antes de autoclavagem à 121 ± 1 °C e 1,05 atm por 20 minutos. Com o objetivo de reduzir a oxidação causada por compostos fenólicos, adicionou-se ao meio polivinilpolipirrolidona (PVP, 1 g L<sup>-1</sup>). A cultura foi mantida em câmara de germinação tipo BOD com temperatura de 25°C e fotoperíodo de 12 horas.

Para este trabalho, avaliou-se as variáveis: Índice de velocidade de germinação (IVG), calculado segundo descrito anteriormente, porcentagem de sementes que apresentaram alguma contaminação e porcentagem de sementes germinadas.

### **3.2.3 Multiplicação e Alongamento de segmentos nodais de *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville:**

Empregou-se o DIC em esquema fatorial 5X2, com cinco concentrações de 6-benzilaminopurina (BAP) (0; 0,5; 1,0; 1,5 e 2,0 mg L<sup>-1</sup>), e duas qualidades de luz (luz comum e LED), com 15 repetições constituídas de um tubo de ensaio contendo um explante (semente). Acrescentou-se aos meios de cultura o ácido indol-3-butírico (AIB) na concentração de 0,5 mgL<sup>-1</sup>, exceto no tratamento com 0 mgL<sup>-1</sup> de BAP.

Inoculou-se individualmente segmentos nodais provenientes das plântulas germinadas anteriormente, em tubos de ensaio contendo 15 mL de meio de cultura MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962), distribuídos nos diferentes tratamentos. Ao meio adicionou-se 7 g L<sup>-1</sup> de ágar, 30 g L<sup>-1</sup> de sacarose e PVP 1 g L<sup>-1</sup>, com pH ajustado para 5,8± 0,1 antes da autoclavagem conforme descrito anteriormente. A cultura foi mantida em câmara de germinação tipo BOD, com temperatura 25°C e fotoperíodo de 12 horas. Após 45 dias da inoculação, realizou-se avaliação, verificando o número de brotos, comprimento da parte aérea e número de folhas

### **3.2.4 Enraizamento de segmentos nodais de *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville:**

Utilizou-se o DIC, com cinco concentrações de ácido indol-3-butírico (AIB) (0; 0,5; 1,0; 1,5 e 2,0mgL<sup>-1</sup>), com 10 repetições compostas por um tubo de ensaio contendo um

explante (semente). Ao meio de cultura, acrescentou-se BAP na concentração de  $1 \text{ mgL}^{-1}$ , com exceção do tratamento de  $0 \text{ mgL}^{-1}$  de AIB.

Brotações obtidas no experimento realizado anteriormente foram inoculadas individualmente em tubos de ensaio com 15 mL de meio de Cultura MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962), distribuídos nos tratamentos. Adicionou-se ao meio  $7 \text{ g L}^{-1}$  de ágar,  $30 \text{ g L}^{-1}$  de sacarose,  $1 \text{ g L}^{-1}$  PVP,  $0,5 \text{ mgL}^{-1}$  BAP, com pH ajustado para  $5,8 \pm 0,1$  antes da autoclavagem conforme descrito anteriormente. A cultura foi mantida sob as mesmas condições descritas anteriormente. Para este trabalho, avaliou-se o desenvolvimento dos explantes.

### 3.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados obtidos nos experimentos inicialmente foram submetidos ao teste de normalidade de resíduos Shapiro-Wilk a 5% de significância. Para os que não tiveram distribuição normal, realizou-se transformação. Procedeu-se a análise dos dados com análise de variância pelo teste F à 5% de probabilidade e as médias foram analisadas por meio do teste de Scott-Knot.

Para o experimento (3), realizou-se a regressão para verificação do comportamento dos dados, sendo que se transformou as variáveis: comprimento da parte aérea ( $\sqrt{x}$ ), número de folhas e número de brotos ( $\sqrt{x+1}$ ). A análise estatística foi realizada no software R®.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Teste de germinação de sementes de *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville tratadas com óleos essenciais:

Na Tabela 1 estão os resultados obtidos para o Índice de Velocidade de Germinação.

**Tabela 1** - Valores médios para o Índice de Velocidade de Germinação (IVG) de sementes de *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville tratadas com óleos essenciais e coletadas do solo e da planta

Tratamento	Alfavacão	Rosmaninho	Capim Santo	Alecrim Pimenta	Tween 80	Vitavax-thiran
Solo	2,67 Bb	3,10 Aa	3,12 Aa	3,02 Aa	3,00 Aa	3,00 Aa
Planta	3,08 Aa	3,12 Aa	3,08 Aa	3,08 Aa	3,03 Aa	3,02 Aa

\* Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas nas colunas, e minúsculas nas linhas, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Scott-Knot à 5% de probabilidade.

Conforme observado na Tabela 1, considerando o método de coleta das sementes, houve diferença estatística somente para aquelas tratadas com óleo essencial de alfavacão e coletadas diretamente sobre o solo. Tais sementes tiveram IVG média inferior aos demais tratamentos aplicados.

Para a porcentagem de sementes germinadas, houve o mesmo comportamento, conforme o disposto na Tabela 2.

**Tabela 2** - Valores médios para porcentagem de sementes germinadas de *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville tratadas com óleos essenciais e coletadas do solo e da planta

Tratamento	Alfavacão	Rosmaninho	Capim Santo	Alecrim Pimenta	Tween 80	Vitavax-thiran
Solo	80 Bb	94 Aa	93,5 Aa	90,5 Aa	90 Aa	90 Aa
Planta	92,50 Aa	93,5 Aa	92,5 Aa	91 Aa	91 Aa	90,5 Aa

\* Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas nas colunas, e minúsculas nas linhas, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Scott-Knot à 5% de probabilidade.

Conforme a Tabela 2, para a porcentagem de sementes germinadas somente houve diferença estatística para aquelas tratadas com óleo essencial de alfavacão que foram coletadas no solo, apresentando menores médias que os demais tratamentos aplicados.

Os resultados para a porcentagem de sementes contaminadas estão dispostos na Tabela 3.

**Tabela 3** - Valores médios para porcentagem de sementes contaminadas de *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville tratadas com óleos essenciais e coletadas do solo e da planta

<b>Tratamento</b>	<b>Alfavacão</b>	<b>Rosmaninho</b>	<b>Capim Santo</b>	<b>Alecrim Pimenta</b>	<b>Tween 80</b>	<b>Vitavax-thiran</b>
Solo	3,50 Bb	4,50 Bb	0,50 Aa	2,00 Bb	3,50 Bb	4,00 Bb
Planta	4,00 Bb	3,50 Bb	1,00 Bb	5,50 Bb	3,00 Bb	0,50 Aa

\* Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas nas colunas, e minúsculas nas linhas, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Scott-Knot à 5% de probabilidade.

Pode-se observar na Tabela 3 que as sementes que foram submetidas a tratamento com o fungicida vitavax-thiran e com óleo essencial de capim santo, apresentaram menores taxas de contaminação, em comparação com os demais tratamentos aplicados.

O tempo médio para a germinação das sementes foi de 5 dias, atingindo o valor máximo aos 12 dias. Segundo Almeida *et al.* (1998) a germinação do barbatimão ocorre após 14 dias. Araújo *et al.* (2009), avaliando diferentes procedências de sementes de *Dimorphandra mollis* Benth., constatou que aquelas coletadas diretamente na planta apresentaram porcentagens de germinação superiores aquelas coletadas no solo. Além disso, os mesmos autores verificaram menores taxas de contaminação nas sementes coletadas na planta.

Alves *et al.* (2004), observou que o óleo essencial de alfavacão inibiu a germinação de sementes de alface na concentração de 1%, a mesma utilizada para este trabalho. Conforme o observado, o óleo essencial de alfavacão apesar de ter proporcionado médias inferiores aos demais tratamentos, gerou resultados satisfatórios. Magalhães *et al.* (2013) constatou que o óleo essencial de capim santo teve efeito negativo sobre a porcentagem de sementes de alface germinadas, resultado contrário ao obtido para este experimento.

Os resultados obtidos, mostram que os óleos essenciais utilizados no tratamento de sementes de barbatimão proporcionaram boas respostas, podendo ser considerados como eficientes, uma vez que geraram comportamento similar ao do fungicida Vitavax-thiran, com a vantagem de apresentarem menor toxidez para o homem e ambiente.

#### 4.2 Estabelecimento *in vitro* de sementes de *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville:

Para o teste de germinação *in vitro*, as sementes tratadas com hipoclorito de sódio apresentaram IVGs superiores aos demais tratamentos aplicados. Para a porcentagem de sementes germinadas, o tratamento com alfavacão resultou em menores valores com relação aos demais tratamentos. Considerando a porcentagem de sementes contaminadas, aquelas tratadas com óleo essencial de alfavacão tiveram menor porcentagem de contaminação. Para o índice de velocidade de germinação (IVG), o tratamento com hipoclorito aumentou significativamente a média.

**Tabela 4** - Médias para os resultados de IVG, Porcentagem germinadas e porcentagem de contaminadas de sementes de *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville germinadas *in vitro*

<b>Tratamento</b>	<b>IVG</b>	<b>% Germinadas</b>	<b>% Contaminadas</b>
Hipoclorito	1,41 a	98,33 a	1,86 a
Rosmaninho	1,08 b	94,00 a	1,31 a
Alfavacão	1,05 b	92,33 b	1,16 b
Capim Santo	0,96 b	98,50 a	1,18 a
Alecrim Pimenta	0,92 b	98,33 a	1,23 a
Coefficiente de Variação (%)	35,72	4,96	29,82

\* Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas nas colunas, e minúsculas nas linhas, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Scott-Knot à 5% de probabilidade

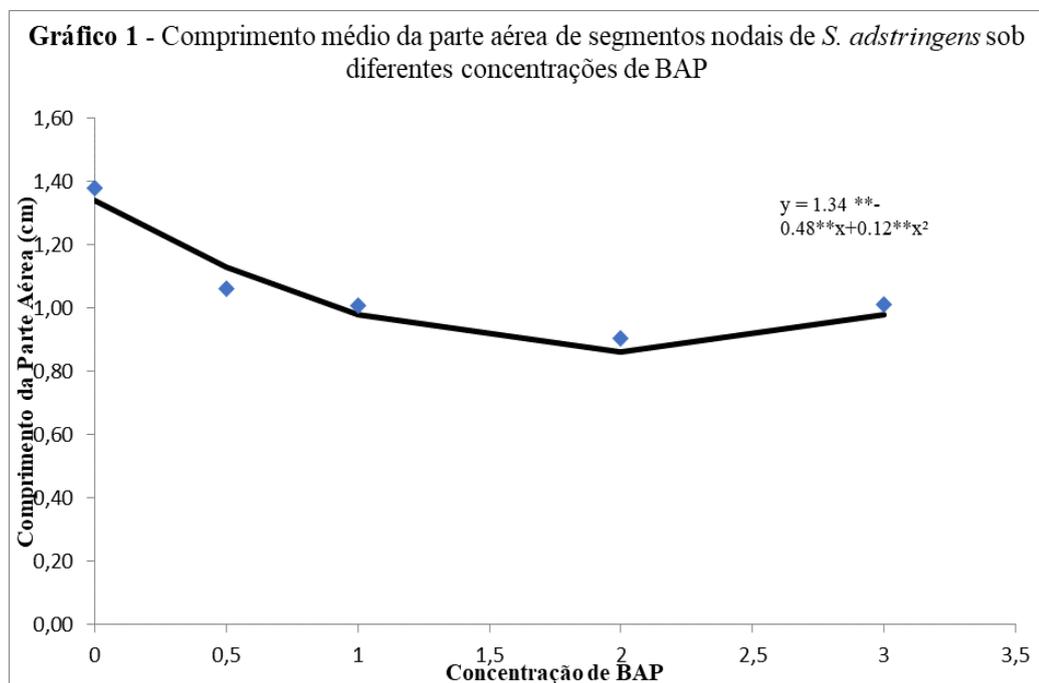
Conforme observado na Tabela 4, para o IVG, o tratamento com Hipoclorito proporcionou média superior aos tratamentos com óleos essenciais. Para a porcentagem de sementes germinadas e contaminadas, o tratamento com alfavacão proporcionou médias inferiores aos demais tratamentos.

Para o presente trabalho, observou-se que os tratamentos aplicados proporcionaram resultados satisfatórios, uma vez que a germinação das sementes foi superior a 90%. Freitas, Viegas e Lopes (2013) observaram porcentagens inferiores de germinação para sementes de barbatimão recém coletadas. Conforme a literatura, os óleos essenciais têm ação fungicida, o que pôde ser observado neste trabalho.

O hipoclorito é um agente desinfestante com uso consagrado na cultura de tecidos, uma vez que proporciona remoção dos agentes contaminantes. Contudo para o presente trabalho, apesar de ter gerado resultados satisfatórios, não houve diferença estatística para os óleos essenciais testados.

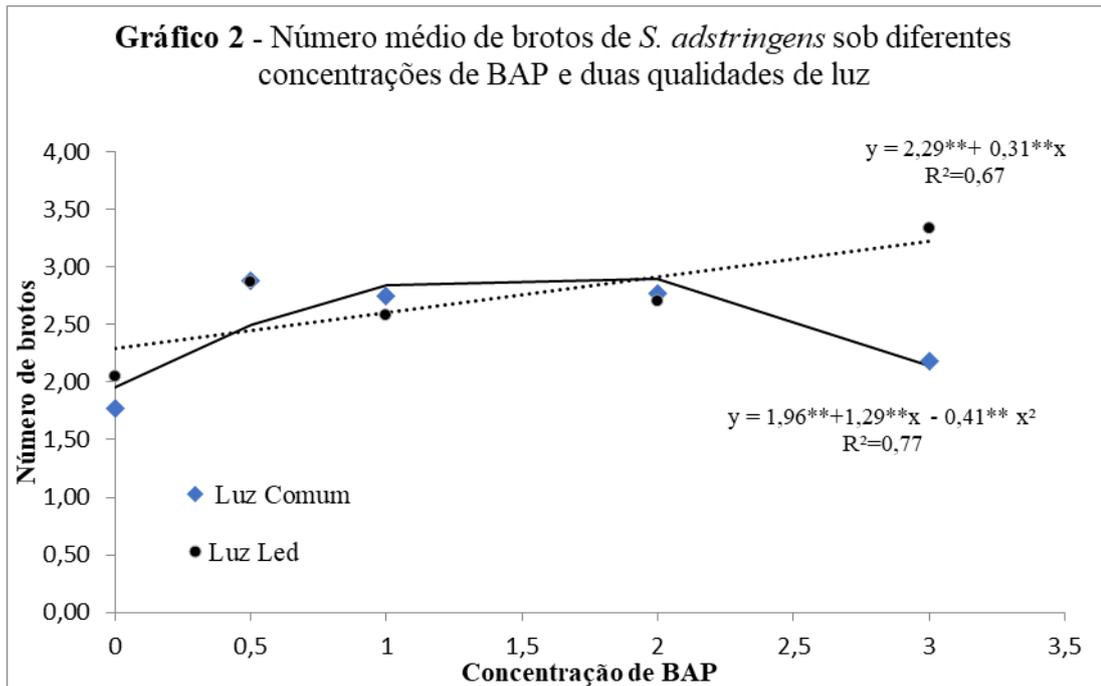
### 4.3 Multiplicação e Alongamento de segmentos nodais de *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville:

Para o comprimento da parte aérea (Gráfico 1), a curva de regressão ajustada demonstrou comportamento quadrático, sendo que a dose de 0 mg.L<sup>-1</sup> proporcionou o maior desenvolvimento em parte aérea dos explantes. Com relação à qualidade da luz, não houve efeito significativo.



\*\* Parâmetro significativo à 5% de probabilidade

Para a variável número de brotos, houve efeito significativo para a qualidade da luz, sendo que a luz LED promoveu maior número de brotos para a concentração de 0,5 mg L<sup>-1</sup> de BAP, em relação a luz comum. A curva de regressão ajustada (Gráfico 2) teve comportamento quadrático.



\*\* Parâmetro significativo à 5% de probabilidade

De acordo com o gráfico é possível verificar que para concentrações acima de 0,5 mg L<sup>-1</sup> houve uma redução da característica avaliada, um comportamento praticamente estável. Reguladores de crescimento apresentam efeito inibitório sob altas concentrações, o que justifica os resultados inferiores nas doses altas. Em geral, a micropropagação de espécies pode ser dificultada por vários fatores, tais como baixa velocidade de multiplicação e recalcitrância para formação de brotos, explicando bem os resultados obtidos no presente trabalho. Erig e Such (2006), avaliando a qualidade de luz e diferentes concentrações de BAP para multiplicação de macieira *in vitro*, verificou que a luz LED promoveu boas respostas para a espécie, aumentando o número de gemas e brotos dos explantes.

Os resultados obtidos mostram que os explantes de *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville cultivados em condições *in vitro* são capazes de apresentar uma resposta fisiológica mesmo em meio de cultivo com ausência de regulador de crescimento. Esse resultado revela que os explantes de *S. adstringens* (Mart.) Coville são totipotentes, competentes e também apresentam capacidade de determinação, ou seja, mesmo na ausência de um meio indutor os explantes apresentam respostas fisiológicas satisfatórias. Ou também pode-se dizer que as concentrações de BAP testadas no presente estudo não induziram uma resposta fisiológica para a característica avaliada. Concentrações crescentes do regulador de crescimento BAP provavelmente provocaram um efeito fitotóxico nos explantes, limitando assim o desenvolvimento da parte aérea.

Pasa *et al.*(2012), avaliando a influência da qualidade da luz e diferentes concentrações de BAP e AIB em amoreira preta *in vitro*, obteve resultados positivos para a concentração de 0,8 mg L<sup>-1</sup> de BAP, que promoveu o aumento de brotações para a espécie estudada. Este resultado difere do encontrado para este experimento, que teve resultados melhores com 0 e 0,5 L<sup>-1</sup> acrescido ao meio. A resposta dos explantes a doses de reguladores de crescimento é variável conforme a espécie trabalha, além de outros fatores externos e intrínsecos.

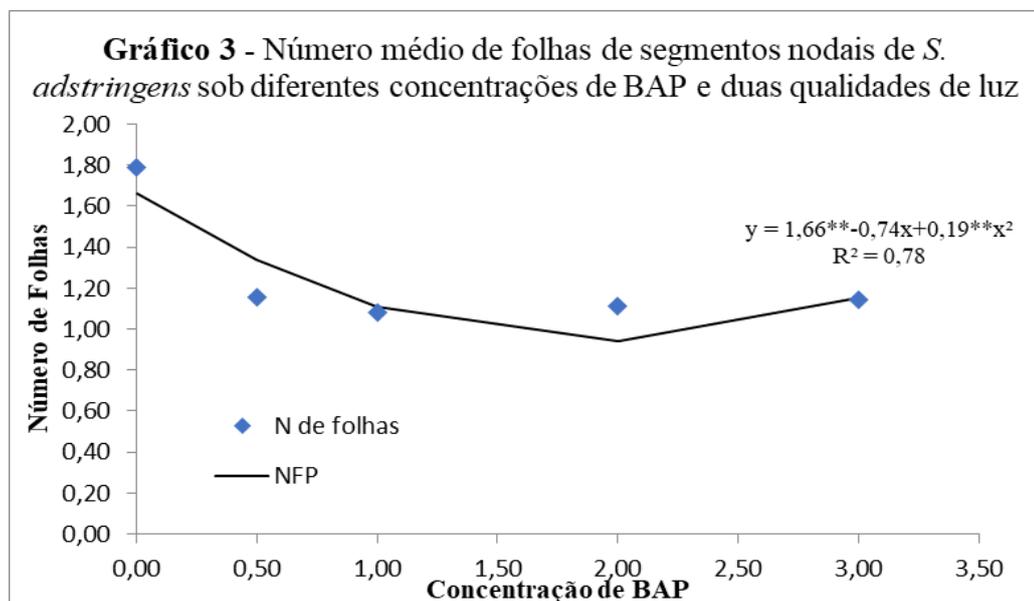
Considerando o número de folhas, observou-se que houve efeito significativo para a qualidade da luz, sendo que a luz comum proporcionou maiores médias em relação à luz LED, conforme o disposto na tabela 5.

**Tabela 5** - Número médio de folhas de segmentos nodais de *S. adstringens* sob duas qualidades de luz

Qualidade de luz	Número médio de folhas
Comum	1,34 a
LED	1,16 b

\* Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Scott-Knot à 5% de probabilidade.

A curva de regressão ajustada para o número de folhas apresentou comportamento quadrático (gráfico 3).



\*\* Parâmetro significativo à 5% de probabilidade

Ao observar o gráfico é possível notar que a utilização do regulador de crescimento BAP não promoveu uma resposta satisfatória para número de folhas, sendo o tratamento controle o responsável pelo maior número de folhas. Para o estabelecimento de um protocolo de multiplicação *in vitro*, o balanço hormonal auxina/citocinina ou o uso isolado de reguladores de crescimento é de fundamental importância para se obter uma resposta fisiológica desejada e, no presente trabalho nota-se que concentrações reduzidas do regulador de crescimento já foi suficiente para induzir respostas fisiológicas. Talvez com o uso de uma outra citocinina a espécie estudada se comportaria de forma semelhante ou diferente e por isso recomenda-se a realização de mais estudos com BAP testando concentrações entre zero e 0,5 mg L<sup>-1</sup> e também o uso de outras citocininas.

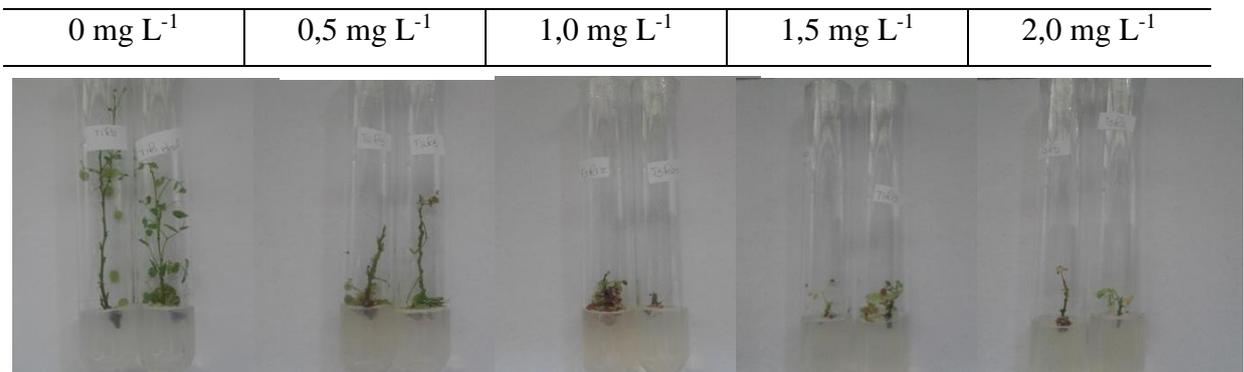
Sabendo da dificuldade de propagação *in vitro* das espécies lenhosas e principalmente do comportamento recalcitrante dos explantes, em especial de aqueles em fase de desenvolvimento tardio. O presente trabalho induziu respostas fisiológicas em explantes mais juvenis e tal escolha pode ser explicada por diferentes autores. Do ponto de vista fisiológico e experimental, para estabelecer um protocolo de propagação *in vitro* para espécies lenhosas é mais viável tecnicamente trabalhar com plântulas *in vitro*, pois nessas condições os explantes se encontram em estágio juvenil e possuem maior capacidade de crescimento e resposta dos tecidos à aplicação exógena de reguladores vegetais (GRATTAPAGLIA; MACHADO, 1998; PRADHAN *et al.*, 1999; NOLETO; SILVEIRA, 2004).

Asmar *et al.* (2012), obteve resultados similares ao avaliar concentrações de BAP sobre a multiplicação *in vitro* de *Lippia alba*, sendo que para o número de folhas, os resultados foram superiores na ausência da citocinina, e com o aumento da concentração ocorreu inibição. Para o comprimento da parte aérea, foi observado o mesmo efeito pelos autores.

#### **4.4 Enraizamento de segmentos nodais de *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville:**

Os resultados estão dispostos no quadro (1). Pode-se observar que as melhores concentrações para comprimento da parte aérea para a espécie estudada estão entre 0 mg L<sup>-1</sup> e 0,5 mg L<sup>-1</sup> de AIB. Porém, o objetivo desejado nesse experimento não foi alcançado, ou seja, a indução de raízes adventícias nas brotações obtidas no experimento anterior. Mais uma vez observa-se um comportamento recalcitrante de espécies lenhosas para a característica avaliada, confirmando hipóteses apresentadas por diferentes autores no tocante ao cultivo *in vitro* de espécies lenhosas.

**Figura 4** – Influência de concentrações de Ácido indolbutírico (AIB) sobre o desenvolvimento de explantes de *S. adstringens*



**Fonte:** Da autora, 2017.

Conforme observado, doses superiores a 1,0 mg L<sup>-1</sup> de AIB inibiram o desenvolvimento de segmentos nodais de barbatimão, o que pode ser resultado de fitotoxicidade para a espécie. O experimento não foi suficiente para promover o enraizamento *in vitro* do barbatimão.

Em alguns materiais ocorreu desenvolvimento de calos na base dos mesmos, comportamento que pode ocorrer quando a concentração de auxina no meio é excessiva, comprometendo a rizogênese e o crescimento da parte aérea. Provavelmente as concentrações testadas não foram adequadas para induzir a formação de raízes nos explantes da referida espécie. Após aproximadamente 75 dias após a indução de raízes com o regulador de crescimento AIB foi verificado um início de formação de raízes adventícias em alguns materiais *in vitro*, não sendo representativos.



**Figura 5** – Explante de *Stryphnodendron adstringens* com a formação de raízes

## 5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Após a avaliação das condições para a assepsia e multiplicação de *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville, recomenda-se:

a) Assepsia das sementes com óleo essencial de capim-santo, rosmaninho, alecrim pimenta ou alfavacão, à 1%, acrescido de Tween 80 à 1%;

Para o estabelecimento *in vitro*, recomenda-se

b) Assepsia das sementes com óleo essencial de capim-santo, rosmaninho, alecrim pimenta ou alfavacão. à 1%, acrescido de Tween 20 à 1%;;

c) Cultivo em luz comum;

d) Obtenção da plântula *in vitro* após 30 dias;

e) Retirada de segmentos nodais para inoculação;

f) Inoculação de segmentos nodais em meio MS, acrescido 30g.L<sup>-1</sup> de sacarose; 6g.L<sup>-1</sup> de ágar e filme plástico como vedação;

g) Acrescentar ao meio de cultura 0,5 mg L<sup>-1</sup> de BAP;

h) Manter a cultura sob presença de luz;

i) Realizar novos experimentos de forma a promover o enraizamento das brotações.

## **6 CONCLUSÃO**

A partir deste trabalho, pode-se concluir que os óleos essenciais de rosmaninho, capim santo, rosmaninho e alecrim pimenta apresentam potencial para tratamento das sementes de barbatimão, uma vez que proporcionou comportamento similar ao obtido com o antifúngico vitavax-thiran e o hipoclorito para germinação *ex vitro* e *in vitro*. Para o cultivo *in vitro* da espécie, pode-se concluir que as melhores respostas são obtidas sem a adição de BAP e AIB.

## REFERÊNCIAS

ALVES, M.C.S.; MEDEIROS FILHO, S.; INNECCO, R.; TORRES, S.B. Alelopatia de extratos voláteis na germinação de sementes e no comprimento da raiz de alface. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. v.39, n.11, p.1083-1086, nov., 2004.

AMARAL, M.F.Z.J.; BARA, M.T.F. Avaliação da atividade antifúngica de extratos de plantas sobre o crescimento de fitopatógenos. **Revista Eletrônica de Farmácia**. Goiânia, v. 2, n. 2, p. 5-8, set., 2005.

ASMAR, S.A.; RESENDE, R.F. ARARUNA, E.C.; MORAIS, T.P.; LUZ, J.M.Q. Concentrações de bap sobre a proliferação *in vitro* de brotos de *Lippia alba* [(MILL.)N.E.Brown]. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 14, n. esp., p.149-153, 2012.

AVIDOS, M.F.D., FERREIRA, L.T. Frutos dos Cerrados: Preservação gera muitos frutos. **Revista Biotecnologia**, Ciência & Desenvolvimento, n. 3, n.15, 2000.

BFG. Growing knowledge: an overview of Seed Plant diversity in Brazil. *Rodriguésia*, v.66, n.4, p.1085-1113. 2015.

BORGES FILHO, H.C.; FELFILI, J.M. Avaliação dos níveis de extrativismo da casca de barbatimão [*Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville] no Distrito Federal, Brasil. **Revista Árvore**, Viçosa, MG, v. 27, n.5, p. 735- 745, 2003.

BRANDÃO, M.G.L.; GOMES, C.G.; NASCIMENTO, A.M. Plantas Nativas da Medicina Tradicional Brasileira: Uso Atual e Necessidade de Proteção. **Revista Fitos**. v. 2, n. 3, dez., 2006.

BRASIL, MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE, Programa Nacional de Conservação e Uso Sustentável do Bioma Cerrado. Programa Cerrado Sustentável, 2003.

Bulletin of the World Health Organization. Regulatory situation of herbal medicines. A worldwide review, Geneva, 1998.

COUTO, G.M.F.; OTONI, W.C.; PINHEIRO, A.L.; FONSECA, E.P. Desinfestação e germinação *in vitro* de sementes de mogno (*Swietenia macrophylla* King). **Revista Árvore**. v.28, n. 5, p. 633-642, 2004.

CUSATI, R.C.; MONTEIRO, C.F.; RODRIGUES-DAS-DORES, R.; DEMUNER, A.J.; FINGER, F.L.; CASALI, V.W.D. Determinação do teor de rutina em folhas de Fava D'anta (*Dimorphandra mollis*). In 30ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 30, 2007. Águas de Lindoia, SP.—Sociedade Brasileira de Química. Disponível em: <<https://sec.s bq.org.br/cdrom/30ra/resumos/T0999-2.pdf>> Acesso em: 29/09/2016.

DAVIDE, A.C.; SILVA, E.A.A. **Produção de sementes e mudas de espécies florestais 1** ed., Lavras, Ed. UFLA, 2008.

DUTRA, L. F.; WENDLING, I.; BRONDANI, G. E. **A micropropagação de eucalipto**. Pesquisa Florestal Brasileira, Colombo, n. 58, p. 49-59, 2009. DOI: 10.4336/2009.pfb.58.49

ERIG, A.C.; SCHUCH, M.W. Ação da 6-benzilaminopurina e da qualidade da luz na multiplicação *in vitro* de macieira (*Malus domestica* BORKH.) CVS. galaxy e martergala. **Revista Brasileira de Agrociências**, v. 12, n. 2, p. 151-155, abr-jun, 2006.

FILIZOLA, B.C. Boas práticas de manejo para o extrativismo sustentável da fava d'anta. Brasília, Instituto sociedade, população e Natureza, 76 p., 2013.

FREITAS, V.L.O.; VIEGAS, F.P.; LOPES, R.M.F. Biometria de frutos e sementes, germinação e desenvolvimento inicial de barbatimão (*Stryphnodendron adstringens*). **Revista Floresta**. v. 44, n. 1, p. 21-32, jan./marc., 2014.

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. Cultura de tecidos e transformação genética de plantas. Brasília: EMBRAPA, 1998..

LIMA, H.C. de 2015. *Dimorphandra* in Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB83086>>.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas do Brasil.**, 5 ed. Nova Odessa, São Paulo: Instituto Plantarum, 2008.

LORENZI, H.; MATOS, F.J.A. **Plantas medicinais no Brasil: Nativas e Exóticas.** 2 ed. Nova Odessa, São Paulo: Instituto Plantarum, 2008.

MACHADO, J.C. **Tratamento de sementes no controle de doenças.** 1 ed., Lavras: UFLA, 2000.

MACHADO, R.B., M.B. RAMOS NETO, P.G.P. PEREIRA, E.F. CALDAS, D.A. GONÇALVES, N.S. SANTOS, K. TABOR E M. STEININGER. 2004. Estimativas de perda da área do Cerrado brasileiro. Relatório técnico não publicado. Conservação Internacional, Brasília, DF.

MAGALHÃES, H.M.; AQUINO, C.F.; SOARES, E.P.S.; SANTOS, L.D.T.; LOPES, P.S.N. Ação alelopática de óleos essenciais de alecrim pimenta e capim santo na germinação de aquênios de alface. **Semina: Ciências Agrárias.** v.34, n.2, p.485-496, mar./abr., 2013.

MARTINS, E.R.; CASTRO, D.M.; CASTELLANI, D.C.; DIAS, J.E. **Plantas Mediciniais,** 1 ed., Viçosa: UFV, 2000.

MEIRA, M.R. **Viabilidade técnica e econômica de planos de manejo sustentável para o barbatimão (*Stryphnodendron adstringens* mart. Coville) no Norte de Minas Gerais.** 2012. 134 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias) - Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Agrárias. Montes Claros, 2012.

MIRANDA, C.A.S.F.; CARDOSO, M.G.; BATISTA, L.R.; RODRIGUES, L.M.A.; FIGUEIREDO, A.C.S. Óleos essenciais de folhas de diversas espécies: propriedades antioxidantes e antibacterianas no crescimento de espécies patogênicas. **Revista Ciência Agronômica,** Fortaleza, v. 47, n.1, p. 213-220, jan./mar., 2016.

MORAIS, L.A.S. Influência Dos Fatores Abióticos Na Composição Química dos Óleos Essenciais. **Horticultura brasileira**. v. 27, n. 2, ago. 2009.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, v.15, p.473-479, 1962.

NASCIMENTO, P.F.C.; NASCIMENTO, A.C.; RODRIGUES, C.S.; ANTONIOLLI, A.R.; SANTOS, P.O.; BARBOSA JÚNIOR, A.M.; TRINDADE, R.C. Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais: uma abordagem multifatorial dos métodos. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.1, n. 17, p. 108-113, jan./marc., 2007.

NASCIMENTO, W.M.O.; CRUZ, E.D.; MORAES, M.H.D.; MENTEN, J.O.M..Qualidade sanitária e germinação de sementes de *Pterogyne nitens* Tull. (Leguminosae - Caesalpinioideae). **Revista brasileira de sementes**. v. 28, n.1, p.149-153, 2006.

NASCIMENTO,P.K.V.; FRANCO, E.T.H.; FRASSETTO, E.G. Desinfestação e Germinação *in vitro* de Sementes de *Parapiptadenia rígida* Bentham (Brenam). **Revista Brasileira de Biociências**. Porto Alegre, v.5, n.2, p. 141-143, jul., 2007.

NICIOLI, P.M. **Micropropagação e aspectos fitoquímicos de calos de barbatimão [*Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville] – FABACEAE**. 2006. 103 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia). Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2006.

NOLETO, L. G.; SILVEIRA, C. E. S. Micropropagação de Copaíba. *Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento*, n.33, p.109–120, 2004

NUNES, J.D.; NERY, P.S.; FIGUEIREDO, L.S.; COSTA, C.A.; MARTINS, E.R. O extrativismo da fava d'anta (*Dimorphandra mollis* Benth.) na região do Norte de Minas Gerais. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, n. 2, v. 14, p. 370-375, Botucatu, 2012.

PAIM, A.F. MICROPROPAGAÇÃO E ANÁLISE DA ANATOMIA FOLIAR DE *Handroantus chysotrychus* (MART. Ex DC.) J. Mattos

PASA, M.S.; CARVALHO, G.L.; SCHUCH, M.W.; SCHMITZ, J.D.; TORCHELSEN, M.M.; NICKEL, G.K.; SOMMER, L.R.; LIMA, T.S.; CAMARGO, S.S. Qualidade de luz e

fitorreguladores na multiplicação e enraizamento *in vitro* da amoreira-preta 'xavante'. **Revista Ciência Rural**, v. 42, n. 8, p. 1392-1396, ago, 2012.

PRADHAN C. *et al.* Propagation of Dalbergia sissoo Roxb. Through *in vitro* shoot proliferation from cotyledonary nodes. *Plant Cell Reports*, v.18., p.122–126, 1998.

QUEIROZ, I.R. **Produção de mudas de Barbatimão [*Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville] em substrato contendo lodo de esgoto.** 2014. 74 f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Agrárias. Montes Claros, 2014.

RODRIGUES, V.E.G.; CARVALHO, D.A. **Plantas medicinais no domínio dos cerrados.** 1 ed, Lavras: UFLA, 2001.

SANTOS, A.F.; GRIGOLETTI JUNIOR, A.; AUER, C.G. Transmissão de fungos por sementes de espécies florestais. **Floresta**, Curitiba, v.30, n.1/ 2, p.119-128, 2000.

SCARIOT, A.; SOUSA-SILVA, J.C.; FELFILI, J.M. Cerrado: Ecologia, Biodiversidade e Conservação. Brasília: Ministério do Meio Ambiente, 2005, 439 p.

SILVA, L.G.; COSMI, F.C.; JESUS JUNIOR, W.C.; SOUZA, A.F.; MORAES, W.B. Efeito do tratamento químico na sanidade de sementes de espécies florestais. **Ciência Florestal**. Santa Maria, v. 21, n. 3, p. 473-478, jul.-set., 2011.

SILVA, L.G.; COSMI, F.C.; JESUS JÚNIOR, W.C.; SOUZA, A.F.; MORAES, W.B. Efeito do tratamento químico na sanidade de sementes de espécies florestais. **Revista Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 21, n. 3, p. 473-478, jul./set., 2011.

SPINARDI, B.; RODRIGUES, A.M.; AYUB, R.A.; GALVÃO, C.W.; NUNES, D.S. Extratos vegetais e óleos essenciais na micropropagação de videira cv. Bordô. **Scientia Agrária**. v.12, n.3, p. 143-149, mai-jun, 2011.

TEIXEIRA, F.; MARTINS, M. V. D.M. Barbatimão (*Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville): Uma Revisão Bibliográfica de sua Importância Farmacológica e Medicinal. **Cenarium Farmacêutico**, v.3, n. 3, p. 1-6, 2009.

