

MESTRADO EM CIÊNCIAS FLORESTAIS

Anna Luiza Mota Docha

**Estabelecimento e multiplicação *in vitro* de *Stryphnodendron adstringens* (Mart.)
Coville**

Montes Claros

2022

Anna Luiza Mota Docha

**Estabelecimento e multiplicação *in vitro* de *Stryphnodendron adstringens* (Mart.)
Coville**

Versão final

Dissertação apresentada ao Mestrado em Ciências Florestais da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciências Florestais.

Orientador(a): Profa. Dra. Glauciana da Mata Ataíde

Coorientador(a): Prof. Dr. Leandro Silva de Oliveira

Montes Claros
Outubro de 2022

Docha, Anna Luiza Mota.

D637e Estabelecimento e multiplicação in vitro de *Stryphnodendron adstringens* (Mart.)
2022 Coville [manuscrito] / Anna Luiza Mota Docha. Montes Claros, 2022.
65 f.: il.

Dissertação (mestrado) - Área de concentração em Ciências Florestais.
Universidade Federal de Minas Gerais / Instituto de Ciências Agrárias.

Orientador(a): Glauciana da Mata Ataíde.

Banca examinadora: Gilvano Ebling Brondani, Claudinéia Ferreira Nunes, Leandro
Silva de Oliveira, Glauciana da Mata Ataíde.

Inclui referências: f. 21-28; 42-47; 59-62.

1. Germinação. 2. Meios de cultura (Biologia). 3. Reguladores de crescimento. I.
Ataíde, Glauciana da Mata. II. Universidade Federal de Minas Gerais. Instituto de
Ciências Agrárias. III. Título.

CDU: 630

ATA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO

Aos 20 dias do mês de outubro do ano de dois mil e vinte e dois, às 8:00 horas, sob a Presidência da Professora Glauciana da Mata Ataíde, D. Sc. (Orientadora – UFSJ) e com a participação dos Professores Leandro Silva de Oliveira, D. Sc. (Coorientador – UFMG/ICA), Gilvano Ebling Brondani, D. Sc. (UFLA) e Claudinéia Ferreira Nunes, D. Sc. (UFMG/ICA), reuniu-se, de forma híbrida (presencial e remota), a Banca de Defesa de Dissertação de **ANNA LUIZA MOTA DOCHA**, aluna do Curso de Mestrado em Ciências Florestais. Após a avaliação da referida aluna, a Banca Examinadora procedeu à publicação do resultado da defesa da Dissertação intitulada: “Estabelecimento e multiplicação *in vitro* de *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville”, sendo a aluna considerada **aprovada**. E, para constar, eu, Professora Glauciana da Mata Ataíde, Presidente da Banca, lavrei a presente ata que depois de lida e aprovada, será assinada por mim e pelos demais membros da Banca examinadora.

OBS.: A aluna somente receberá o título após cumprir as exigências do ARTIGO 74 do regulamento do Curso de Mestrado em Ciências Florestais, conforme apresentado a seguir:

Art. 74 – Para dar andamento ao processo de efetivação do grau obtido, o candidato deverá, após a aprovação de sua Dissertação e da realização das modificações propostas pela banca examinadora, se houver, encaminhar à secretaria do colegiado do Curso, com a anuência do orientador, no mínimo 3 (três) exemplares impressos e 1 (um) exemplar eletrônico da dissertação, no prazo de 60 (sessenta) dias.

Montes Claros, 20 de outubro de 2022.

Documento assinado digitalmente
 gov.br GLAUCIANA DA MATA ATAÍDE
 Data: 14/12/2022 16:24:39-0300
 Verifique em <https://verificador.itl.br>



Glauciana da Mata Ataíde
 Orientador

Leandro Silva de Oliveira
 Coorientador




Gilvano Ebling Brondani
 Membro

Claudinéia Ferreira Nunes
 Membro

À minha mãe Maristela e minha irmã Maria, todo o seu apoio e paciência me deram a força para seguir.

Dedico aos meus orientadores Profa. Dra. Glauciana da Mata Ataíde e Prof. Dr. Leandro Silva de Oliveira, que acreditaram no meu potencial, pela orientação e incentivo que tornaram possível o desenvolvimento deste trabalho.

Ao Programa de Pós-Graduação e às pessoas com quem convivi ao longo desse tempo.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus e à minha família.

À minha orientadora profa. dra. Glauciana da Mata Ataíde. Ao meu coorientador prof. dr. Leandro Silva de Oliveira. À banca examinadora deste trabalho.

À Universidade Federal de Minas Gerais. Ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Florestais.

Ao Programa de Apoio à Pós-Graduação e aos meus colegas de universidade.

A todos que agregaram a minha formação.

Meu muito obrigada!

“A persistência é o caminho do êxito”.

Charles Chaplin

Estabelecimento e multiplicação *in vitro* de *Stryphnodendron adstringens* (Coville) Mart.

RESUMO

Stryphnodendron adstringens (Mart.) Coville, conhecida popularmente como barbatimão, é uma espécie nativa do Cerrado brasileiro. Em razão de suas propriedades farmacológicas, ocorre a exploração predatória da espécie, que pode levá-la à lista de espécies em risco de extinção. Por esse motivo, pesquisas sobre a propagação do barbatimão são importantes para elaboração de protocolos, que darão subsistência à produção de mudas. Nesse contexto, o presente trabalho teve como objetivo avaliar o estabelecimento e a multiplicação *in vitro* de *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville. O primeiro experimento abordou a germinação *in vitro* em meios de cultura MS e WPM em diferentes concentrações, a fim de avaliar os meios de cultura para a espécie e estudar sua resposta ao procedimento. A porcentagem de germinação foi semelhante entre os meios de cultura e suas concentrações nutricionais. Plântulas no meio de cultura MS apresentaram maior comprimento de parte aérea, de diâmetro e de clorofila em comparação com o meio WPM, que demonstrou maior comprimento das raízes em comparação com o meio MS. O segundo experimento foi conduzido na fase de multiplicação de segmentos apicais de mudas germinadas *in vitro*, comparando-se os reguladores BAP e ANA nas concentrações 0; 2,0; 4,0 e; 6,0 mg.L⁻¹, com a finalidade de avaliar a viabilidade da micropropagação da espécie para produção de mudas clonais. O resultado demonstrou diferenças entre número de brotos produzidos pelos explantes em cada tratamento, de forma que com a adição de BAP os brotos multiplicaram e cresceram, enquanto com adição de ANA os brotos multiplicaram em uma taxa menor em comparação com o BAP e estagnaram, demonstrando como ocorre o balanço hormonal no barbatimão. Conclui-se que a utilização de reguladores de crescimento da categoria de citocinina favorecem a multiplicação *in vitro* para *Stryphnodendron adstringens*, e que reguladores da categoria auxina, podem ser utilizados para outras etapas da micropropagação, sendo dispensável no processo de multiplicação de brotos. Concluiu-se que para o estabelecimento e multiplicação *in vitro* de *S. adstringens* pode ser utilizado meio MS na concentração de 50%, com adição de BAP nas concentrações de 2,0 a 6,0 mg.L⁻¹ para a fase de multiplicação.

Palavras-chave: Germinação *in vitro*. Multiplicação *in vitro*. Barbatimão. Meios de cultura. Reguladores de crescimento.

Establishment and multiplication *in vitro* of *Stryphnodendron adstringens* (Coville) Mart.

ABSTRACT

Stryphnodendron adstringens (Mart.) Coville, popularly known as barbatimão, is a native species of the Brazilian Cerrado. Due to its pharmacological properties occurs a predatory exploitation of the species, which can lead it to the list of endangered species. For this reason, researches on the propagation of barbatimão are so important for the elaboration of protocols, which will give subsistence to the production of seedlings. In this context, the present work aimed to evaluate the establishment and multiplication *in vitro* of *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville. The first experiment addressed *in vitro* germination in MS and WPM culture media at different concentrations, in order to evaluate the culture media for the species and study its response to the procedure. The percentage of germination was similar between the culture media and their nutritional concentrations. Seedlings in the MS culture medium showed greater shoot length, of diameter and chlorophyll compared to the WPM medium, which demonstrated greater root length compared to the MS medium. The second experiment was carried out in the multiplication phase of apical segments of seedlings germinated *in vitro*, comparing regulators BAP and ANA at concentrations 0; 2.0; 4.0 and; 6.0 mg.L⁻¹, with the purpose of evaluating the viability of micropropagation of the species for the production of clonal seedlings. The result demonstrated differences between the number of shoots produced by the explants in each treatment, so that with the addition of BAP the shoots multiplied and grew, while with the addition of ANA the shoots multiplied at a lower rate compared to the BAP and stagnated, demonstrating how hormonal balance occurs in barbatimão. It is concluded that the use of growth regulators of the cytokinin category favor the *in vitro* multiplication for *Stryphnodendron adstringens*, and that regulators of the auxin category can be used for other stages of micropropagation, being expendable in the sprout multiplication process. It was concluded that for the establishment and multiplication *in vitro* of *S. adstringens* can be used MS medium at a concentration of 50%, with the addition of BAP at concentrations from 2.0 to 6.0 mg.L⁻¹ for the multiplication phase.

Keywords: Germination *in vitro*. Multiplication *in vitro*. Barbatimão. Culture mediums. Growth regulators.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	10
2	OBJETIVOS	12
2.1	Objetivo Geral	12
2.2	Objetivos Específicos	12
3	REVISÃO DE LITERATURA	13
3.1	Cerrado	13
3.2	<i>Stryphnodendron adstringens</i> (Mart.) Coville	15
3.3	Propagação de espécies nativas do Cerrado no Norte Minas Gerais	17
3.3.1	Germinação <i>in vitro</i>	18
3.3.2	Micropropagação	19
3.4	Referências	21
4	ARTIGOS	29
4.1	Artigo 1 - Este artigo foi elaborado conforme normas do periódico Ciência Florestal	29
4.2	Artigo 2 - Este artigo foi elaborado conforme normas do periódico Ciência Florestal	48
5	CONCLUSÕES / CONSIDERAÇÕES FINAIS	63
	ANEXO A – Desenvolvimento das brotações de <i>Stryphnodendron adstringens</i> até 30 dias	64

1 INTRODUÇÃO

O Cerrado é um bioma brasileiro composto por fitofisionomias distintas, cada uma delas pode abrigar espécies arbóreas nativas adaptadas às suas diferentes características edafoclimáticas, muitas endêmicas. A conservação e restauração do bioma garante a continuidade dessas espécies, e, conseqüentemente, possibilita sua utilização para fins madeireiros e não madeireiros.

Stryphnodendron adstringens (Mart.) Coville, pertencente à família Fabaceae, é uma espécie endêmica do Cerrado Brasileiro, conhecida popularmente como barbatimão, barba-de-timão e faveira. Ocorre naturalmente em regiões do norte de Minas Gerais, nas fitofisionomias de campo sujo, *sensu stricto* e cerradão (SCARIOT, SCARIOT; FELFILI; SILVA, 2005; LIMA *et al.*, 2016; BARBOSA *et al.*, 2019).

O barbatimão é utilizado amplamente como medicamento devido à produção de metabólitos secundários, como taninos e flavonoides, encontrados principalmente na região do ritidoma. Por esse motivo, a exploração extrativista da espécie ocorreu mesmo antes da comprovação científica desse potencial medicinal. Comunidades próximas a regiões de ocorrência utilizavam a casca da planta como tratamento para diversas enfermidades, favorecendo a disseminação do conhecimento sobre os potenciais de uso da espécie, logo, levando pesquisadores a estudá-lo e a confirmarem cientificamente suas propriedades farmacológicas. Em contrapartida, gerando um extrativismo sem manutenção adequada das árvores, uma vez que ao extrair a casca, é rompido o fluxo do câmbio vascular da planta podendo levá-la à morte (BORGES FILHO; FELFILI, 2003; TEIXEIRA; MARTINS, 2009; BRASIL, 2014).

Neste contexto, tem sido discutido por pesquisadores, há algumas décadas, a importância do manejo sustentável e propagação da espécie, buscando evitar a sua extinção e possibilitando agregar ganhos à produção e, conseqüentemente, a sua exploração ambientalmente adequada. No entanto, observa-se uma escassez de publicações científicas a respeito dos métodos de propagação de *S. adstringens*, o que limita a produção de mudas, seja para manutenção da biodiversidade e recomposição de ecossistemas degradados ou para o fornecimento da matéria-prima para as indústrias farmacêuticas (QUEIROZ, 2014).

Dentre as técnicas para produção de mudas, a propagação *in vitro* apresenta-se como uma ferramenta promissora para utilização em espécies florestais nativas, podendo promover avanços em seus cultivos, possibilitando uma produção uniforme e

em grande escala (FERRARI; GROSSI; WENDLING, 2004; GEORGE; HALL; KLERK, 2008).

Para tanto, é necessário o conhecimento dos fatores que influenciam na resposta do cultivo *in vitro*, levando à necessidade de se definirem protocolos que atendam às necessidades nutricionais de cada espécie. Nesse contexto, estudos sobre a definição e adaptação dos meios de cultura na germinação *in vitro* (PIERINE; GIANINI; PEDROSO-DE-MORAES, 2019; SANTOS; FERREIRA; NASCIMENTO, 2020; BUSSMEYER; TAKASUSUKI, 2021) e sobre reguladores de crescimento adequados para a multiplicação *in vitro* (DOCHA *et al.*, 2020; GOLLE *et al.* 2020; HASS; ORNELLAS; BITTENCOURT, 2022; STEFANEL *et al.*, 2022) têm sido realizados com espécies florestais distintas e constituem o cerne do presente trabalho, visando fornecer bases para a produção de mudas de *S. adstringens*, viáveis e de qualidade.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Avaliar o estabelecimento e multiplicação *in vitro* de *Stryphnodendron adstringens* a fim de definir um protocolo de propagação da espécie.

2.2 Objetivos Específicos

Avaliar a germinação *in vitro* de *S. adstringens* nos meios de cultura (MS, WPM), buscando determinar a melhor concentração para o estabelecimento *in vitro* de plântulas;

Avaliar a multiplicação *in vitro* de *S. adstringens* com o uso reguladores de crescimento BAP e ANA, buscando aperfeiçoar os protocolos de micropropagação pré-existentes com maiores informações para produção de mudas.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Cerrado

O Brasil é constituído por seis biomas, Cerrado, Caatinga, Mata Atlântica, Amazônia, Pantanal e Pampa, separados por diferenças edáficas, geográficas e climáticas, e possuindo fauna e flora distintas. Dentre eles, o Cerrado é o segundo maior bioma brasileiro, com área total de 2 milhões km², em torno de 23% do território brasileiro (RIBEIRO; WALTER, 1998; SCARIOT; FELFILI; SILVA, 2005; SANO; ALMEIDA; RIBEIRO, 2008). Ocorre como vegetação predominante no Distrito Federal e nos Estados de Minas Gerais, Tocantins, Maranhão, Goiás, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul e Bahia e, ainda, em áreas de transição entre biomas no Pará, Roraima, Rondônia, Amapá, São Paulo e Paraná.

As dificuldades da classificação da vegetação do Cerrado acarretaram na necessidade de adotar as seguintes subdivisões das fitofisionomias do bioma: florestais, subdivididas em Mata Ciliar, Mata de Galeria, Mata Seca e Cerradão; savânicas, subdivididas em Cerrado sentido restrito (*stricto sensu*), Parque de Cerrado, Palmeiral e Vereda; e campestres, subdivididas em Campo Sujo, Campo Rupestre e Campo Limpo (RIBEIRO; WALTER, 1998; SCARIOT; FELFILI; SILVA, 2005; SANO; ALMEIDA; RIBEIRO, 2008).

Quanto às características climáticas, segundo a classificação Köppen, o Cerrado abrange dois principais climas, tropical úmido (Aw) com inverno seco e chuvas máximas de verão e temperado quente (Cwa) com inverno seco, e período de estiagem que dura em média 5 meses (CLIMA ..., 2021).

Do ponto de vista pedológico, os solos mais comuns são os Latossolos (45,7%), Areia quartzosa (15,2%), Podzólicos (15,1%), Plintossolos (9,0%), Hidromórficos (Hidromórfico Cinzento, Gleis, Aluviais e Orgânicos) (2,5%), Litólico (7,3%), Cambissolo (3,1%), Terra Roxa Estruturada (1,7%) e outras classes (0,4%) (RIBEIRO; WALTER, 1998; OLIVEIRA; SOUSA; LOBATO, 2004).

O endemismo pode ser explicado pela adaptação das plantas a um ambiente, ocorrendo de maneira única conforme as características edafoclimáticas do habitat. Plantas são organismos incapazes de se locomover, e por esse motivo, se adaptam ao ambiente, tanto fisiologicamente como morfológicamente, conforme o estímulo ambiental. A flora do Cerrado é composta por 12.070 espécies terrestres catalogadas,

parte dessa diversidade florística apresenta endemismo, sendo Minas Gerais o estado com maior riqueza, são 2.219 espécies endêmicas catalogadas (FORZZA *et al.*, 2010; BOLFE; SANO; CAMPOS, 2020).

Nesse sentido, há os chamados *hotspots*, termo utilizado para classificar áreas ricas em variedades de espécies, ecossistemas degradados e elevada ocorrência de endemismo. O Brasil possui duas regiões que entram nessa classificação, sendo o Domínio Cerrado uma delas, sendo sua diversidade florística é uma das maiores dentre os biomas brasileiros, próxima do número de espécies dos biomas Mata Atlântica e Amazônia (SCARIOT; FELFILI; SILVA, 2005; LEÃO *et al.*, 2010; SCARANO; CEOTTO, 2016; TAIZ *et al.*, 2017).

O interesse econômico no Cerrado vem justamente dessa diversidade, muitas das espécies que o compõe são matéria prima para produtos não madeireiros como óleos, resinas, frutos e madeireiros para extratos, lenha e serraria. Ainda, o bioma é considerado como uma fronteira de expansão econômica, suprimido conforme a necessidade de produção agropecuária. Além disso, equivale a 45% da área agrícola nacional, onde da área total do Cerrado, 29,5% são pastagens plantadas, 11,7% são áreas agrícolas anuais e perenes e 1,5% são de silvicultura (BOLFE; SANO; CAMPOS, 2020).

Segundo o Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovações (MCTI), no período de 2019 a 2020, a área de desmatamento no Cerrado foi de 7.340 km², e o aumento foi de 13% em comparação com a supressão da vegetação natural em 2019. Em dados do projeto PRODES Cerrado, desenvolvido e operado pelo Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais (INPE), entre o período de 2001 a 2020 houve uma redução de 45.461,22 km² da área total do Cerrado no Estado de Minas Gerais, um dos Estados com maior perda de vegetação natural nas últimas décadas (INPE, 2020; MEIRELES, 2020). Preservar e proteger áreas vulneráveis no Cerrado possibilita a utilização dos recursos naturais, através da exploração sustentável, para obtenção de matéria-prima por comunidades e indústrias, a conservação da fauna e flora local e, dessa forma, garante o desenvolvimento socioeconômico e ambiental regional.

Nesse contexto, um ponto relevante para a conservação e extrativismo sustentável do Cerrado é a manutenção de recursos hídricos, uma vez que as três maiores bacias hidrográficas sul-americanas se localizam no bioma. De acordo IBGE (2021), entre 2010 e 2017, 33% da água captada para abastecimento animal no país foi realizada no bioma Cerrado, esse cenário é explicado pela expansão contínua e

acelerada da atividade agropecuária na região. Conforme projeções internacionais e nacionais, o Brasil será o principal produtor de alimentos globalmente e o Cerrado uma das principais áreas agricultáveis. Isso posto, do ponto de vista de conservação, será necessário aumentar a produção sem expandir novas áreas, a fim de proteger o bioma da exploração predatória (SCARIOT; FELFILI; SILVA, 2005; SCARANO; CEOTTO, 2016; BOLFE; SANO; CAMPOS, 2020; SANTANA *et al.*, 2020).

3.2 *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville

Pertencente à família Fabaceae e subfamília Mimosoideae, *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville é uma espécie arbórea de pequeno porte, conhecida por nomes populares como Barbatimão, casca-da-virgindade, faveira, barba-de-timão e barbatimão-branco (MEIRA *et al.*, 2013). Ocorre em regiões de Cerrado e Caatinga dos Estados Bahia, Distrito Federal, Goiás, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Paraná, São Paulo e Tocantins (TEIXEIRA; MARTINS, 2009; MEIRA *et al.*, 2013; BRASIL, 2014; LIMA *et al.*, 2016).

A espécie é descrita botanicamente como uma árvore de pequeno porte com 4 a 5 m de altura de tronco tortuoso com 20 a 30 cm de diâmetro, e o cerne apresenta coloração avermelhada com ritidoma espesso e rugoso. Classificada como uma planta perenifólia, porém considerada decídua por alguns autores, apresenta copa alongada, com folhas bipinadas, compostas por cinco a oito pares de pinas e seis a oito pares de folíolos em cada pina. As flores são inflorescências que possuem forma de espiga compostas por pequenas flores creme-esverdeadas e, por fim os frutos são vagens cilíndricas com 6 a 9 cm de comprimento, quando imaturas apresentam coloração verde e quando maduras coloração parda. A fenologia da espécie é descrita pela floração entre setembro a novembro, frutificação entre novembro a junho e maturação dos frutos e dispersão de sementes entre agosto e setembro (TEIXEIRA; MARTINS, 2009; MEIRA *et al.*, 2013; LIMA *et al.*, 2016).

Os principais usos de *S. adstringens* são a obtenção de madeira para marcenaria e construção civil e, ainda, extração de compostos fitoquímicos com potencial medicinal. Este último foi confirmado através de estudos etnobotânicos, que levou a espécie a ser inserida na lista da Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS (RENISUS). Os compostos fitoquímicos são taninos, alcaloides, amido, flavonoides, proantocianidinas, matérias resinosas, mucilaginosas, corantes e

saponinas e estão presente em maior quantidade na casca do Barbatimão. Por esse motivo são popularmente utilizadas por comunidades em tratamento anti-inflamatório, antibacteriano, adstringente, cicatrizante entre outros e por indústrias para fabricação e comercialização de extratos, tinturas, cremes, pomadas, sabonetes etc. (TEIXEIRA; MARTINS, 2009; MARTINS; NAKAGAWA, 2008; MEIRA *et al.*, 2013; GOULART *et al.*, 2015; BARBOSA *et al.*, 2019).

Dentre os compostos fitoquímicos presentes na espécie, o principal é o tanino. Originado do metabolismo secundário vegetal, atua em interações entre a planta e seu habitat. São fenóis solúveis em água, que formam pontes de hidrogênio, intra e intermoleculares. Sua principal característica é a adstringência, explicada por sua capacidade de formar complexos insolúveis em água com proteínas, gelatinas e alcaloides (MONTEIRO *et al.*, 2015).

A quantificação de taninos pode ser realizada através de ensaios químicos, o mais recomendado é a precipitação de proteínas e para determinar grupos específicos de taninos pode ser realizado um ensaio colorimétrico. A produção de taninos no Barbatimão é afetada pela época do ano e fatores ambientais, a interação da planta com o ecossistema estimula diretamente a produção das substâncias de metabolismo secundário como mecanismo de defesa (MONTEIRO *et al.*, 2005; MEIRA *et al.*, 2013; BRASIL, 2014).

As sementes de *S. adstringens* apresentam dormência como estratégia de sobrevivência devido a condições ambientais desfavoráveis do Cerrado, como longos períodos de estiagem ou queimadas. Porém, essa estratégia pode afetar o banco de plântulas, uma vez que a emergência é irregular. Sementes devem ter capacidade de germinar e desenvolver uma muda normal após processo da quebra de dormência. Esse processo pode ser realizado artificialmente para produção de mudas, através de escarificação mecânica e química. (BARRADAS; HANDRO, 1974; MARTINS *et al.*, 2008; MARTINS; NAKAGAWA, 2008; MARTINS *et al.*, 2011).

Ainda, há incidência de predação por insetos fitófagos que comprometem as sementes de *S. adstringens*, impedindo sua germinação, e conseqüentemente afetando o banco de sementes e plântulas e, portanto, a continuidade da espécie. Existem pelo menos sete ordens de insetos que compõe a entomofauna predadora das sementes de Barbatimão, dentre elas, as principais são da ordem Coleoptera, por se alimentarem das sementes e a ordem Lepidoptera, por se alimentarem das sementes e da polpa do fruto (SILVA; ZAMPIERON, 2015). A atividade de microrganismos

patogênicos intensifica a inviabilidade de sementes, uma vez que, a predação por insetos provoca abertura na estrutura física de frutos e sementes, fornecendo passagem para microrganismos patogênicos, como os fungos e bactérias que colonizam e degradam os tecidos vegetais (CARMO *et al.*, 2017; PARISI *et al.*, 2019).

3.3 Propagação de espécies nativas do Cerrado no Norte Minas Gerais

Espécies nativas são aquelas que ocorrem somente em um dado ecossistema com características pedológicas, climáticas e biológicas específicas. O Cerrado brasileiro é composto por flora nativa e endêmica, as espécies têm grande importância socioambiental, uma vez que, muitas comunidades vivem do extrativismo. Além disso, a obtenção de produtos madeireiros e não-madeireiros, também ocorre pela exploração predatória dessas espécies, onde plantas mais vigorosas e com maior potencial para promover a continuidade da espécie são as mais afetadas. Por conseguinte, populações remanescentes e espécies endêmicas ainda não catalogadas, são perdidas pela ação antrópica no bioma (SHIMIZU, 2007; OLIVEIRA *et al.*, 2013).

Ademais, a redução das populações afeta a capacidade reprodutiva das plantas, com menos indivíduos para o cruzamento, aumenta a ocorrência de autofecundação, a perda de alelos e, conseqüentemente, a capacidade de gerar descendentes férteis. Esse cenário representa a importância e necessidade de estabelecer protocolos para propagação de espécies nativas do Cerrado, tanto para preservação como, também, para comercialização, através de florestas plantadas (SHIMIZU, 2007).

As sementes podem ser utilizadas para propagação sexuada com a produção de mudas, como, também, assexuada para obtenção de explantes. A coleta de sementes é o primeiro passo para propagação de espécies nativas, é importante realizar a seleção de matrizes de diferentes procedências, a fim de favorecer a variabilidade genética ou, ainda, realizar a seleção de matrizes para favorecer as características fenotípicas de acordo com o interesse comercial. Geralmente, as sementes, são oriundas de áreas naturais de coleta de sementes (ANCS), onde são marcadas matrizes para posteriores coletas (VIEIRA *et al.*, 2001; NOGUEIRA; MEDEIROS, 2007; PIÑA-RODRIGUES *et al.*, 2007).

No Brasil, as pesquisas com técnicas de propagação de espécies nativas ainda são incipientes, com poucos estudos e protocolos sobre a propagação estabelecidos. A produção dessas mudas enfrenta empecilhos relacionados às próprias espécies, que

vão desde a recalcitrância das sementes até a sobrevivência das mudas. Nesse contexto, a produção de mudas de espécies nativas é de fundamental importância para o reflorestamento dos biomas brasileiros, contribuindo para conservação e exploração sustentável dos recursos florestais.

3.3.1 Germinação *in vitro*

A propagação pode ocorrer via sexuada com a utilização de sementes ou via assexuada com a clonagem da planta. Uma semente se origina da reprodução sexual, onde o óvulo é fecundado na oosfera ou por apomixia. Após seu desenvolvimento, é constituída por um embrião, pelo endosperma, tecido de reserva que pode estar ausente, e o tegumento protetor (CORTEZ; SILVA; CHAVES, 2016).

As sementes são um mecanismo de reprodução de plantas, possibilitando a colonização destas em novas áreas mais favoráveis ao seu desenvolvimento. Muitas espécies contam com a dispersão de suas sementes por autocoria, zoocoria ou anemocoria, sendo assim uma alternativa para locomoção da planta através de seus descendentes. Além disso, sementes podem ser dispersadas pela ação antrópica, quando coletadas e utilizadas para produção de mudas com a finalidade de uso em recuperação de áreas degradadas, reflorestamento, paisagismo e plantios comerciais para exploração de produtos madeireiros e não madeireiros (VIEIRA *et al.*, 2001; JORDANO *et al.*, 2006; NOGUEIRA; MEDEIROS, 2007; SILVA *et al.*, 2020).

O potencial de germinação é intrínseco de uma semente, mas pode ser afetado por fatores internos e externos, como a dormência por exemplo. Existem diversos tipos de dormência de sementes, o mais comum ocorre pela impermeabilidade do tegumento, impedindo a passagem de água e oxigênio, como uma estratégia de sobrevivência das plantas em função de condições adversas do ambiente para sua germinação e desenvolvimento (FOWLER; BIANCHETTI, 2000; BEZERRA *et al.*, 2020). Dessa forma, a semente permanece viável por um longo período de tempo até que o ambiente seja favorável ou que seu tegumento seja rompido por estímulos externos. Ainda, características genéticas, fisiológicas, físicas e sanitárias tem grande influência sobre o vigor e germinação das sementes (FOWLER; BIANCHETTI, 2000; MARTINS *et al.*, 2008; BRASIL, 2009; BEZERRA *et al.*, 2020).

A fim de mensurar esse potencial diversos testes de qualidade foram desenvolvidos e são utilizados, dentre eles o teste de germinação, é um teste de

caráter fisiológico, sendo o mais importante, pois mensura se a semente está viva e se esta tem chance de germinar uma planta saudável. Durante o processo germinativo, os fatores ambientais serão determinantes como a presença de temperatura, o oxigênio e a luz. A germinação ocorre com a maturação e o ambiente externo adequados, o embrião é estimulado e volta a se desenvolver até o rompimento do tegumento da semente e emergência da plântula para fora do substrato (JORDANO *et al.*, 2006; NOGUEIRA; MEDEIROS, 2007; BEZERRA *et al.*, 2020; SILVA *et al.*, 2020).

A germinação *in vitro* é uma técnica que realiza a germinação das sementes em ambiente de laboratório de cultura de tecidos vegetais. O ambiente laboratorial proporciona umidade, luz e temperatura controlados, sendo assim favorável para germinação. O processo de emergência *ex vitro* consiste na realização da germinação em um ambiente fora do laboratório, portanto com menor controle ambiental. Em ambas técnicas são realizados os procedimentos de assepsia, para a eliminação de microrganismos patogênicos na superfície do material vegetal e a quebra de dormência por um processo físico ou mecânico para danificação do tegumento, ocasionando a absorção de umidade e, assim, estimulando o embrião a se desenvolver (FOWLER; BIANCHETTI, 2000; OLIVEIRA; DIAS; BRONDANI, 2013; FLORIANO, 2004; TAIZ *et al.*, 2017).

Na germinação *in vitro*, as sementes são inoculadas em recipientes com meio de cultura, este possui uma consistência gelatinosa que proporciona umidade, favorecendo a absorção de água. A semente é considerada germinada pelo rompimento do tegumento e emissão de radícula (FOWLER; BIANCHETTI, 2000; FLORIANO, 2004; TAIZ *et al.*, 2017).

3.3.2 Micropropagação

Micropropagação consiste em um procedimento de clonagem de plantas, portanto, um tipo de propagação assexuada ou vegetativa. Fundamenta-se na utilização de propágulos de uma única matriz, com origem de qualquer parte da planta que contenha células indiferenciadas ou com capacidade de desdiferenciação e multiplicação, que originarão uma nova estrutura e, por conseguinte, a formação de uma planta clonada completa e viável (CARVALHO; VIDAL, 2003; QUISEN; ANGELO, 2008; GEORGE; HALL; KLERK, 2008; OLIVEIRA; DIAS; BRONDANI, 2013).

A primeira etapa do procedimento é a escolha da técnica a ser utilizada. Dentre

elas, as mais comuns para formação de novas estruturas, é a organogênese, que realiza a diferenciação celular direta ou indireta, a proliferação de gemas e a embriogênese somática. Essas técnicas estimulam as células a formarem novas estruturas morfológicas da planta, parte aérea e sistema radicular (CARVALHO; VIDAL, 2003; GEORGE; HALL; KLERK, 2008).

Os hormônios utilizados na propagação *in vitro* são chamados de reguladores de crescimento, estes são produzidos artificialmente com o mesmo princípio dos fitormônios, produzidos naturalmente pelas plantas para seu crescimento. Existem seis principais classes de fitormônios: giberelina, ácido abscísico, etileno e, os mais utilizados na propagação vegetativa, auxina e citocinina, os reguladores controlam a morfogênese da planta dependendo da sua classificação (CARVALHO; VIDAL, 2003; GEORGE; HALL; KLERK, 2008).

O meio de cultura oferece sustentação, estímulos hormonais e nutrição ao material vegetal inoculado, seja para plântulas germinadas *in vitro* ou explantes. Sua formulação depende da espécie a ser inoculada e o regulador de crescimento da etapa do procedimento (multiplicação, alongamento e enraizamento), por esse motivo, existe uma variedade de meios de cultura, como MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962), WPM - Wood Plant Medium (LLOYD; MCCOWN, 1981).

A assepsia é um procedimento realizado anterior a inoculação do material vegetal em meio de cultura. Consiste na desinfestação, com utilização de algum produto desinfetante, em todo ambiente, ferramentas, recipientes, meio de cultura e material vegetal, eliminando os microrganismos que podem ser nocivos ao material inoculado. Os agentes desinfetantes podem ser especializados como fungicidas e bactericidas ou generalistas como produtos liberadores de cloro ativo, quaternários de amônio, nitrato de prata, álcool, óxido de etileno etc. (GEORGE; HALL; KLERK, 2008; PASQUAL *et al.*, 2010; OLIVEIRA; DIAS; BRONDANI, 2013; BRONDANI *et al.*, 2013).

Apesar da micropropagação possibilitar a reprodução de uma matriz em qualquer fase de maturação, a idade ontogenética deve ser considerada. Uma planta adulta apresenta menor capacidade de diferenciação celular, dado que passou por todas as fases de desenvolvimento. Por esse motivo, a germinação *in vitro* oferece uma matriz com idade ontogenética jovem, uma vez que, o crescimento da planta se encontra na fase juvenil. Porém, é importante ressaltar que o rejuvenescimento de plantas é considerado uma das vantagens da propagação vegetativa, visto que o procedimento realiza a propagação seriada com o uso de reguladores de crescimento (GEORGE;

HALL; KLERK, 2008; WENDLING; XAVIER *et al.*, 2001; OLIVEIRA; DIAS; BRONDANI, 2013; WENDLING; TRUEMAN; XAVIER, 2014).

3.4 Referências

BARBOSA, I. L. B. D.; OLIVEIRA, H. R.; TERRIBILE, L. C.; DINIZ-FILHO, J. A. F. Geographical distribution of *Stryphnodendron adstringens* Mart. Coville (Fabaceae): modeling effects of climate change on past, present and future. **Brazilian Journal of Botany**, v. 42, n. 1, p. 53-61, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s40415-019-00520-7> . Acesso: 25 set. 2021.

BARRADAS, M. M.; HANDRO, W. Algumas observações sobre a germinação da semente do Barbatimão, *Stryphnodendron barbadetimam* (Vell.) Mart. (Leguminosae-Mimosoideae). **Boletim de Botânica**, São Paulo, v. 2, p. 139-150, 1974. Disponível em: <http://www.jstor.org/stable/42871330>. Acesso em: 25 set. 2021.

BEZERRA, A. C.; ZUZA, J. F. C.; BARBOSA, L. da S.; OLIVEIRA, L. C. L. de; SANTOS, E. N.; ALVES, E. U. Qualidade física, fisiológica e anatomia do tegumento de Fabaceae. **Meio Ambiente (Brasil)**, v. 1, n. 2, 2020. Disponível em: <https://meioambientebrasil.com.br/index.php/MABRA/article/view/33>. Acesso: 20 set. 2021.

BOLFE, E. L.; SANO, E. E.; CAMPOS, S. K. **Dinâmica agrícola no cerrado: análises e projeções.** Brasília: Embrapa, 2020. Disponível em: <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/handle/doc/1121716>. Acesso: 20 set. 2021.

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**, v. 27, p. 735-745, 2003. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-67622003000500016>. Acesso 10 set. 2021.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes.** Brasília: Mapa, 2009. 398 p. Disponível em: https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumos-agropecuarios/arquivos-publicacoes-insumos/2946_regras_analise__sementes.pdf. Acesso em: 25 jul. 2021.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Monografia da espécie *Stryphnodendron adstringens* (MART.) Coville (Barbatimão).** Brasil, 2014. 61 p. Disponível em: <https://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2014/novembro/25/Vers--o-cp-Stryphnodendron.pdf>. Acesso em: 29 ago. 2021.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente (MMA). **Mapeamento do uso e cobertura do cerrado: Projeto TerraClass Cerrado 2013.** Brasília: MMA, 2015. p. 67. Disponível em: http://www.dpi.inpe.br/tccerrado/Metodologia_TCCerrado_2013.pdf. Acesso em: 25 jul. 2021.

BRONDANI, G. E.; OLIVEIRA, L. S. de; BERGONCI, T.; BRONDANI, A. E.; FRANÇA, F. A. M.; SILVA, A. L. L. da; GONCALVES, A. N. Chemical sterilization of culture medium: a low cost alternative to *in vitro* establishment of plants. **Scientia Forestalis**,

v. 41, n. 98, p. 257-264, 2013. Disponível em: <https://www.ipef.br/publicacoes/scientia/nr98/cap11.pdf>. Acesso: 20 set. 2021.

BUSSMEYER, E. C.; TAKASUSUKI, M. C. C. R. Germinação de sementes florestais *in vitro* para recuperação de biomas. **Revista Brasileira de Meio Ambiente & Sustentabilidade**, [S. l.], v. 1, n. 4, p. 74–88, 2021. Disponível em: <https://rbmaes.emnuvens.com.br/revista/article/view/92>. Acesso em: 9 out. 2022.

CAMARGO, M. A. B.; MARENCO, R. A. Density, size and distribution of stomata in 35 rainforest tree species in Central Amazonia. **Acta Amazonica**, v. 41, p. 205-212, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.4025/actasciagron.v31i3.585>. Acesso: 29 ago. 2021.

CARMO, A. L. M. D.; MAZARATTO, E. J.; ECKSTEIN, B.; SANTOS, Á. F. D. Associação de fungos com sementes de espécies florestais nativas. **Summa Phytopathologica**, v. 43, p. 246-247, 2017. Disponível em: <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/handle/doc/1076591>. Acesso em: 25 ago. 2021.

CARVALHO, D. B. de; CARVALHO, R. I. N. de. Qualidade fisiológica de sementes de guanxuma sob influência do envelhecimento acelerado e da luz. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 31, p. 489-494, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.4025/actasciagron.v31i3.585>. Acesso: 29 ago. 2021.

CARVALHO, J. M. F. C. **Procedimentos para a implantação de um laboratório de cultivo de tecidos**. Campina Grande: Embrapa Algodão, 2002. (Circular Técnica, 65). Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/CNPA/15784/1/CIRTEC65.pdf>. Acesso: 29 ago. 2021.

CARVALHO, J. M. F. C.; VIDAL, M. S. **Noções de cultivo de tecidos vegetais**. Campina Grande: Embrapa Algodão, 2003. (Embrapa Algodão. Documentos, 116). Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/CNPA/16668/1/DOC116.PDF>. Acesso em: 29 ago. 2021.

CLIMA Montes Claros (Brasil). *In*: **Climate Data**. 2021. Disponível em: <https://pt.climate-data.org/america-do-sul/brasil/minas-gerais/montes-claros-2886/>. Acesso em: 25 ago. 2021.

CORTEZ, P. A.; SILVA, D. C.; CHAVES, A. L. F. **Manual prático de morfologia e anatomia vegetal**. Ilheus: Edithus, 2016. Disponível em: http://www.uesc.br/editora/livrosdigitais2017/morfologia_anatomia_vegetal.pdf. Acesso em 29 ago. 2021.

DOCHA, A. L. M.; OLIVEIRA, L. S. de; SOUZA, N. dos S.; BRONDANI, G. E. Estabelecimento *in vitro* de *Ceiba rubriflora* Carv.-Sobr. e L. P. Queiroz: uma espécie endêmica do vale do rio São Francisco. **Caderno de Ciências Agrárias**, [S. l.], v. 12, p. 1–5, 2020. DOI: 10.35699/2447-6218.2020.24029. Disponível em: <https://periodicos.ufmg.br/index.php/ccaufmg/article/view/24029>. Acesso em: 9 out. 2022.

FERRARI, M. P.; GROSSI, F.; WENDLING, I. Propagação vegetativa de espécies florestais. Colombo: Embrapa Florestas, 2004. Disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/215024/1/doc94.pdf>>. Acesso em: 29 ago. 2021.

FLORIANO, E. P. Germinação e dormência de sementes florestais. **Caderno didático**, v. 2, 2004. Disponível em: <https://docplayer.com.br/storage/26/7827034/1661821332/cd8gulT2LWZpX1udVySJBg/7827034.pdf>. Acesso: 20 out. 2021.

FORZZA, R. C.; FORZZA, R. C.; BAUMGRATZ, J. F. A.; BICUDO, C. E.; CANHOS, D. A. L.; CARVALHO JR, A. A.; COSTA, A.; ZAPPI, D. Síntese da diversidade brasileira. **Catálogo de plantas e fungos do Brasil**, v. 1, p. 21-42, 2010. Disponível em: <https://static.scielo.org/scielobooks/z3529/pdf/forzza-9788560035083.pdf>. Acesso em: 25 jul. 2021.

FOWLER, J. A. P.; BIANCHETTI, A. Dormência em sementes florestais. Colombo: Embrapa Florestas, 2000. (Documentos). Disponível em: <http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/153708/1/doc40.pdf>. Acesso em: 20 set. 2021.

GEORGE, E. F.; HALL, M. A.; KLERK, G. de. **Plant propagation by tissue culture**. 3rd Edition. v. 1. Dordrecht: Springer, 2008. Disponível em: <https://link.springer.com/book/10.1007/978-1-4020-5005-3>. Acesso: 29 ago. 2021.

GOLLE, D. P.; REINIGER, L. R. S.; STEFANEL, C. M.; SERROTE, C. M. L.; RABAIOLLI, S. M. D. S.; SILVA, K. B. D. Fitorreguladores e luminosidade na indução à calogênese em explantes foliares de *Eugenia involucrata* DC. **Ciência Florestal**, v. 30, p. 898-906, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.5902/1980509826987>. Acesso: 9 out. 2022.

GOULART, S. L.; RIBEIRO, A. D. O.; MORI, F. A.; ALMEIDA, N. F. D.; ASSIS, C. O. D. Anatomia do lenho de raiz, tronco e galho de Barbatimão (*Stryphnodendron adstringens* (Mart) Coville). **Cerne**, v. 21, p. 329-338, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/01047760201521021627>. Acesso em: 25 jul. 2021.

HASS, O. O.; ORNELLAS, T. S.; BITTENCOURT, R. Propagação *in vitro* de *Colubrina glandulosa* Perkins: espécie nativa com potencial para programas de reflorestamento. **Ciência Florestal**, [S. l.], v. 32, n. 1, p. 287–308, 2022. DOI: 10.5902/1980509853294. Disponível em: <https://periodicos.ufsm.br/cienciaflorestal/article/view/53294>. Acesso em: 9 out. 2022.

HOFFMANN, A. Aclimação de mudas produzidas *in vitro* e *in vivo*. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 23, n. 216, p. 21-24, 2002. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/200022/1/7190-2002-p.21-24.pdf>. Acesso em: 29 ago. 2021.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE. **Contas de ecossistemas**: condição dos corpos hídricos: 2010/2017. Rio de Janeiro: IBGE, 2021. (Investigações experimentais. Estatísticas experimentais). Disponível em: <https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/livros/liv101797.pdf>. Acesso em: 25 jul. 2021.

INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS ESPACIAIS – INPE. Avisos: Bioma Cerrado. *In: TerraBrasilis*. Disponível em: <http://terrabrasilis.dpi.inpe.br/downloads/>. Acesso em: 10 jul. 2021.

INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS ESPACIAIS – INPE. **Nota Técnica**: a área de vegetação nativa suprimida no Bioma Cerrado no ano de 2020 foi de 7.340 km². 2020. Disponível em: http://www.inpe.br/noticias/noticia.php?Cod_Noticia=5643. Acesso: 10 jul. 2021.

JORDANO, P.; GALETTI, M.; PIZO, M. A.; SILVA, W. R. Ligando frugivoria e dispersão de sementes à biologia da conservação. *In: DUARTE, C. F.; BERGALLO, H. G.; SANTOS, M. A. DOS; VA, A. E. (eds.). Biologia da conservação: essências*. São Paulo: Editorial Rima, 2006. p. 411-436. Disponível em: <http://www.esalq.usp.br/lcb/lerf/divulgacao/recomendados/artigos/jordano2007.pdf>. Acesso: 12 out. 2021.

LEÃO, N. V. M.; OHASHI, S. T.; FREITAS, A. D. D. de; NASCIMENTO, M. R. S. M. do; SHIMIZU, E. S. C.; REIS, A. R. S.; SOUZA, D. D. Colheita de sementes e produção de mudas de espécies florestais nativas. Belém, PA: Embrapa Amazônia Oriental, 2011. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/920713/1/DOC374.pdf>. Acesso em: 25 jul. 2021.

LIMA, T. C. D. de; CARDOSO, M. V.; MODESTO, T.; OLIVEIRA, A. L. de B.; SILVA, M. N. da; MONTEIRO, M. C. Breve revisão etnobotânica, fitoquímica e farmacologia de *Stryphnodendron adstringens* utilizada na Amazônia. **Revista Fitos**, [S. l.], v. 10, n. 3, p. 329-338, 2016. Disponível em: <https://www.arca.fiocruz.br/handle/icict/19262>. Acesso em: 25 jul. 2021.

MARTINS, C. C.; NAKAGAWA, J. Germinação de sementes de *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville de diferentes origens submetidas a tratamentos para superação de dormência. **Revista Árvore**, v. 32, p. 1059-1067, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-67622008000600011>. Acesso: 29 ago. 2021.

MARTINS, C. C.; CAMARA, A. T. R. D.; MACHADO, C. G.; NAKAGAWA, J. Métodos de superação de dormência de sementes de Barbatimão. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 30, p. 381-385, 2008. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/asagr/a/rLJKKYnyVyrCDP8C8y4GP5H/abstract/?lang=pt>. Acesso em: 25 jul. 2021.

MARTINS, C. C.; MACHADO, C. G.; NAKAGAWA, J. Temperatura e substrato para o teste de germinação de sementes de Barbatimão ((*Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville (Leguminosae)). **Revista Árvore**, v. 32, p. 633-639, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-67622008000400004>. Acesso em: 25 jul. 2021.

MARTINS, C. C.; MACHADO, C. G.; CALDAS, I. G. R.; VIEIRA, I. G. Vermiculita como substrato para o teste de germinação de sementes de Barbatimão. **Ciência Florestal**, v. 21, p. 421-427, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.5902/198050983800>. Acesso em: 25 jul. 2021.

MEIRA, M.; CABACINHA, C.; FIGUEIREDO, L.; MARTINS, E. Barbatimão: ecologia, produção de tanino e potencial sócio econômico na região norte mineira. **Enciclopédia**

Biosfera, v. 9, n. 16, 2013. Disponível em: <https://conhecer.org.br/ojs/index.php/biosfera/article/view/3377>. Acesso em: 25 jul. 2021.

MEIRELES, T. Acordo de Paris completa cinco anos com lições aprendidas. *In: WWF-Brasil*. 2020. Disponível em: <https://www.wwf.org.br/?77471/Acordo-de-Paris-completa-cinco-anos-com-licoes-aprendidas>. Acesso: 25 jul. 2021.

MONTEIRO, J. M.; ALBUQUERQUE, U. P. D.; ARAÚJO, E. D. L.; AMORIM, E. L. C. D. Taninos: uma abordagem da química à ecologia. **Química Nova**, v. 28, p. 892-896, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422005000500029>. Acesso em: 25 jul. 2021.

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. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x>. Acesso: 29 ago. 2021.

NOGUEIRA, A. C.; MEDEIROS, A. C. de S. **Coleta de sementes florestais nativas**. Colombo: Embrapa Florestas, 2007. (Circular Técnica, 144). Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/CNPF-2009-09/42601/1/Circular144.pdf>. Acesso: 12 out. 2021.

NOGUEIRA, R. J. M. C.; SILVA JR, J. F. da. Resistência estomática, tensão de água no xilema e teor de clorofila em genótipos de gravioleira. **Scientia Agrícola**, v. 58, p. 491-495, 2001. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0103-90162001000300009>. Acesso em: 10 out. 2021.

OLIVEIRA, L. S. de; BRONDANI, G. E.; BATAGIN-PIOTTO, K. D.; CALSAVARA, R.; GONÇALVES, A. N.; ALMEIDA, M. de. Micropropagation of *Eucalyptus cloeziana* mature trees. **Australian Forestry**, v. 78, n. 4, p. 219-231, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/00049158.2015.1073211>. Acesso: 29 ago. 2021.

OLIVEIRA, L. S. de; DIAS, P. C.; BRONDANI, G. E. Micropropagação de espécies florestais brasileiras. **Pesquisa Florestal Brasileira**, v. 33, n. 76, p. 439–453, 2013. Disponível em: <https://pfb.cnpf.embrapa.br/pfb/index.php/pfb/article/view/481>. Acesso em: 10 out. 2021.

OLIVEIRA, S. A. de; SOUSA, D. M. G. de; LOBATO, E. (ed.). Cerrado: correção do solo e adubação. 2. ed. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica; Planaltina: Embrapa Cerrados, 2004. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/222588/1/Cerrado-Correcao-solo-adubacao-ed-02-8a-impressao-2017.pdf>. Acesso em: 10 out. 2021.

PARISI, J. J. D.; SANTOS, A. F. D.; BARBEDO, C. J.; MEDINA, P. F. Patologia de sementes florestais: danos, detecção e controle, uma revisão. **Summa Phytopathologica**, v. 45, p. 129-133, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/0100-5405>. Acesso em: 10 out. 2021.

PASQUAL, M.; DUTRA, L. F.; ARAUJO, A. G.; PEREIRA, A. R. Prevenção de Contaminações microbianas na cultura de células, tecidos e órgãos de plantas. *In: SCHERWINSKI-PEREIRA, J. E. (ed.). Contaminações microbianas na cultura de*

células, tecidos e órgãos de plantas. 2. ed. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2012. Disponível em: <https://www.bdpa.cnptia.embrapa.br/consulta/busca?b=ad&id=1077487&biblioteca=vazio&busca=1077487&qFacets=1077487&sort=&paginaAtual=1>. Acesso em: 25 nov. 2021.

PIERINE, F. R.; GIANINI, P. F.; PEDROSO-DE-MORAES, C. Germinação e crescimento de plântulas *in vitro* de *Muntingia calabura* L. (Muntingiaceae) submetida a diferentes meios de cultivo. **Iheringia, Série Botânica.**, [S. l.], v. 74, 2019. DOI: 10.21826/2446-82312019v74e2019002. Disponível em: <https://isb.emnuvens.com.br/iheringia/article/view/526>. Acesso em: 9 out. 2022.

PIÑA-RODRIGUES, F. C.; FREIRE, J. M.; LELES, P. D. S.; BREIER, T. B. **Parâmetros Técnicos para a produção de Sementes Florestais.** 1. ed. Seropédica: EDUR, 2007. Disponível em: https://www.researchgate.net/profile/Fatima-Pina-Rodrigues/publication/232768854_Parametros_tecnicos_para_a_producao_de_sementes_florestaisTechnical_parameters_to_forest_seed_production/links/0fcfd50954abb9ff5e000000/Parametros-tecnicos-para-a-producao-de-sementes-florestaisTechnical-parameters-to-forest-seed-production.pdf. Acesso: 29 ago. 2021.

QUEIROZ, I. R. **Produção de mudas de Barbatimão [*Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville] em substrato contendo lodo de esgoto.** 2014. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais, 2014. Disponível em: <http://hdl.handle.net/1843/NCAP-9RGM67>. Acesso: 29 fev. 2022.

QUISEN, R. C.; ANGELO, P. C S. **Manual de procedimentos do Laboratório de Cultura de Tecidos da Embrapa Amazônia Ocidental.** Manaus: Embrapa Amazônia Ocidental, 2008. (Documentos, 61). Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/47132/1/Doc-61-A5.pdf>. Acesso: 29 ago. 2021.

RIBEIRO, J. F.; WALTER, B. M. T. Fitofisionomias do bioma Cerrado. *In*: SANO, S. M.; ALMEIDA, S. P. de (ed.). **Cerrado: ambiente e flora.** Planaltina: EMBRAPA-CPAC, 1998. p. 89-166. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/136069/1/fitofisionomias-do-Bioma-Cerrado-2.pdf>. Acesso: 29 ago. 2021.

SANO, S. M.; ALMEIDA, S. P. de; RIBEIRO, J. F. **Cerrado: ecologia e flora.** Brasília: Embrapa Informação Tecnológica; Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2008. v. 1. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/224039/1/CERRADO-Ecologia-e-flora-VOL-1.pdf>. Acesso: 29 ago. 2021.

SANTANA, C. A. M.; CAMPOS, S. K.; MARRA, R.; ARAGÃO, A. A. Cerrado: pilar da agricultura brasileira. *In*: BOLFE, E. L.; SANO, E. E.; CAMPOS, S. K. (ed.). **Dinâmica agrícola no cerrado: análises e projeções.** Brasília: Embrapa, 2020. v. 1. cap. 2. p. 39-58. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/212381/1/LV-DINAMICA-AGRICOLA-CERRADO-2020.pdf>. Acesso: 29 ago. 2021.

SANTOS, J. E. L. dos; FERREIRA, L. T.; NASCIMENTO, N. F. F. Germination and

seedling growth *in vitro* of *Pilosocereus pachycladus* Ritter (Facheiro) submitted to different culture media. **Research, Society and Development**, [S. l.], v. 9, n. 9, p. e548997423, 2020. DOI: 10.33448/rsd-v9i9.7423. Disponível em: <https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/7423>. Acesso em: 9 out. 2022.

SCALON, V. R. **Revisão taxonômica do gênero *Stryphnodendron* Mart. (leguminosae-mimosoideae)**. 2007. Tese (Doutorado) – Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007. Disponível em: <https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/41/41132/tde-29012008-113442/pt-br.php>. Acesso: 18 ago. 2021.

SCARANO, F. R.; CEOTTO, P. A importância da biodiversidade brasileira e os desafios para a conservação, para a ciência e para o setor privado. *In*: ROLIM, S. G.; MENEZES, L. F. T. de; SRBEK-ARAUJO, A. C. (ed.). **Floresta Atlântica de Tabuleiro: Diversidade e Endemismos na Reserva Natural Vale**. Belo Horizonte: Rupestre, 2016. p. 483-495. Disponível em: <http://www.pos.entomologia.ufv.br/wp-content/uploads/2016/10/livrofloresta.pdf>. Acesso: 25 set. 2021.

SCARIOT, A.; FELFILI, J. M.; SILVA, J. C. S. **Cerrado: ecologia, biodiversidade e conservação**. Brasília: Ministério do Meio Ambiente, 2005. 439 p. Disponível em: https://files.cercomp.ufg.br/weby/up/284/o/Cerrado_Parte1.pdf. Acesso: 18 ago. 2021.

SHIMIZU, J. Y. Estratégia complementar para conservação de espécies florestais nativas: resgate e conservação de ecótipos ameaçados. **Pesquisa Florestal Brasileira**, n. 54, p. 7-7, 2007. Disponível em: https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/CNPF/42682/1/PFB54_p7-35.pdf. Acesso em: 25 jul. 2021.

SILVA, D. B. da; SILVA, A. A. P. da; MUCHALAK, F.; BRITO, L. H. P. de; CARFANE, D. G. Levantamento florístico qualitativo e síndrome de dispersão de espécies nativas do cerrado. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 7, p. e288974236-e288974236, 2020. Disponível em: <https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/4236>. Acesso: 20 set. 2021.

SILVA, J. N.; SILVA, M. A. D. da; RODRIGUE, M. H. B. S.; ALVES, R. M. Testes de envelhecimento acelerado e condutividade elétrica para sementes de espécies florestais nativas: uma breve revisão. **Meio Ambiente (Brasil)**, v. 1, n. 2, 2020. Disponível em: <https://www.meioambientebrasil.com.br/index.php/MABRA/article/view/30>. Acesso: 20 set. 2021.

SILVA, T. M.; ZAMPIERON, S. L. M. Interações entre parasitoides e insetos endófitos em frutos de *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville (Fabaceae) no Cerrado Mineiro. **Revista Agrogeoambiental**, v. 8, n. 2, 2015. Disponível em: <https://agrogeoambiental.ifsuldeminas.edu.br/index.php/Agrogeoambiental/article/view/757>. Acesso em: 25 jul. 2021.

STEFANEL, C. M.; REINIGER, L. R. S.; SERROTE, C. M. L.; ZIEGLER, A. C. F. Ácido naftalenoacético e cinetina na multiplicação *in vitro* de *Eugenia involucrata*. **Pesquisa**

Florestal Brasileira, [S. l.], v. 42, 2022. DOI: 10.4336/2022.pfb.42e201902079. Disponível em: <https://pfb.cnpf.embrapa.br/pfb/index.php/pfb/article/view/2079>. Acesso em: 9 out. 2022.

TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MØLLER, I. M.; MURPHY, A. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2017. 858 p. Disponível em: https://www.google.com.br/books/edition/Fisiologia_e_Desenvolvimento_Vegetal_6ed/PpO4DQAAQBAJ?hl=pt-BR&gbpv=1&dq=Fisiologia+e+desenvolvimento+vegetal&printsec=frontcover. Acesso: 18 ago. 2021.

TEIXEIRA, F.; MARTINS, 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. Disponível em: http://www.unieuro.edu.br/sitenovo/revistas/downloads/farmacia/cenarium_03_01.pdf. Acesso em: 25 jul. 2021.

VIEIRA, A. H.; MARTINS, E. P.; PEQUENO, P. D. L.; LOCATELLI, M.; SOUZA, M. G de. Técnicas de produção de sementes florestais. **Comunicado Técnico**, n. 205, p. 1-4, ago. 2001. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/983785/1/Cot205sementesflorestais.pdf>. Acesso: 12 out. 2021.

WENDLING, I.; XAVIER, A. Gradiente de maturação e rejuvenescimento aplicado em espécies florestais. **Floresta e Ambiente**, v. 8, n. único, p. 187-194, 2001. Disponível em: <https://floram.org/article/588e21fae710ab87018b45ce/pdf/floram-8-%C3%BAnico-187.pdf>. Acesso: 12 out. 2021.

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. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11056-014-9421-0>. Acesso: 12 out. 2021.

WENDLING, I.; TRUEMAN, S. J.; XAVIER, A. Maturation and related aspects in clonal forestry - part II: reinvigoration, rejuvenation and juvenility maintenance. **New Forests**, v. 45, n. 4, p. 473-486, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11056-014-9415-y>. Acesso: 12 out. 2021

4 ARTIGOS

4.1 Artigo 1 - Este artigo foi elaborado conforme normas do periódico *Ciência Florestal*

Germinação *in vitro* de *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville em diferentes concentrações dos meios de cultura MS e WPM

In vitro germination of *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville in different concentrations of MS and WPM culture media

Anna Luiza Mota Docha¹

Leandro Silva Oliveira¹

Glauciana da Mata Ataíde²

Nicole Vieira Jorge¹

¹Universidade Federal de Minas Gerais, Montes Claros, MG, Brasil

² Universidade Federal de São João del-Rei, Sete Lagoas, MG, Brasil

RESUMO

Stryphnodendron adstringens (Mart.) Coville, espécie arbórea conhecida popularmente como barbatimão, está presente na lista da Relação Nacional de Plantas Medicinais de interesse ao Sistema Único de Saúde (SUS), devido ao tanino produzido pelo seu metabolismo secundário. Objetivou-se avaliar a germinação *in vitro* dessa espécie, a fim de estabelecer o meio de cultura e a concentração de nutrientes que favoreça seu uso em procedimentos *in vitro*. Foi realizada a quebra de dormência em ácido sulfúrico. Após, as sementes passaram por uma solução de álcool (70%), em seguida em uma solução de hipoclorito de sódio na concentração de 2,0-2,5% (*p/p*) de cloro ativo com 3 gotas de detergente. Então, foram lavadas em água destilada autoclavada e inoculadas nos meios de cultura MS e WPM nas concentrações de nutrientes de 0, 25, 50, 75 e 100%. A porcentagem de germinação *in vitro* de sementes de *S. adstringens* entre os meios de cultura e suas

concentrações nutricionais foi semelhante. Plântulas no meio de cultura MS apresentaram maior comprimento de parte aérea, de diâmetro e de clorofila em comparação com o meio WPM, que demonstrou maior comprimento das raízes em comparação com o meio MS. Conclui-se que para germinação *in vitro* da espécie o meio de cultura não interfere no processo. No entanto, o meio de cultura MS favorece o desenvolvimento da parte aérea podendo ser utilizado para procedimentos que envolvam organogênese e o meio de cultura WPM para procedimentos que envolvam rizogênese.

Palavras-chave: Barbatimão, germinação *in vitro*, meio de cultura.

ABSTRACT

Stryphnodendron adstringens (Mart.) Coville, a tree species popularly known as barbatimão, is present on the list of the National List of Medicinal Plants of interest to the Unified Health System (SUS), due to the tannin produced by its secondary metabolism. The objective was to evaluate the *in vitro* germination of this species, in order to establish the culture medium and the concentration of nutrients that favor its use in procedures *in vitro*. It was performed the dormancy breaking in sulfuric acid. Afterwards, the seeds were passed through an alcohol solution (70%), then in a sodium hypochlorite solution at a concentration of 2.0 - 2.5% (w/w) of active chlorine with 3 drops of detergent. Then, they were washed in autoclaved distilled water and inoculated in MS and WPM culture media at nutrient concentrations of 0, 25, 50, 75 and 100%. The percentage of *in vitro* germination of *S. adstringens* seeds between the culture media and their nutritional concentrations was similar. Seedlings in the MS culture medium presented greater shoot, diameter and chlorophyll length compared to the WPM medium, which demonstrated greater root length compared to the MS medium. It is concluded that for *in vitro* germination of the species the culture medium does not interfere in the process. However, the MS culture medium favors shoot development and can be used for procedures involving organogenesis and the WPM culture medium for procedures involving rhizogenesis.

Keywords: Barbatimão, *in vitro* germination, culture medium.

1 INTRODUÇÃO

Considerado um *hotspot* de biodiversidade, o Cerrado brasileiro abrange

uma variedade de flora nativa e endêmica (SCARIOT *et al.*, 2005; SCARANO; CEOTTO, 2016). Dentre as plantas com importância medicinal, cultural e socioeconômica, a espécie arbórea *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville, conhecida popularmente como Barbatimão, tem sido estudada e utilizada como fármaco devido a produção de taninos por seu metabolismo secundário (MEIRA *et al.*, 2013; MONTEIRO *et al.*, 2005; BRASIL, 2014; RIBEIRO *et al.*, 2022).

O tanino é um fitoquímico com propriedades adstringentes, anti-inflamatórias, cicatrizantes e microbicidas, utilizado como princípio ativo de medicamentos para o tratamento de diversas enfermidades. Por esse motivo, a espécie faz parte da lista da Relação Nacional de Plantas Medicinais de interesse ao SUS (RENISUS) (MONTEIRO *et al.*, 2005; TEIXEIRA; MARTINS, 2009).

O tanino pode ser encontrado em qualquer parte da planta de *S. adstringens*, porém em maiores quantidade em sua casca. Assim, sua utilização como matéria prima ocorre com a retirada da casca de matrizes adultas que, sem um plano de manejo adequado, pode levar à morte da planta. Portanto, o desenvolvimento e aperfeiçoamento de técnicas de produção de mudas de *S. adstringens* é fundamental para continuidade da espécie e para plantios de produção (LIMA *et al.*, 2016; MEIRA *et al.*, 2013; TEIXEIRA; MARTINS, 2009; MARTINS; NAKAGAWA, 2008).

A germinação é o primeiro passo para a produção de mudas, sendo necessário conhecer como a espécie reage ao processo. Espécies nativas e endêmicas tendem a ser difíceis de propagar tanto via seminal como clonal. Isso porque coevoluíram com um ambiente singular, levando a adaptações como dormência de sementes para resistir a condições desfavoráveis à germinação, e produção de metabólitos secundários, para resistir a estresses abióticos e bióticos, que podem afetar a propagação da espécie (BEZERRA *et al.*, 2019; FOWLER; BIANCHETTI, 2000; JORDANO *et al.*, 2006; MARTINS *et al.*, 2008; BRASIL, 2009; PIÑA-RODRIGUES *et al.*, 2007).

Em trabalhos preliminares, utilizando-se diversos substratos e recipientes, verificou-se elevada dificuldade de obtenção de mudas de *S. adstringens* por meio

da sementeira *ex vitro*, haja vista a mortalidade das mudas pela perda de viabilidade das plântulas germinadas (dados não publicados). Por esse motivo, o processo de germinação de sementes *in vitro* apresenta-se como opção para se conseguir plantas livre de contaminação, e a partir delas iniciar-se a cultura de tecidos, como folhas, segmentos nodais, entre outras (MERCIER; NIEVOLA, 2003; REIS *et al.*, 2008; MENDES, 2022). O cultivo *in vitro* de plantas proporciona um ambiente favorável à germinação por meio de controle local de luz, temperatura, assepsia e nutrição. Quando uma planta é germinada *in vitro* pode sofrer influência do meio de cultura sob seu crescimento e desenvolvimento, uma vez que esse contém os nutrientes que serão absorvidos e metabolizados por ela (CARVALHO; VIDAL, 2003; GEORGE *et al.*, 2008; OLIVEIRA *et al.*, 2013; QUISEN; ANGELO, 2008).

A absorção de nutrientes pelo material vegetal em um cultivo *in vitro* sofre interferência conforme a composição iônica do meio. Os meios de cultura mais utilizados para propagação de espécies arbóreas são o MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962) composto por alta concentração de nitrogênio, potássio, zinco, cloro, formas de amônio e nitrato, logo, tal composição favorece a regeneração de células vegetais e o WPM - Woody Plant Medium (LLOYD; MCCOWN, 1980) composto por 25% a menos de íons nitrato e amônia que o meio MS e elevada concentração de potássio e de íons sulfato, que favorece o cultivo *in vitro* de espécies lenhosas (CORREIA, 2006; BERTOZZO; MACHADO, 2010; PHILLIPS; GARDA, 2019).

Nesse contexto, o presente estudo buscou avaliar a germinação de sementes de *S. adstringens* em diferentes concentrações dos meios de cultura MS e WPM, a fim de sugerir as concentrações dos meios de cultura mais favoráveis para a espécie.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O presente estudo foi conduzido no Laboratório de Melhoramento Florestal

do Centro de Pesquisas em Ciências Agrárias (CPCA) do Instituto de Ciências Agrárias da UFMG em Montes Claros, Minas Gerais. No experimento de germinação *in vitro* foram utilizadas sementes da espécie *S. adstringens* coletadas de árvores matrizes no município de Sete Lagoas – MG.

Após a coleta, as sementes foram beneficiadas e armazenadas em um recipiente plástico e acondicionadas em geladeira até a realização dos experimentos.

Foi realizada a quebra de dormência das sementes em solução de ácido sulfúrico (H_2SO_4) por 60 minutos (MARTINS; NAKAGAWA, 2008) em um béquer de vidro para escarificação química e logo após lavadas em água autoclavada por cinco vezes.

Posteriormente, em câmara de fluxo laminar, as sementes foram imersas em solução de álcool (70%) durante 30 segundos, sendo depois colocadas em uma solução de hipoclorito de sódio (NaOCl) na concentração de -2,0-2,5% (*p/p*) de cloro ativo por 15 minutos e adicionadas 3 gotas de detergente. Ao término desse tratamento, lavou-se as sementes em água autoclavada por quatro vezes, mantendo-as em água autoclavada até a inoculação.

Em seguida, foi realizada a inoculação das sementes de *S. adstringens* individualmente nos meios de cultura MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962) e WPM (LLOYD; MCCOWN, 1980) (Tabela 1).

Testou-se os dois meios de cultura em cinco formulações diferentes: 0, 25, 50, 75 e 100% da sua composição de sais. Os meios cultura foram preparados com $30,0 \text{ g.L}^{-1}$ de sacarose, solidificados com ágar $7,0 \text{ g.L}^{-1}$ e pH corrigido para $5,8 \pm 1$, e aplicado o biocida Polybac 7D - Polyorganic® ($0,2 \text{ ml/L}$) em substituição à autoclavagem. As sementes inoculadas foram mantidas em câmara de crescimento a $26 \pm 2 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ e temperatura de 27° C , por 30 dias para a germinação.

Tabela 1. Composição dos meios de cultura MS e WPM utilizados na germinação *in vitro* de *S. adstringens*.

COMPOSIÇÃO	MS	WPM
Macronutrientes (g.L⁻¹)		
NH ₄ NO ₃	165,00	40,00
K ₂ SO ₄	-	99,00
KNO ₃	190,00	-
KH ₂ PO ₄	17,00	17,00
MgSO ₄ .7H ₂ O	37,00	37,00
CaCl ₂ .2H ₂ O	44,00	9,60
Ca(NO ₃) ₂ .4H ₂ O	-	55,60
NaEDTA.2H ₂ O	3,73	3,73
FeSO ₄ .7H ₂ O	2,78	2,78
Micronutrientes (mg.L⁻¹)		
H ₃ B ₃ O ₃	620,00	620,00
MnSO ₄ .4H ₂ O	1.690,00	2.230,00
ZnSO ₄ .7H ₂ O	860,00	860,00
CuSO ₄ .5H ₂ O	2,50	25,00
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	2,50	25,00
CoCl ₂ .6H ₂ O	2,50	-
KI	83,00	-
Vitaminas (mg.L⁻¹)		
Glicina	200,00	1,00
Ácido Nicotínico	50,00	0,50
Piridoxina	50,00	0,50
Tiamina	10,00	2,00

Fonte: Da autora, 2021.

Aos 30 dias após a inoculação avaliou-se os seguintes parâmetros: porcentagem de germinação (G%); índice de velocidade de germinação (IVG) e tempo médio de germinação (TMG), segundo Maguire (1962); comprimento da parte aérea e raiz da plântula (cm); diâmetro da plântula (cm); teor de clorofila das folhas medido pelo clorofilômetro SPAD 502; e massa seca de raízes e parte aérea (g).

O experimento de germinação *in vitro* foi conduzido em esquema fatorial 2 x 5 (2 meios e 5 concentrações) em delineamento inteiramente casualizado, com 40 repetições, sendo cada unidade experimental composta por uma semente. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) ($p < 0,05$). Para a comparação entre as formulações dos meios de cultura, foram ajustadas regressões. O programa R (IHAKA; GENTLEMAN, 1993) foi utilizado para os procedimentos estatísticos.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os tratamentos do meio de cultura MS proporcionaram maior germinação das sementes em comparação com o meio de cultura WPM (Figura 1A), assim como maiores médias de índice de velocidade de germinação (IVG) (Figura 1B). Já para o tempo médio de germinação não foram observadas diferenças entre as concentrações de sais dos meios de cultura (Figura 1C).

Após 30 dias de inoculação *in vitro*, cerca de 80% das sementes germinaram, em ambas as concentrações e composições dos meios de cultura (Figura 1A). Os resultados apresentados demonstram que na germinação *in vitro* de *S. adstringens* não é necessário um meio de cultura com nutrientes para que a plântula emerja da semente. Isso porque, a semente armazena nutrientes suficientes para germinação, sendo necessária apenas a quebra de dormência e um ambiente de cultivo favorável, principalmente, com relação à disponibilidade de água e luz.

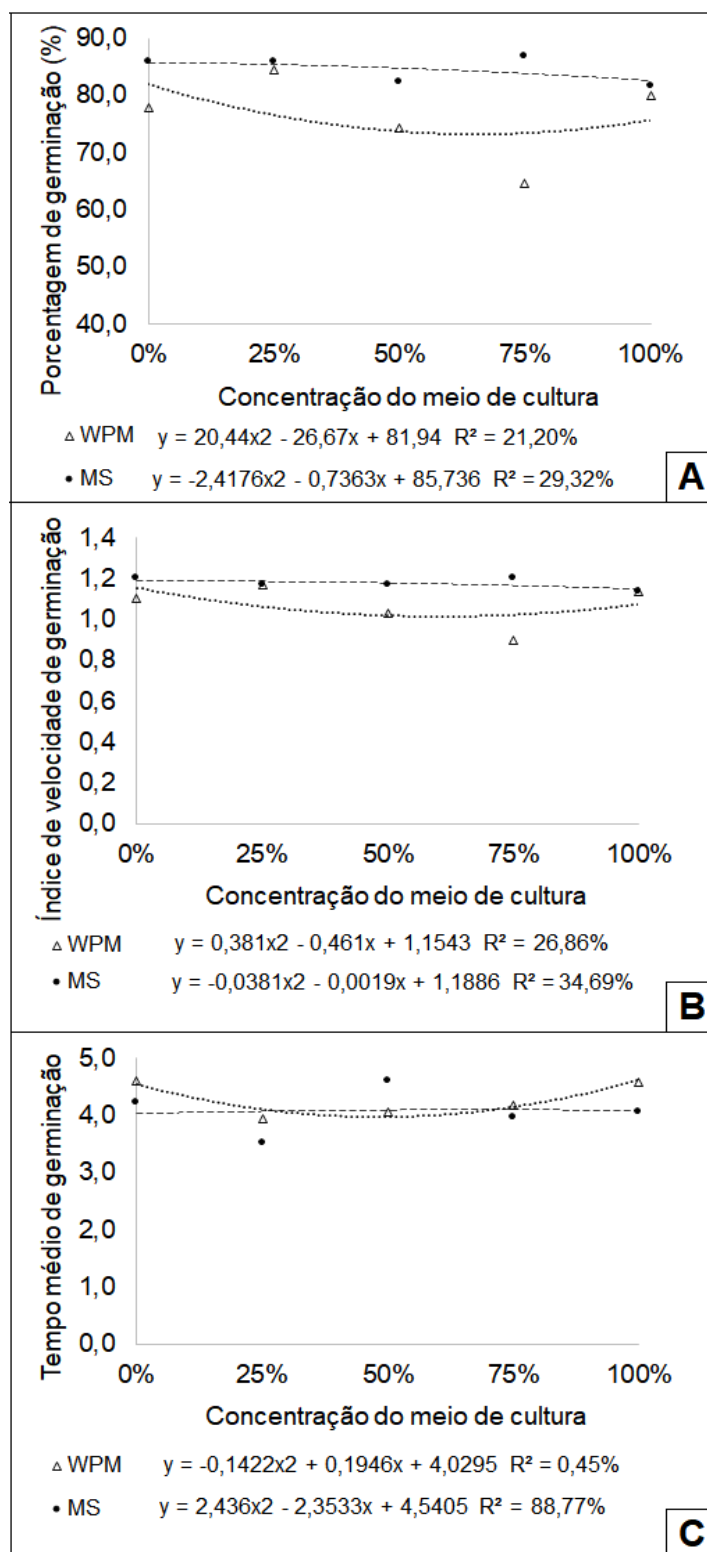
Os resultados obtidos são corroborados por Barradas e Handro (1974), que mencionam a germinação do *S. adstringens* como simples, sem necessidades especiais de luminosidade e temperatura. Por sua vez, Martins e Nakagawa (2008), Freitas *et al.* (2013) e Gonçalves *et al.* (2017), explicam que a velocidade de germinação é afetada pela quebra ou não da dormência da semente e pelo método utilizado.

As médias de germinação *in vitro* da espécie foram semelhantes a trabalhos

de Kissmann *et al.* (2010), Freitas *et al.* (2014) e Gonçalves *et al.* (2017) com sementes germinadas *ex vitro*. No entanto, a germinação *in vitro* apresenta como vantagens o fato de necessitar de menor espaço para dispor o material, redução dos custos de manutenção, multiplicação independente de condições climáticas, dentre outros (Carvalho *et al.*, 2006; Moraes *et al.* 2010; Machado Junior; Fernandes, 2018).

O processo de germinação de sementes *in vitro* visando à produção de mudas tem sido estudado com sucesso em outras espécies florestais da família Fabaceae, tais como em Moura *et al.* (2014) com sucupira-preta (*Bowdichia virgilioides* Kunth) e Silveira *et al.* (2022) com baru (*Dipteryx alata* Vogel). Assim, esta técnica de propagação também se apresenta como potencial para uso na propagação de *S. adstringens*.

Figura 1. Porcentagem de germinação (A), índice de velocidade de germinação (B) e tempo médio de germinação (C) de sementes de *S. adstringens* após 30 dias de cultivo *in vitro* nos meios de cultura MS e WPM, sob diferentes concentrações de sais (0, 25, 50, 75 e 100%).

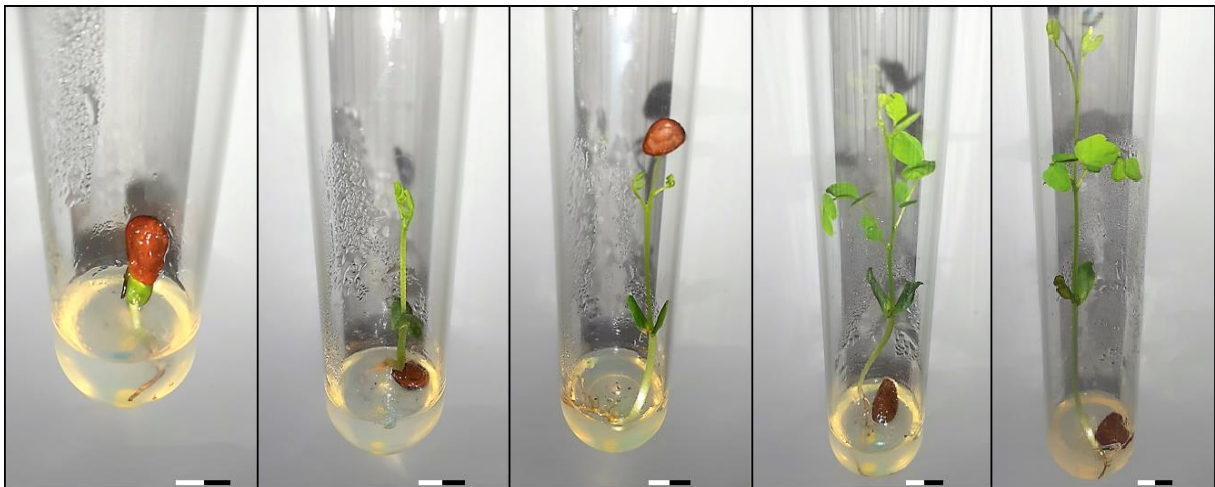


Fonte: Da autora, 2022.

No entanto, foi possível observar o subdesenvolvimento de plântulas em todos os tratamentos (Figura 2), o que pode ser explicada pela variabilidade genética das sementes expressando seu potencial de germinação e pela

capacidade de armazenamento de nutrientes das células parenquimáticas, fato estudado por Gonçalves *et al.* (2017), onde concluiu-se que os frutos da espécie apresentam variação biométrica.

Figura 2. Demonstração da diferença de desenvolvimento de plântulas com 23 dias após inoculação *in vitro* das sementes no tratamento testemunha.



Barras = 1 cm. Fonte: Da autora, 2022.

As concentrações de sais dos meios de cultura acima de 50% favoreceram o crescimento em biomassa de parte aérea das plântulas em meio MS (Figura 3A) e de raízes em meio WPM (Figura 3B). Segundo Correia (2006), o adequado desenvolvimento do sistema radicular das plântulas é essencial para o processo de cultivo *in vitro*, uma vez que os nutrientes presentes no meio de cultura precisam ser absorvidos pelas raízes.

No entanto, concentrações mais altas dos meios de cultura podem prejudicar o crescimento das raízes de espécies lenhosas, que podem apresentar sensibilidade aos sais (BERTOZZO & MACHADO, 2010; PHILLIPS & GARDA, 2019). Assim, a concentração de 50% do meio de cultura pode favorecer o crescimento equilibrado entre a parte aérea e as raízes de plântulas de *S. adstringens* cultivadas *in vitro* (Figura 4).

Figura 3. Plântulas de *S. adstringens* germinadas no meio de cultura MS 50% (A) e no meio de cultura WPM 50% após 73 dias de inoculação *in vitro*.



Barras: 2,0 cm. Fonte: Elaborado pela autora, 2022.

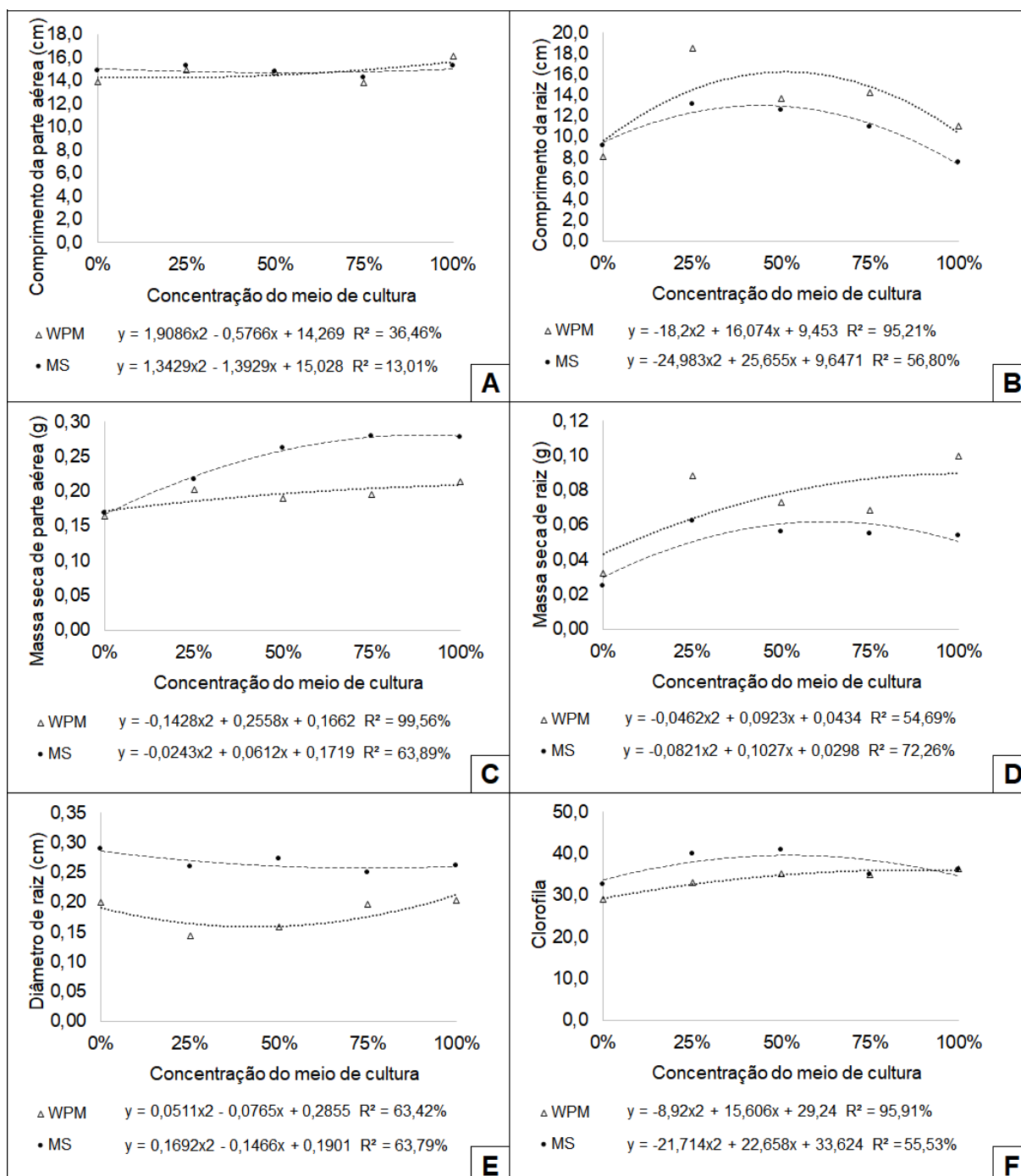
O comprimento e massa seca das raízes foram maiores no meio de cultura WPM (Figura 4B e 4C), destacando sua composição específica para espécies lenhosas, composta por menor concentração de sais em comparação com o meio MS, favorecendo o sistema radicular das plântulas.

O comprimento da parte aérea das plântulas não foi influenciado pelos meios de cultura e concentrações testados (Figura 4A), ao passo que o meio de cultura MS favoreceu o crescimento das plântulas em diâmetro, massa seca da parte aérea, teor de clorofila (Figura 4C, 4E e 4F). Tal resultado pode ser explicado pela alta concentração de nutrientes no meio de cultura MS.

Correia (2006) e Pierine *et al.* (2019) destacam que o meio MS é composto

por altas concentrações de nitrogênio, zinco, potássio, cloro e elevada concentração iônica total em comparação com outros meios de cultura, favorecendo o crescimento da plântula, o desenvolvimento da parte aérea e, conseqüentemente, a produção de cloroplastos pelas células das folhas.

Figura 4. Comprimento da parte aérea (A), comprimento da raiz (B), massa seca da parte aérea (C) e de raiz (D), diâmetro da raiz (E) e teor de clorofila (F) de plântulas de *S. adstringens* germinadas *in vitro*.



Fonte: Da autora, 2022.

Nesse contexto, os meios de cultura MS e WPM na concentração de 50% demonstraram crescimento satisfatório das plântulas de *S. adstringens* aos 60 dias após germinação. Conforme os resultados obtidos, recomenda-se para o cultivo *in vitro* da espécie a utilização na concentração de 50% dos meios de cultura MS para multiplicação e o WPM para os procedimentos de alongamento e enraizamento.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A porcentagem de germinação *in vitro* de sementes de *Stryphnodendron adstringens* não foi influenciada pelos meios de cultura nutritivo MS e WPM, recomendando-se a utilização de água e ágar para dar consistência.

A concentração de 50% dos meios de cultura MS e WPM é indicada para procedimentos de multiplicação e alongamento/ enraizamento *in vitro* com *Stryphnodendron adstringens*, respectivamente.

REFERÊNCIAS

BARRADAS, M. M.; HANDRO, W. Algumas observações sobre a germinação da semente do Barbatimão, *Stryphnodendron barbadetimam* (Vell.) Mart. (Leguminosae-Mimosoideae). **Boletim de Botânica**, São Paulo, v. 2, p. 139 - 150, 1974. Disponível em: <<http://www.jstor.org/stable/42871330>>. Acesso em: 25 set. 2021.

BERTOZZO, F.; MACHADO, I. S. Meios de cultura no desenvolvimento de ápices caulinares de mamoneira (*Ricinus communis* L.) *in vitro*. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 34, p. 1477-1482, 2010. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S1413-70542010000600018>>. Acesso em: 25 nov. 2021.

BEZERRA, A. C. *et al.* Qualidade física, fisiológica e anatomia do tegumento de Fabaceae. **Meio Ambiente (Brasil)**, v. 1, n. 2, 2020. Disponível em: <<https://meioambientebrasil.com.br/index.php/MABRA/article/view/33>>. Acesso: 20 set. 2021.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Brasília: Mapa/ACS, 2009. 398 p. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumos-agropecuarios/arquivos-publicacoes-insumos/2946_regras_analise_sementes.pdf>. Acesso em: 25 jul. 2021.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Monografia da espécie *Stryphnodendron adstringens* (MART.) COVILLE (BARBATIMÃO)**. Brasil, 2014. 61 p. Disponível em: <<https://portalquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2014/novembro/25/Vers--o-cp-Stryphnodendron.pdf>>. Acesso em: 29 ago. 2021.

CARVALHO, J. M. F. C.; SILVA, M. M. A.; MEDEIROS, M. J. L. **Fatores inerentes à micropropagação**. Campina Grande: Embrapa, 2006. (Documentos, 148).

Disponível em: <<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/handle/doc/276578>>. Acesso em: 25 nov. 2021.

CARVALHO, J. M. F. C.; VIDAL, M. S. **Noções de cultivo de tecidos vegetais**. Campina Grande: Embrapa Algodão, 2003. (Documentos, 116). Disponível em: <<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/handle/doc/273469>>. Acesso em: 25 nov. 2021.

CLIMA Montes Claros (Brasil). *In*: **Climate Data**. 2021. Disponível em: <https://pt.climate-data.org/america-do-sul/brasil/minas-gerais/montes-claros-2886/>. Acesso em: 25 ago. 2021.

CORREIA, D. **Macronutrientes, aspectos nutricionais e bioquímicos no crescimento de brotações de *Eucalyptus grandis in vitro***. 2006. Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2006. Disponível em: <<https://teses.usp.br/teses/disponiveis/11/111150/tde-21032007-165400/es.php>>. Acesso em: 25 nov. 2021.

FOWLER, J. A. P.; BIANCHETTI, A. **Dormência em sementes florestais**. Colombo: Embrapa Florestas, 2000. (Documentos, 40). Disponível em: <<http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/153708/1/doc40.pdf>>. Acesso em: 20 set. 2021.

FREITAS, V. L. O.; VIEGAS, F. P.; LOPES, R. de M. F. Biometria de frutos e sementes, germinação e desenvolvimento inicial de Barbatimão (*Stryphnodendron adstringens*). **Floresta**, v. 44, n. 1, p. 21-32, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.5380/rf.v44i1.3226>>. Acesso em: 25 nov. 2021.

GEORGE, E. F.; HALL, M. A.; KLERK, G. de. Plant propagation by tissue culture. 3rd Edition. **Springer, Dordrecht, The Netherlands**, v. 1, p. 501, 2008. Disponível em: <<https://link.springer.com/book/10.1007/978-1-4020-5005-3>>. Acesso: 29 ago. 2021.

GONÇALVES, A. F. A.; CARVALHO, L. R. de; CABACINHA, C. D. Biometria de frutos, armazenamento e germinação de sementes de *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville/Fruits biometry, storage and germination of Barbatimão seeds (*Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville). **Caderno de Ciências Agrárias**, v. 9, n. 3, p. 38-48, 2017. Disponível em: <<https://periodicos.ufmg.br/index.php/ccaufmg/article/view/2985>>. Acesso: 29 ago. 2021.

IHAKA, R.; GENTLEMAN, R. R statistical program. **Statistics Department of the University of Auckland**, 1993. Disponível em: <<https://www.r-project.org/>>. Acesso em: 25 nov. 2021.

JORDANO, P. *et al.* Ligando Frugivoria e Dispersão de sementes à biologia da conservação. In: DUARTE, C. F.; BERGALLO, H. G.; SANTOS, M. A. DOS; VA, A. E. (eds.). **Biologia da conservação: essências**. São Paulo: Editorial Rima, 2006. p. 411-436. Disponível em: <<http://www.esalq.usp.br/lcb/lerf/divulgacao/recomendados/artigos/jordano2007.pdf>>. Acesso em: 12 out. 2021.

KISSMANN, C. *et al.* Germinação de sementes de *Stryphnodendron* Mart. osmocondicionadas. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 32, p. 26-35, 2010. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S0101-31222010000200003>>. Acesso em: 25 nov. 2021.

KONÉ, M. *et al.* *In vitro* seeds germination and seedling growth of *Bambara groundnut* (*Vigna subterranea* (L.) Verdc. (Fabaceae)). **The Scientific World Journal**, p. 1-8, 2015. Disponível em: <<https://doi.org/10.1155/2015/595073>>. Acesso em: 25 nov. 2021.

LIMA, T. C. D. de *et al.* Breve revisão etnobotânica, fitoquímica e farmacologia de *Stryphnodendron adstringens* utilizada na Amazônia. **Revista Fitos**, [S. l.], v. 10, n. 3, p. 329-338, 2016. Disponível em: <<https://www.arca.fiocruz.br/handle/icict/19262>>. Acesso em: 25 jul. 2021.

LLOYD, G.; MCCOWN, B. Commercially-feasible micropropagation of mountain laurel, *Kalmia latifolia*, by use of shoot-tip culture. **Combined Proceedings, International Plant Propagators' Society**, v. 30, p. 421-427, 1980. Disponível em: <<https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/19830315515>>. Acesso em: 25 nov. 2021.

MACHADO JUNIOR, R. G.; FERNANDES, D. Á. Assepsia e Germinação *in vitro* de *Adenium obesum*. **Connection Line-Revista Eletrônica do UNIVAG**, n. 18, p. 102-110, 2018. Disponível em: <<http://periodicos.univag.com.br/index.php/CONNECTIONLINE/article/view/823>>. Acesso em: 25 nov. 2021.

MARTINS, C. C. *et al.* Métodos de superação de dormência de sementes de Barbatimão. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 30, p. 381-385, 2008. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/asagr/a/rLJKKYnyVyrCDP8C8y4GP5H/abstract/?lang=pt>>. Acesso em: 25 jul. 2021.

MARTINS, C. C.; NAKAGAWA, J. Germinação de sementes de *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville de diferentes origens submetidas a tratamentos para superação de dormência. **Revista Árvore**, v. 32, p. 1059-1067, 2008. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S0100-67622008000600011>>. Acesso em: 25 nov. 2021.

MEIRA, M. *et al.* Barbatimão: ecologia, produção de tanino e potencial sócio econômico na região norte mineira. **Enciclopédia Biosfera**, v. 9, n. 16, 2013. Disponível em: <<http://www.conhecer.org.br/enciclop/2013a/agrarias/barbatimao.pdf>>. Acesso em: 25 jul. 2021.

MENDES, C. I. D. **Germinação *in vitro* de sementes de framboesa e camarinha**. 2022. 108 f. Tese (Doutorado) – Instituto Superior de Agronomia, Universidade de Lisboa, Lisboa, 2022. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/10400.5/25013>>. Acesso em: 25 jul. 2021.

MERCIER, H.; NIEVOLA, G. B. Micropropagation of ornamental bromeliads (Bromeliaceae). In: Bajaj YPS (Ed.) **Biotechnology in agriculture and Forest**. 40: High tech and micropropagation VI. Berlin, Springer-Verlag. p. 43-57, 2003. Disponível em: <https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-662-03354-8_4>. Acesso em: 25 nov. 2021.

MONTEIRO, J. M. *et al.* Taninos: uma abordagem da química à ecologia. **Química Nova**, v. 28, p. 892-896, 2005. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/qn/a/YJDjDfvLBpkkbFXML3GPjdt/?lang=pt&format=html>>. Acesso em: 25 jul. 2021.

MORAES C. F. *et al.* Germinação *in vitro* de sementes de alcachofra. **Horticultura Brasileira**, v. 28, p. 64-69, 2010. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S0102-05362010000100012>>. Acesso em: 25 nov. 2021.

MOURA, L. C. D. *et al.* Germinação *in vitro* e aclimatação de plântulas de sucupira-preta (*Bowdichiavirgilioides* Kunth.). **Biosci. j. (Online)**, p. 678-687, 2014. Disponível em: <<https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/biblio-947959>>. Acesso em: 25 nov. 2021.

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. Disponível em: <<https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x>>. Acesso em: 25 nov. 2021.

OLIVEIRA, L. S. de; DIAS, P. C.; BRONDANI, G. E. Micropropagação de espécies florestais brasileiras. **Pesquisa Florestal Brasileira**, v. 33, n. 76, p. 439-453, 2013. Disponível em: <<https://pfb.cnpf.embrapa.br/pfb/index.php/pfb/article/view/481>>. Acesso em: 10/10/2021.

PHILLIPS, G. C.; GARDA, M. Plant tissue culture media and practices: an overview. ***In vitro Cellular & Developmental Biology-Plant***, v. 55, n. 3, p. 242-257, 2019. Disponível em: < <https://doi.org/10.1007/s11627-019-09983-5>> Acesso em: 10/06/2022.

PIERINE, F. R.; GIANINI, P. F.; MORAES, C. P. de. Germinação e crescimento de plântulas *in vitro* de *Muntingia calabura* L. (Muntingiaceae) submetida a diferentes meios de cultivo. **Iheringia, Série Botânica.**, v. 74, 2019. Disponível em: <<https://isb.emnuvens.com.br/iheringia/article/view/526>>. Acesso em: 25 nov. 2021.

PIÑA-RODRIGUES, F. C. *et al.* **Parâmetros Técnicos para a produção de Sementes Florestais**. 1. ed. Seropédica: EDUR, 2007. p. 186.

QUISEN, R. C.; ANGELO, P. C S. Manual de procedimentos do Laboratório de Cultura de Tecidos da Embrapa Amazônia Ocidental. Manaus: Embrapa Amazônia Ocidental, 2008. (Documentos, 61). Disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/47132/1/Doc-61-A5.pdf>>. Acesso: 29 ago. 2021.

REIS, S. *et al.* (2008). Influência do meio de cultura na germinação de sementes *in vitro* e taxa de multiplicação de *Melissa officinalis* L. **Revista Ceres**, v. 55, n. 3, p. 160-167, 2008. Disponível em: <<https://www.redalyc.org/pdf/3052/305226701014.pdf>>. Acesso em: 25 nov. 2021.

RIBEIRO, M. M. de S. *et al.* An evaluative review on *Stryphnodendron adstringens* extract composition: Current and future perspectives on extraction and application. **Industrial Crops and Products**, v. 187, p. 115325, 2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2022.115325>>. Acesso em: 9 ago. 2022.

SCARANO, F. R.; CEOTTO, P. A importância da biodiversidade brasileira e os desafios para a conservação, para a ciência e para o setor privado. *In*: ROLIM, S. G.; MENEZES, L. F. T. de; SRBEK-ARAÚJO, A. C. (ed.). **Floresta Atlântica de Tabuleiro: diversidade e endemismos na Reserva Natural Vale**. Belo Horizonte: Rupestre, 2016. p. 483-495. Disponível em: <<http://www.pos.entomologia.ufv.br/wp-content/uploads/2016/10/livrofloresta.pdf>>. Acesso: 25 set. 2021.

SCARIOT, A.; FELFILI, J. M.; SILVA, J. C. S. **Cerrado: ecologia, biodiversidade e conservação**. Brasília: Ministério do Meio Ambiente, 2005, 439 p. Disponível em: <https://files.cercomp.ufg.br/weby/up/284/o/Cerrado_Parte1.pdf>. Acesso: 18 ago. 2021.

SILVEIRA, A. A. da C.; SILVA, L. C. da; SIBOV, S. T. Germinação *in vitro* de *Dipteryx alata* Vogel (Fabaceae) e proliferação de brotos sob sistema de ventilação convencional e natural. **Ciência Florestal**, v. 32, n. 2, p. 996-1010, 2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.5902/1980509841400>>. Acesso em: 25 nov. 2021.

TEIXEIRA, F.; MARTINS, 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. Disponível em:

<http://www.unieuro.edu.br/sitenovo/revistas/downloads/farmacia/cenarium_03_01.pdf>. Acesso em: 25 jul. 2021.

4.2 Artigo 2 - Este artigo foi elaborado conforme normas do periódico Ciência Florestal

Reguladores de crescimento BAP e ANA na multiplicação *in vitro* de *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville

BAP and ANA growth regulators in the *in vitro* multiplication of *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville

Anna Luiza Mota Docha¹

Leandro Silva Oliveira¹

Glauciana da Mata Ataíde²

Nicole Vieira Jorge¹

¹Universidade Federal de Minas Gerais, Montes Claros, MG, Brasil

² Universidade Federal de São João del-Rei, Sete Lagoas, MG, Brasil

RESUMO

Espécie nativa do Cerrado, *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville, conhecida popularmente por barbatimão, possui potencial fármaco comprovado cientificamente, devido ao tanino extraído de sua casca. Por esse motivo, faz parte da lista da Relação Nacional de Plantas Medicinais de interesse ao Sistema Único de Saúde (SUS). Objetivou-se avaliar a multiplicação *in vitro* da espécie com a utilização de fitoreguladores. Os explantes foram segmentos apicais, obtidos de plântulas preestabelecidas *in vitro*. Os explantes foram inoculados em meio de cultura MS na concentração de 50%, com a adição de 6-benzilaminopurina (BAP) e de ácido naftaleno acético (ANA) nas concentrações de 0; 2,0; 4,0 e; 6,0 mg.L⁻¹. Foram realizadas avaliações dos parâmetros de sobrevivência e nº de brotações entre o 2º e 30º dias. Não houve diferença significativa quanto a sobrevivência dos explantes entre os tratamentos com BAP e ANA, que apresentaram percentual de sobrevivência acima de 90% ao final da avaliação. A multiplicação *in vitro* apresentou diferenças quanto ao nº de brotos produzidos entre os tratamentos com fitormônios e suas concentrações.

Com a adição de BAP os brotos multiplicaram e cresceram, enquanto com adição de ANA os brotos multiplicaram em uma taxa menor em comparação com o BAP e estagnaram, demonstrando como ocorre o balanço hormonal no barbatimão. Conclui-se que a utilização de reguladores de crescimento da categoria de citocinina favorecem a multiplicação *in vitro* para *Stryphnodendron adstringens*, e que reguladores da categoria auxina, podem ser utilizados para outras etapas da micropropagação, sendo dispensável no processo de multiplicação de brotos.

Palavras chave: Barbatimão, multiplicação *in vitro*, fitormônios.

ABSTRACT

A native species from the Cerrado, *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville, popularly known as barbatimão, has scientifically proven pharmaceutical potential, due to the tannin extracted from its bark. For this reason, it is part of the list of the National List of Medicinal Plants of interest to the Unified Health System (SUS). The objective was to evaluate the *in vitro* multiplication of the species with the use of phytohormones. The explants were apical segments, obtained from seedlings pre-established *in vitro*. The explants were inoculated in MS culture medium at a concentration of 50%, with the addition of 6-benzylaminopurine (BAP) and naphthalene acetic acid (ANA) at concentrations of 0; 2.0; 4.0 and; 6.0 mg.L⁻¹. They were carried evaluations of survival parameters and number of shoots out among the 2nd and 30th days. There was no significant difference regarding the survival of the explants between the treatments with BAP and ANA, which presented a percentage of survival above 90% at the end of the evaluation. The *in vitro* multiplication showed differences regarding the number of shoots produced between treatments with phytohormones and their concentrations. With the addition of BAP the shoots multiplied and grew, while with the addition of ANA the shoots multiplied at a lower rate compared to BAP and stagnated, demonstrating how hormonal balance occurs in barbatimão. It is concluded that the use of cytokinin category growth regulators favor *in vitro* multiplication for *Stryphnodendron adstringens*, and that auxin category regulators can be used for other stages of micropropagation, being dispensable in the shoot multiplication process.

Keywords: Barbatimão, *in vitro* multiplication, phytohormones.

1 INTRODUÇÃO

Nativa e endêmica do Cerrado brasileiro, a espécie *Stryphnodendron*

adstringens, conhecida popularmente como Barbatimão, está presente na lista da Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao Sistema Único de Saúde (RENISUS). Isso porque, estudos empíricos comprovaram que o princípio ativo extraído da sua casca, o tanino, possui propriedades farmacológicas anti-inflamatórias, adstringentes, microbicidas e cicatrizantes, logo, sendo utilizado como matéria prima para produção de medicamentos (MONTEIRO *et al.*, 2005; BRASIL, 2014; TEIXEIRA & MARTINS, 2009).

A espécie ainda pode ser utilizada, para obtenção de lenha, madeira para serraria e construção civil, assim como para reflorestamento de áreas degradadas e para paisagismo. Por esse motivo, estudar, estabelecer e aperfeiçoar protocolos de propagação para o Barbatimão, garante a continuação da espécie, uma vez que, existem poucos estudos sobre a propagação de espécies nativas, sendo desconhecidas suas limitações para melhoramento de sementes e clonagem de plantas (LIMA *et al.*, 2016; MEIRA *et al.*, 2013;).

Dentre as técnicas de propagação de plantas a micropropagação é uma técnica de propagação *in vitro* que multiplica em grande escala matrizes de plantas selecionadas ou melhoradas, garantindo a homogeneidade e aumento da produção da matéria prima de interesse. Para *Stryphnodendron adstringens* e demais espécies arbóreas nativas brasileiras os protocolos de cultivo *in vitro* são pouco aperfeiçoados e muitas delas apresentam recalcitrância, portanto, a utilização de reguladores de crescimento na micropropagação pode ser determinante para o sucesso da técnica.

Os fitormônios ocorrem de forma endógena nas plantas e são produzidos sinteticamente como reguladores de crescimento, também chamados fitorreguladores, utilizados para induzir a ação de sinalizadores, alterando o balanço hormonal em explantes (FERRARI *et al.*, 2004; GEORGE *et al.*, 2008; OLIVEIRA *et al.*, 2013).

Existem cinco principais classes de fitormônios, auxina, ácido abscísico, citocinina, etileno e giberelina. A citocinina é produzida de forma endógena,

principalmente, pelas raízes e sinteticamente como cinetina, 6-benzilaminopurina (BAP), entre outros, podendo ser adicionada ao meio de cultura para indução da divisão e multiplicação celular, desenvolvendo brotos, quebrando a dominância apical e estimulando gemas laterais. A auxina, tem origem nos meristemas apicais das plantas e sinteticamente como ácido naftalenoacético (ANA), ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D), entre outros, atuando na divisão celular e morfogênese dos tecidos, interferindo no alongamento, dominância apical e formação de raízes ao ser utilizada em meios de cultura (GEORGE *et al.*, 2008; SOUZA *et al.*, 2018).

Nesse contexto, o presente estudo buscou avaliar a multiplicação *in vitro* de *S. adstringens* em diferentes concentrações dos reguladores de crescimento BAP e ANA, a fim de sugerir a concentração e o regulador de crescimento mais eficientes para o procedimento.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Os procedimentos foram conduzidos no Laboratório de Melhoramento Florestal, do Centro de Pesquisas em Ciências Agrárias (CPCA) do Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Minas Gerais em Montes Claros, Minas Gerais.

2.1 Material Vegetal

Os testes foram realizados visando estudar o uso de reguladores de crescimento no procedimento de organogênese. Utilizou-se sementes da espécie *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville para a produção de explantes para o experimento de multiplicação *in vitro*, coletadas no município de Sete Lagoas – MG.

2.2 Germinação *in vitro*

Utilizaram-se explantes de segmentos nodais de plântulas germinadas *in vitro*. Em laboratório, foi realizada a quebra de dormência das sementes pela escarificação química, com utilização de ácido sulfúrico (H_2SO_4) por 60 minutos e, logo após, foram lavadas em água deionizada autoclavada por cinco vezes (MARTINS; NAKAGAWA, 2008).

Posteriormente, em câmara de fluxo laminar, as sementes foram imersas em solução de álcool (70%) durante 30 segundos, sendo depois, colocadas em uma solução de hipoclorito de sódio (NaOCl) na concentração de 2,0-2,5% (*p/p*) de cloro ativo por 15 minutos e adicionadas 3 gotas de detergente. Ao término desse tratamento, lavou-se as sementes em água deionizada autoclavada por quatro vezes, mantendo-as em água destilada autoclavada até a inoculação. Em seguida, foram inoculadas em meio de cultura composto por ágar + água. As sementes inoculadas foram mantidas em sala de crescimento a $26 \pm 2 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e temperatura de $25 \pm 2^\circ \text{C}$, por 30 dias para a germinação.

2.3 Multiplicação *in vitro*

A partir das plântulas obteve-se explantes de segmentos nodais, o meristema apical e as folhas mais jovens foram mantidas, visando reduzir o estresse do explante ao procedimento. Os explantes foram inoculados em meio de cultura MS na concentração de 50% avaliando-se a utilização de 6-benzilaminopurina (BAP) e de ácido naftaleno acético (ANA) nas concentrações de 0; 2,0; 4,0 e; 6,0 mg.L^{-1} . Após a inoculação, foram mantidos em sala de crescimento a $26 \pm 2 \mu\text{mol.m}^{-2} \text{s}^{-1}$, por 30 dias para o estabelecimento e, entre o 2º e 30º dia, foram realizadas quatorze avaliações dos parâmetros de sobrevivência e número de brotações.

O experimento de multiplicação *in vitro* foi conduzido em esquema fatorial 2 x 4 (2 hormônios e 4 concentrações), em delineamento inteiramente casualizado, com 10 repetições, sendo 1 semente equivalente a uma repetição. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) realizada por meio de teste F, sendo

ajustadas equações de regressão linear para os parâmetros analisados, utilizando o programa Sisvar (Ferreira, 2003).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

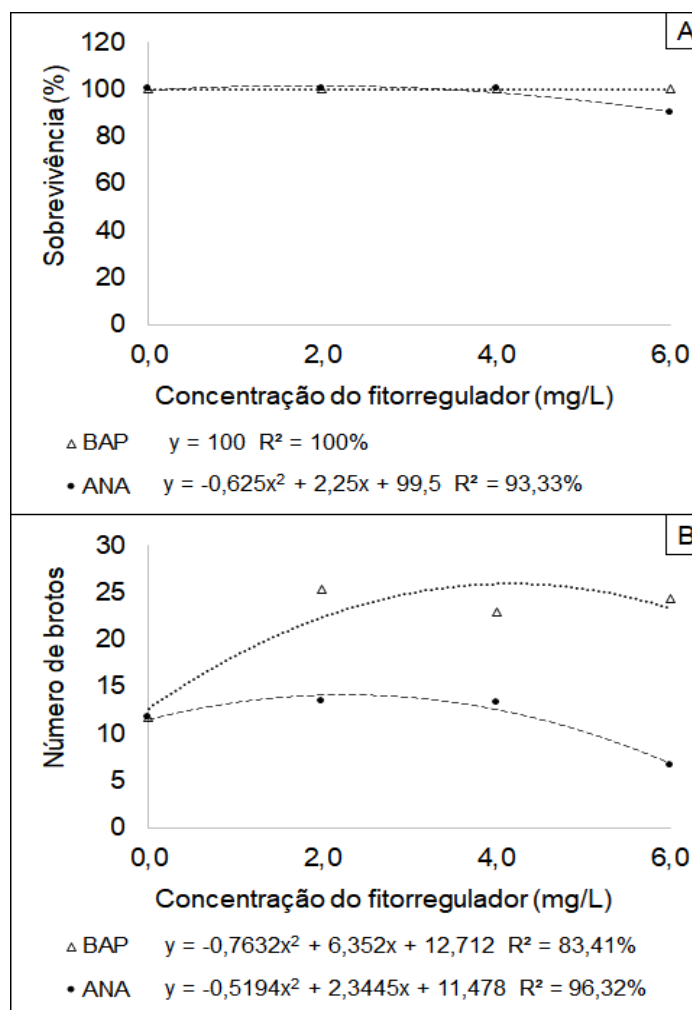
A sobrevivência do material cultivado *in vitro* foi equiparada entre os diferentes reguladores de crescimento, porém, com uma diminuição da sobrevivência dos explantes na concentração de 6,0 mg.L⁻¹ de ANA em comparação com a concentração de 6,0 mg.L⁻¹ de BAP (Figura 1A). Ainda é possível observar que a sobrevivência dos explantes foi próxima a 100% em todos os tratamentos, incluindo o tratamento sem a presença de fitorregulador. George *et al.* (2008) explica que o balanço hormonal dentro do material vegetal sofre alterações conforme são adicionadas doses de auxina e citocinina.

A multiplicação do material cultivado *in vitro* demonstrou diferenças entre número de brotos produzidos pelos explantes em cada tratamento (Figura 1B). Entre os reguladores de crescimento, o BAP apresentou maior número de brotos em todas as concentrações em comparação com o ANA. Entre as concentrações, foi possível observar que a dose mais baixa, 2,0 mg.L⁻¹ dos reguladores de crescimento apresentou um número maior ou igual de brotos produzidos em relação às demais doses, 4,0 mg.L⁻¹ e 6,0 mg.L⁻¹, demonstrando que o balanço hormonal dos explantes pode ser alterado com doses baixas de reguladores de crescimento para o *S. adstringens*.

Tais resultados corroboram com Nogueira *et al.* (2007) que obteve maior quantidade de brotos de *S. adstringens* com a dose de 3,0 mg.L⁻¹ de BAP e estímulos a formação de gemas na dose de 1,0 mg.L⁻¹ de BAP e, também, Nicioli *et al.* (2008), que concluíram que sem o uso de citocinina o Barbatimão produz brotações, mas com a adição do regulador de crescimento o número de brotações aumenta. Ainda, Pasqual & Barros (1992) verificaram que o uso de ANA afetou a ação do BAP para proliferação de brotos de Barbatimão e que, na ausência de ANA, a dose de 4,0

mg.L⁻¹ de BAP promoveu maior o número de brotos na organogênese direta.

Figura 1. Sobrevivência (A) e número de brotos (B) de explantes de *S. adstringens* em função de concentrações de BAP e ANA.



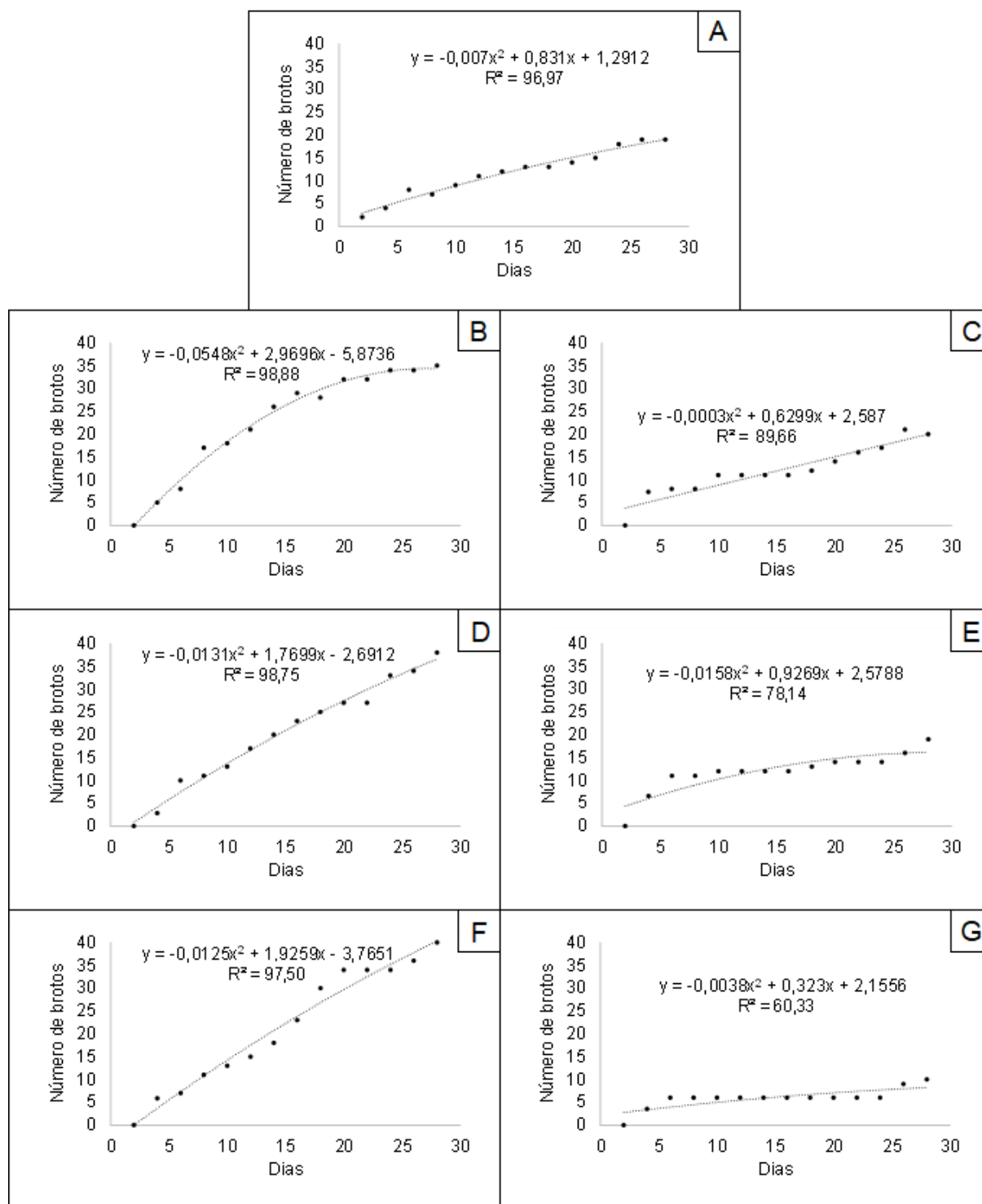
Legenda: A = Sobrevivência; B = Número de brotos. Fonte: Anna Luiza Mota Docha, 2022.

A Figura 2 apresenta a evolução do número de brotos de *S. adstringens* ao longo dos dias de avaliação, nos diferentes tratamentos de fitorreguladores estudados. Para a multiplicação sem uso de fitorreguladores observa-se aumento no número de brotações ao longo dos dias, atingindo cerca de 20 brotos após 30 dias (Figura 2A). Porém, analisando-se a emissão de brotos nos tratamentos com presença de BAP são observados valores superiores de brotos nas três concentrações, resultando em cerca de 35 brotos aos 30 dias (Figuras 2B, 2D e 2F).

Ainda, foi possível inferir que apesar da emissão de brotos, estes estagnaram nos tratamentos com ANA (Figura 2C, 2E e 2G; Anexo A), demonstrando como os fitormônios atuam na morfogênese dos tecidos vegetais do Barbatimão, com resultados superiores para o BAP.

A definição do fitorregulador adequado para uma determinada espécie é essencial nos trabalhos de propagação *in vitro*, resultando em maior número de brotos, broto viável para a etapa de alongamento, assim como otimização do tempo e custo de produção.

Figura 2. Número de brotos de *S. adstringens* produzidos por dia nos diferentes tratamentos de fitorreguladores: 0,0 mg.L⁻¹ (A); 2,0 mg.L⁻¹ de BAP (B); 2,0 mg.L⁻¹ de ANA (C); 4,0 mg.L⁻¹ de BAP (D); 4,0 mg.L⁻¹ de ANA (E); 6,0 mg.L⁻¹ de BAP (F); 6,0 mg.L⁻¹ de ANA (G).



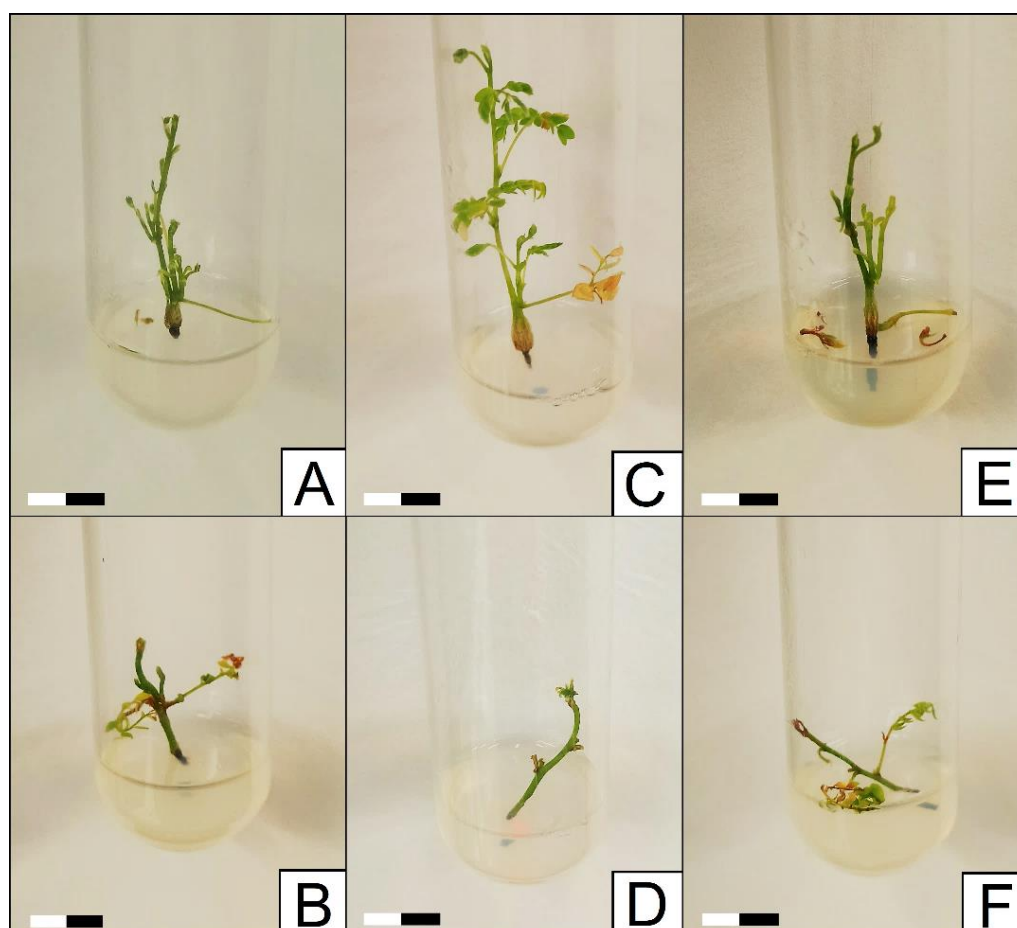
Fonte: Anna Luiza Mota Docha, 2022.

Combinando a análise gráfica com a análise visual, percebe-se que o tratamento T2 = 4,0 mg.L⁻¹ de BAP, apresentou o melhor resultado dado o desenvolvimento dos brotos em 30 dias (Figura 3C), que se encontram alongados e com folhas jovens. O tratamento T1 = 2,0 mg.L⁻¹ de BAP, apesar de produzir

quantidade similar de brotos em 30 dias (Figura 2B), estes não necessariamente são viáveis para a etapa de alongamento e enraizamento, conforme Figura 3A. Já o tratamento T3 = 6,0 mg.L⁻¹ de BAP, apresentou um resultado com brotos alongados viáveis à etapa de alongamento (Figura 3E), porém inferior ao tratamento T2.

As imagens das brotações nos tratamentos de diferentes concentrações de ANA (Figuras 3B, 3D e 3F) demonstram a menor quantidade de brotos quando comparado aos tratamentos com BAP, associado à presença de brotos menos alongados.

Figura 3. Brotações de *Stryphnodendron adstringens* aos 30 dias em função da aplicação de fitorreguladores: 2,0 mg.L⁻¹ de BAP (A); 2,0 mg.L⁻¹ de ANA (B); 4,0 mg.L⁻¹ de BAP (C); 4,0 mg.L⁻¹ de ANA (D); 6,0 mg.L⁻¹ de BAP (E); e 6,0 mg.L⁻¹ de ANA (F).



Barras = 1 cm. Fonte: Anna Luiza Mota Docha, 2022.

Trabalhos com outras espécies arbóreas utilizando BAP para obtenção de brotações, demonstraram que a citocinina favorece a multiplicação *in vitro*, mas que o balanço hormonal é relativo à espécie, estendendo a multiplicação por cerca de 70 dias. Costa *et al.* (2010) conseguiram aumento no número de brotos na multiplicação *in vitro* de mulungu (*Erythrina velutina* Willd) com o aumento da concentração de BAP em até 17,76 μ M. Bezerra *et al.* (2014) obtiveram aumento das brotações em explantes de Sabiá (*Mimosa caesalpinifolia* Benth.) em concentrações de até 17,76 μ mol/L de BAP, e redução com aumento da dosagem da citocinina. Miranda *et al.* (2020) obtiveram um aumento do desempenho na formação de brotos de angico-vermelho (*Anadenanthera macrocarpa* (Benth.) Brenan com o aumento de até 2,0 mg.L⁻¹ de BAP utilizada para explantes de segmentos nodais.

Conforme estudo de Goelzer *et al.* (2019) sobre a multiplicação *in vitro* de *Campomanesia adamantium* usando diferentes citocininas combinadas com ANA, concluiu-se que o uso do ANA é dispensável para o procedimento de multiplicação *in vitro*. Considerando que o fitorregulador ANA faz parte da categoria das auxinas, é esperado que sua presença no meio de cultura estimule a calogênese e rizogênese dos tecidos vegetais, porém não houve esse tipo de resposta dos explantes (Figuras 3B; 3D; 3F). Tal resultado pode indicar que a espécie produz altas concentrações de citocinina, inferindo que serão necessárias altas doses de auxina para etapa de alongamento e enraizamento das brotações para superar a reserva endógena.

Em suma, os reguladores de crescimento e suas concentrações interferem na multiplicação *in vitro* de *S. adstringens*, onde sua utilização aumenta o número de brotos produzidos pelo explante. A concentração 4,0 mg.L⁻¹ do fitorregulador BAP apresentou maior número de brotos viáveis.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O regulador de crescimento BAP favorece a multiplicação *in vitro* de

Stryphnodendron adstringes. O regulador de crescimento ANA possibilita a sobrevivência, porém com resultados inferiores ao BAP em relação ao número de brotos.

A concentração de 4,0 mg.L⁻¹ do regulador de crescimento BAP foi suficiente e mais eficaz para multiplicação de *Stryphnodendron adstringens* em comparação com as doses de 2,0 e 6,0 mg.L⁻¹.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BARRADAS, M. M.; HANDRO, W. Algumas observações sobre a germinação da semente do Barbatimão, *Stryphnodendron barbadetimam* (Vell.) Mart. (Leguminosae-Mimosoideae). **Boletim de Botânica**, São Paulo, v. 2, p. 139 - 150, 1974. Disponível em: <<http://www.jstor.org/stable/42871330>>. Acesso em: 25 set. 2021.

BEZERRA, R. M. D. F. *et al.* Efeito de 6-benzilaminopurina sobre a propagação *in vitro* de *Mimosa caesalpinifolia* Benth. (Fabaceae). **Revista Árvore**, v. 38, p. 771-778, 2014. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S0100-67622014000500001>>. Acesso em 29 mar. 2022.

BEZERRA, A. C. *et al.* Qualidade física, fisiológica e anatomia do tegumento de Fabaceae. **Meio Ambiente (Brasil)**, v. 1, n. 2, 2020. Disponível em: <<https://meioambientebrasil.com.br/index.php/MABRA/article/view/33>>. Acesso: 20 set. 2021.

BRASIL. Ministério da Saúde. Fitoterapia. **RENISUS**: relação nacional de plantas medicinais de interesse ao SUS. 2010. Disponível em: <<portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/RENISUS.pdf>>. Acesso em 01 abril. 2022.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Monografia da espécie *Stryphnodendron adstringens* (MART.) COVILLE (BARBATIMÃO)**. Brasil, 2014. 61 p. Disponível em: <<https://portal.arquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2014/novembro/25/Vers--o-cp-Stryphnodendron.pdf>>. Acesso em: 29 ago. 2021.

BRONDANI, G. E. *et al.* Chemical sterilization of culture medium: a low cost alternative to *in vitro* establishment of plants. **Scientia Forestalis**, v. 41, n. 98, p. 257-264, 2013. Disponível em: <<https://www.ipef.br/publicacoes/scientia/nr98/cap11.pdf>>. Acesso: 20 set. 2021.

CORTEZ, P. A.; SILVA, D. C.; CHAVES, A. L. F. **Manual prático de morfologia e anatomia vegetal**. Ilheus: Edithus, 2016. 92 p. Disponível em:

<http://www.uesc.br/editora/livrosdigitais2017/morfologia_anatomia_vegetal.pdf>. Acesso em 29 ago. 2021

COSTA, G. M. da; NEPOMUCENO, C. F.; SANTANA, J. R. F. de. Propagação *in vitro* de *Erythrina velutina*. **Ciência Rural**, v. 40, p. 1090-1096, 2010. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S0103-84782010005000084>>. Acesso em 29 mar. 2022.

FERREIRA, D. F. SISVAR: um programa para análises e ensino de estatística. **Revista Symposium (Lavras)**, v. 6, p. 36-41, 2008. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1413-70542011000600001&script=sci_arttext>. Acesso: 9 out. 2022.

FERRARI, M. P.; GROSSI, F.; WENDLING, I. **Propagação vegetativa de espécies florestais**. Colombo: Embrapa Florestas, 2004. Disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/215024/1/doc94.pdf>>. Acesso em: 29 ago. 2021.

GEORGE, E. F.; HALL, M. A.; KLERK, G. de. **Plant propagation by tissue culture**. 3rd Edition. Dordrecht: Springer, 2008. v. 1. p. 501. Disponível em: <<https://link.springer.com/book/10.1007/978-1-4020-5005-3>>. Acesso: 29 ago. 2021.

GOELZER, A. *et al.* Reguladores de crescimento na multiplicação *in vitro* de *Campomanesia adamantium* (Cambess.) O. Berg (Myrtaceae). **Brazilian Applied Science Review**, v. 3, n. 2, p. 1280-1291, 2019. Disponível em: <<https://brazilianjournals.com/ojs/index.php/BASR/article/view/1342/1214>>. Acesso em 29 mar. 2022.

HOFFMANN, A. Aclimação de mudas produzidas *in vitro* e *in vivo*. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 23, n. 216, p. 21-24, 2002. Disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/200022/1/7190-2002-p.21-24.pdf>>. Acesso: 29 ago. 2021.

LIMA, T. C. D. de *et al.* Breve revisão etnobotânica, fitoquímica e farmacologia de *Stryphnodendron adstringens* utilizada na Amazônia. **Revista Fitos**, [S. l.], v. 10, n. 3, p. 329-338, 2016. Disponível em: <<https://www.arca.fiocruz.br/handle/icict/19262>>. Acesso em: 25 jul. 2021.

MEIRA, M. *et al.* Barbatimão: ecologia, produção de tanino e potencial sócio econômico na região norte mineira. **Enciclopédia Biosfera**, v. 9, n. 16, 2013. Disponível em: <<https://conhecer.org.br/ojs/index.php/biosfera/article/view/3377>>. Acesso em: 25 jul. 2021.

MIRANDA, J. S. *et al.* Tipos de explantes e concentração de bap (6-benzilaminopurina) no estabelecimento *in vitro* de angico-vermelho. **Revista Ouricuri**, v. 10, n. 1, p. 1-8, 2020. Disponível em: <

<https://doi.org/10.29327/ouricuri.10.1-8>>. Acesso em: 29 mar. 2022.

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. Disponível em: <<https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x>>. Acesso em: 29 ago. 2021.

NICIOLI, P. M. *et al.* Ajuste do processo de micropropagação de Barbatimão. **Ciência Rural**, v. 38, p. 685-689, 2008. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S0103-84782008000300014>>. Acesso: 29 ago. 2021.

NOGUEIRA, G. F. *et al.* Meios de cultura e BAP na organogênese direta em Barbatimão. **Ornamental Horticulture**, v. 13, p. 843-846, 2007. Disponível em: <<https://doi.org/10.14295/oh.v13i0.1526>>. Acesso em: 25 nov. 2021.

OLIVEIRA, L. S. de *et al.* Micropropagation of *Eucalyptus cloeziana* mature trees. **Australian Forestry**, v. 78, n. 4, p. 219-231, 2015. Disponível em: <<https://doi.org/10.1080/00049158.2015.1073211>>. Acesso: 29 ago. 2021.

OLIVEIRA, L. S. de; DIAS, P. C.; BRONDANI, G. E. Micropropagação de espécies florestais brasileiras. **Pesquisa Florestal Brasileira**, v. 33, n. 76, p. 439-453, 2013. Disponível em: <<https://pfb.cnpf.embrapa.br/pfb/index.php/pfb/article/view/481>>. Acesso em: 10 out. 2021.

PASQUAL, M.; BARROS, I. de. Efeitos do ácido naftaleno acético e 6-Benzilaminopurina sobre a proliferação de brotos *in vitro* em barbatimão (*Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 27, n. 7, p. 1017-1019, 1992. Disponível em: <<http://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/handle/doc/105656>>. Acesso em: 10 out. 2021.

PASQUAL, M. *et al.* Prevenção de Contaminações microbianas na cultura de células, tecidos e órgãos de plantas. *In*: SCHERWINSKI-PEREIRA, J. E. (ed.). **Contaminações microbianas na cultura de células, tecidos e órgãos de plantas**. 2. ed. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2012. Disponível em: <<https://www.bdpa.cnptia.embrapa.br/consulta/busca?b=ad&id=1077487&biblioteca=vazio&busca=1077487&qFacets=1077487&sort=&paginacao=t&paginaAtual=1>>. Acesso em: 25 nov. 2021.

QUISEN, R. C.; ANGELO, P. C S. **Manual de procedimentos do Laboratório de Cultura de Tecidos da Embrapa Amazônia Ocidental**. Manaus: Embrapa Amazônia Ocidental, 2008. (Documentos, 61). Disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/47132/1/Doc-61-A5.pdf>>. Acesso: 29 ago. 2021.

SCALON, V. R. **Revisão taxonômica do gênero *Stryphnodendron* Mart. (leguminosae-mimosoideae)**. 2007. Tese (Doutorado) – Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007. Disponível em: <<https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/41/41132/tde-29012008-113442/pt-br.php>>. Acesso em: 18 ago. 2021.

SOUZA, J. C. de; RESCAROLLI, C. L. de S.; NUNEZ, C. V. Produção de metabólitos secundários por meio da cultura de tecidos vegetais. **Revista Fitos**, Rio de Janeiro, v. 12, n. 3, p. 269-280, out. 2018. Disponível em: <<https://www.arca.fiocruz.br/handle/icict/30339>>. Acesso em: 25 nov. 2021.

TAIZ, L. *et al.* **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2017. 858 p.

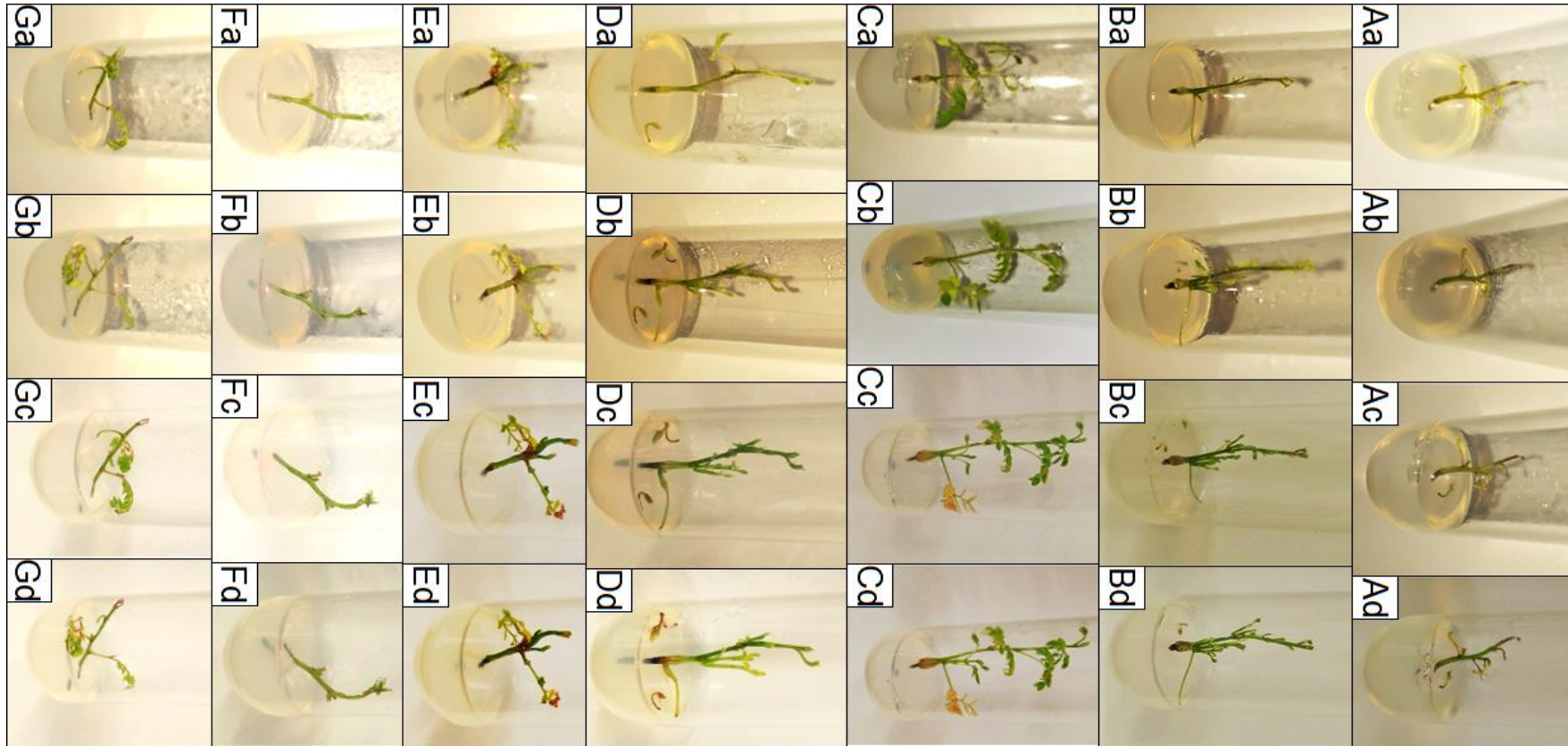
5 CONCLUSÕES / CONSIDERAÇÕES FINAIS

A porcentagem de germinação *in vitro* de *Stryphnodendron adstringens* nos meios de cultura MS e WPM foi semelhante às taxas observadas no meio de cultura constituído por água + ágar, uma vez que a semente proporciona a nutrição necessária para que a plântula emerja da semente. Após o desenvolvimento das raízes o meio de cultura pode afetar o crescimento da plântula, haja vista que a composição do meio de cultura será absorvida e metabolizada pela planta. Neste contexto, o meio MS favoreceu o crescimento da parte aérea, incrementando em comprimento, diâmetro e teor de clorofila. O meio WPM favoreceu o crescimento das raízes, contudo o crescimento da parte aérea também foi favorável, apesar de inferior ao MS. Recomenda-se para germinação *in vitro* de *Stryphnodendron adstringens* a utilização de um meio de cultura composto por ágar + água. Para multiplicação *in vitro* o meio MS e para o alongamento e enraizamento o meio WPM.

A multiplicação *in vitro* para segmentos nodais com ápice meristemático da espécie ocorre sem adição de fitormônios, porém a utilização da citocinina BAP favorece o procedimento, estimulando a organogênese do explante, já a auxina ANA não agrega vantagens ao procedimento, desequilibrando o balanço hormonal e estagnando o crescimento das brotações. Recomenda-se a utilização de BAP em uma dose de 4 mg.L⁻¹, a fim de se obter brotações em 30 dias viáveis para o procedimento de alongamento e enraizamento da espécie.

ANEXO

ANEXO A – Desenvolvimento das brotações de *Stryphnodendron adstringens* até 30 dias



Legenda: T0 = tratamento testemunha, letra A, onde: Aa = 7 dias; Ab = 11 dias; Ac = 25 dias; Ad = 28 dias. T1 = Tratamento 2,0 mg.L⁻¹ de BAP, letra B, onde: Ba = 14 dias; Bb = 23 dias; Bc = 25 dias; Bd = 30 dias. T2 = Tratamento 4,0 mg.L⁻¹ de BAP, letra C, onde: Ca = 14 dias; Cb = 18 dias; Cc = 28 dias; Cd = 30 dias. T3 = Tratamento 6,0 mg.L⁻¹ de BAP, letra D, onde: Da = 14 dias; Db = 25 dias; Dc = 28 dias; Dd = 32 dias. T4 = Tratamento 2,0 mg.L⁻¹ de ANA, letra E, onde: Ea = 11 dias; Eb = 23 dias; Ec = 28 dias; Ed = 32 dias. T5 = Tratamento 4,0 mg.L⁻¹ de ANA, letra F, onde: Fa = 4 dias; Fb = 18 dias; Fc = 28 dias; Fd = 32 dias. T6 = Tratamento 6,0 mg.L⁻¹ de ANA, letra G, onde: Ga = 14 dias; Gb = 25 dias; Gc = 30 dias; Gd = 32 dias. Barras = 1,0 cm.