

# GERMINAÇÃO *IN VITRO* E ACLIMATAÇÃO DE PLÂNTULAS DE SUCUPIRA-PRETA (*Bowdichiavirgilioides* Kunth.)

## *IN VITRO* GERMINATION AND ACCLIMATION OF SUCUPIRA-PRETA SEEDLINGS (*Bowdichia virgilioides* Kunth.)

Luciana Coelho de MOURA<sup>1</sup>; Miranda TITON<sup>2</sup>; José Sebastião Cunha FERNANDES<sup>2</sup>; Reynaldo Campos SANTANA<sup>2</sup>

1. Mestre em Ciência Florestal, Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri – UFVJM, Diamantina, MG, Brasil. lucianacm2005@yahoo.com.br; 2. Professor (a) Adjunto (a) da Universidade Federal dos vales do Jequitinhonha e Mucuri - UFVJM, Diamantina, MG, Brasil.

**RESUMO:** Este trabalho teve como objetivos avaliar a germinação *in vitro* e a aclimação de plantas de sucupira-preta (*Bowdichia virgilioides*). Sementes escarificadas e não escarificadas foram inoculadas em tubos de ensaio contendo meio de cultura MS ou WPM, com 100 ou 50% dos sais e vitaminas; suplementados com dois tipos de aditivos, carvão ativado e PVP, e mantidas em sala de cultura. Utilizou-se um delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 2x4 (dois aditivos e quatro formulações de meio de cultura) com quatro repetições e seis sementes por repetição. Aos 30 dias obteve-se o percentual de germinação e o índice de velocidade de germinação (IVG). As plantas foram transferidas para tubetes, contendo substrato e aclimatadas em casa de vegetação, onde permaneceram durante 60 dias, sendo transferidas para casa de sombra, onde permaneceram por mais 60 dias. Aos 30, 60, 90 e 120 dias avaliaram-se o percentual de sobrevivência e a altura das mudas aclimatadas. A germinação *in vitro* de sementes escarificadas apresenta os maiores percentuais utilizando-se os meios de cultura MS e WPM reduzidos à metade da concentração dos sais e vitaminas. A germinação ocorre independentemente do aditivo utilizado tanto para sementes escarificadas como para as não escarificadas. A aclimação das plantas germinadas *in vitro* ocorre independentemente do histórico de aditivos ou meios de cultura utilizados.

**PALAVRAS-CHAVE:** *Bowdichiavirgilioides* Kunth. Cultura de tecidos. Meio de cultura. Propagação de plantas.

## INTRODUÇÃO

A espécie *Bowdichia virgilioides*, conhecida vulgarmente como sucupira-preta, é uma planta arbórea pertencente à família Fabaceae com ampla dispersão pelo Brasil. Pode ser utilizada em programas de recuperação de áreas degradadas de preservação permanente, e, sua madeira, por ser de alta densidade e longa durabilidade natural, é empregada na construção civil e na fabricação de móveis (LORENZI, 2002).

A produção de mudas de sucupira-preta é realizada geralmente via seminal e a germinação só ocorre em sementes viáveis, não dormentes e sob condições ambientais favoráveis. Suas sementes possuem impermeabilidade tegumentar à água e a escarificação química com H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> por 5 minutos é indicada para a superação da dormência (SMIRDELE; SOUZA, 2003).

A micropropagação é uma técnica de propagação vegetativa que pode ser utilizada para certas espécies que tem a semente como insumo limitante, com dificuldade de germinação e armazenamento, permitindo também a maximização da qualidade e uniformidade dos plantios quando utilizados genótipos selecionados, além da propagação de espécies de interesse econômico de

maneira a preservar as florestas naturais (XAVIER et al., 2003).

A micropropagação é dividida em cinco etapas, sendo: 0) preparo de plantas matrizes; 1) estabelecimento de culturas assépticas; 2) multiplicação; 3) indução, alongamento e enraizamento e 4) aclimação em condições de casa de vegetação (DEBERGH; MAENE, 1981). Uma das formas de estabelecimento de cultura assépticas é a germinação *in vitro*.

As atividades de cultivo *in vitro* são realizadas em ambiente asséptico e com temperatura e iluminação controladas, visando a otimização das respostas aos estímulos termo e fotoperiódico, aplicados ao material *in vitro*, entre outros fatores (TEIXEIRA; TORRES, 1999). As soluções de sais e açúcares que compõem o meio de cultura possuem como principal função fornecer substâncias essenciais para o crescimento e controlar, em grande parte, o padrão de desenvolvimento *in vitro* (XAVIER et al., 2013).

Diversas formulações de meios de cultura têm sido utilizadas no cultivo *in vitro*. Não há uma formulação-padrão, mas o meio MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962), com suas modificações e diluições, tem sido utilizado com sucesso para diversas espécies. Para espécies

lenhosas, entretanto, o meio MS não se mostra satisfatório, e em algumas situações e composições mais diluídas em macronutrientes podem proporcionar melhor desempenho (NOGUEIRA et al., 2004). O meio nutritivo WPM (LLOYD; McCOWN, 1981), por exemplo, apresenta 25% das concentrações de íons nitrato e amônia do meio MS, além de maior quantidade de potássio e um alto nível de íons sulfato, tendo sido amplamente utilizado para a micropropagação de espécies lenhosas (PASQUAL, 2001).

Aditivos podem ser adicionados ao meio de cultura para diminuir a intoxicação de culturas pelos fenóis oxidados produzidos pelos próprios tecidos vegetais, como é o caso do PVP (polivinilpirrolidona) e do carvão ativado, que além de função antioxidante, pode estimular o enraizamento, restaurar a capacidade embriogênica em culturas (CALDAS et al., 1999) e, em algumas condições, regular o crescimento da planta *in vitro* (XAVIER et al., 2013).

A aclimação é o processo que envolve o transplante da planta cultivada *in vitro* para a casa de vegetação (GRATTAPAGLIA; MACHADO, 1999), objetivando reduzir o estresse causado pela diferença entre os ambientes *in-vitro* e *ex-vitro* e constitui-se numa etapa onde ocorrem grandes perdas de explantes (DUTRA et al., 2009).

O objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito dos meios de cultura MS e WPM, combinados com dois aditivos, PVP e carvão ativado, na germinação *in vitro* de sementes escarificadas e não escarificadas de sucupira-preta (*Bowdichia virgilioides*), bem como a aclimação das plantas germinadas.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Material Vegetal

Frutos de sucupira-preta foram coletados em seis matrizes procedentes do Parque Estadual do Rio Preto, localizado no município de São Gonçalo do Rio Preto/MG. Após beneficiadas, as sementes foram armazenadas em sacos de polietileno e mantidas em câmara fria com temperatura média de 7°C, e umidade relativa média de 30%. Para realização dos experimentos 1 e 2, foram utilizadas sementes 10 e com 12 meses de armazenamento.

Todos os experimentos foram conduzidos no laboratório de Melhoramento Florestal e no viveiro de mudas do Centro Integrado de Propagação de Espécies Florestais - CIPEF da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri – UFVJM, localizada em Diamantina – MG,

durante o período de outubro de 2010 a junho de 2011.

### Experimento 1 (sementes não escarificadas)

Sementes de sucupira-preta, armazenadas durante 10 meses, foram lavadas previamente com água destilada e, em câmara de fluxo laminar, enxaguadas com água deionizada e autoclavada, imersas em álcool 70% por 1 minuto e, em seguida, em solução de hipoclorito de sódio 5% por 5 minutos, sendo adicionado 4 a 5 gotas de Tween 20, para cada 100mL de solução. As sementes foram novamente enxaguadas com água deionizada e autoclavada e inoculadas em tubos de ensaio contendo 10 mL do meio de cultura previamente preparado.

Os tratamentos foram o resultado da combinação dos aditivos CA (carvão ativado – 800 mgL<sup>-1</sup>) e PVP (polivinilpirrolidona – 1000 mgL<sup>-1</sup>) com os meios de cultura MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962) e WPM (LLOYD; McCOWN, 1981) (Tabela 1), contendo 100% ou 50% dos sais e vitaminas, com as denominações: T1 (CAMS); T2 (CAMS/2); T3 (CAWPM); T4 (CAWPM/2); T5 (PVPMS); T6 (PVPMS/2); T7 (PVPWPM) e T8 (PVPWPM/2). Nos tratamentos T1, T3, T5 e T7 os meios MS e WPM continham 100% dos sais e vitaminas e nos demais tratamentos 50% (MS/2 e WPM/2). Adotou-se um delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 2x4 (dois tipos de aditivos e quatro formulações de meios de cultura) com quatro repetições e seis sementes por repetição.

Todos os tratamentos receberam 100 mg L<sup>-1</sup> de mio-inositol, 30 g L<sup>-1</sup> de sacarose e 7g L<sup>-1</sup> de ágar MERCK®, tiveram pH ajustado para 5,7 ± 0,1 e foram autoclavados por 15 minutos à temperatura de 121°C e pressão de 1atm. Após a inoculação, as sementes foram mantidas em sala de cultura sob fotoperíodo de 16 horas, intensidade luminosa de aproximadamente 2000 lux e temperatura de 25 ± 2°C.

As avaliações foram realizadas diariamente, por 30 dias, registrando-se o número de sementes germinadas. Foram consideradas sementes germinadas as que apresentavam protrusão da raiz primária ≥ 2mm. Aos 30 dias após a inoculação foram avaliados o percentual de germinação e o índice de velocidade de germinação (IVG), calculado de acordo com Maguire (1962).

$$IVG = \frac{N_1}{D_1} + \frac{N_2}{D_2} + \dots + \frac{N_n}{D_n}$$

Em que:

N1 = n° de sementes germinadas na 1° contagem

D1 = n° de dias para a 1° contagem  
 Nn = n° de sementes germinadas na última contagem  
 Dn = n° de dias para a última contagem

Os dados foram analisados por meio de análise de variância e pela análise estatística descritiva utilizando-se o software Statistica 10.0 (Statsoft, 2010).

**Tabela 1:** Composição dos meios de cultura MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962) e WPM (LLOYD; McCOWN, 1981) usados na germinação *in vitro* de sucupira-preta

Composto	Fórmula Química	Concentração (mg L <sup>-1</sup> )	
		MS	WPM
<b>Macronutrientes</b>			
Nitrato de Amônio	NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	1.650,0	400,0
Nitrato de Potássio	KNO <sub>3</sub>	1.900,0	-
Cloreto de Cálcio	CaCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O	440,0	96,0
Sulfato de Potássio	K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	-	990,0
Nitrato de Cálcio	Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> .4H <sub>2</sub> O	-	556,0
Fosfato de Potássio	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	170,0	170,0
Sulfato de Magnésio	MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	370,0	370,0
<b>Micronutrientes</b>			
Ácido Bórico	H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	6,2	6,2
Molibdato de Sódio	NaMoO <sub>4</sub> .2H <sub>2</sub> O	0,25	0,25
Cloreto de Cobalto	CoCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O	0,025	-
Sulfato de Manganês	MnSO <sub>4</sub> .H <sub>2</sub> O	16,9	22,3
Sulfato de Zinco	ZnSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	8,6	8,6
Sulfato de Cobre	CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O	0,025	0,25
Iodeto de Potássio	KI	0,83	-
<b>FeEDTA</b>			
Sódio EDTA	Na <sub>2</sub> E.D.T.A.	37,2	37,2
Sulfato de Ferro	Fe <sub>2</sub> (SO <sub>4</sub> ) <sub>3</sub>	27,8	27,8
<b>Vitaminas</b>			
Ácido Nicotínico	-	0,5	0,5
Piridoxina. HCL	-	0,1	0,5
Tiamina. HCL	-	0,1	1,0
Glicina	-	2,0	2,0

### Experimento 2 (sementes escarificadas)

Sementes de sucupira-preta armazenadas durante 12 meses foram desinfestadas, escarificadas e colocadas para germinar *in vitro*. Todos os procedimentos do item 2.2. foram seguidos, porém, após adesinfestação (descrita no item 2.2.), as sementes foram submetidas ao tratamento de escarificação química com ácido sulfúrico concentrado por 5 minutos, antes de serem inoculadas em tubos de ensaio contendo meio de cultura. Os tratamentos (tipos de aditivos x formulações de meio de cultura) foram semelhantes aos descritos no item 2.2.

A avaliação foi realizada diariamente, como descrito no item 2.2., e os dados foram analisados

por meio de análise de variância, pelo teste Tukey em nível de 5% de probabilidade e pela análise descritiva utilizando o software Statistica 10.0 (STATSOFT, 2010).

### Transplântio e Aclimação

Plantas dos experimentos descritos anteriormente foram transplantadas para tubetes de 55 cm<sup>3</sup>, contendo substrato composto por 60% de vermiculita e 40% de casca de arroz carbonizada, adicionado de 7 g L<sup>-1</sup> de formulado de liberação controlada (três a quatro meses) Osmocote® (19-6-10). As plantas foram mantidas por 60 dias em casa de vegetação coberta com filme plástico (150 microns de espessura) e com tela de sombreamento

de 50% e com irrigações diárias de 30 segundos a cada 30 minutos por nebulização (nebulizador FOGGER com vazão de  $7 \text{ Lh}^{-1}$ ). Após esse período, as mudas foram transferidas para casa de sombra coberta com tela de sombreamento de 50% e com cinco irrigações diárias de cinco minutos (micro aspersor bailarina com vazão de  $85 \text{ Lh}^{-1}$ ), por 60 dias. Os valores de temperatura e umidade relativa foram computados diariamente nos dois ambientes.

Aos 30, 60, 90 e 120 dias após o transplântio foram avaliados o percentual de sobrevivência e a altura das mudas aclimatadas, que foram analisados por meio de análise de variância e análise descritiva.

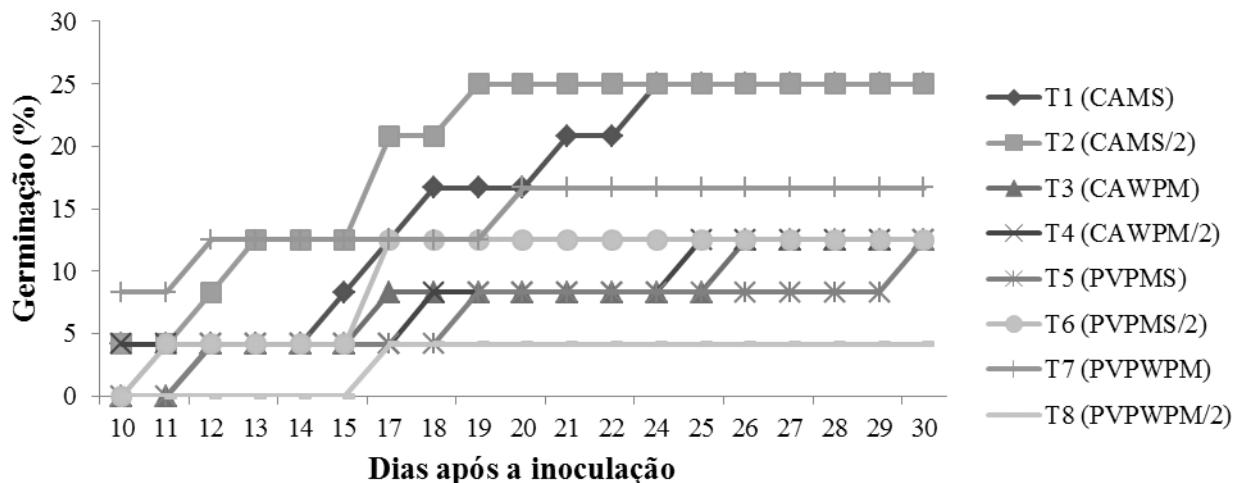
As plantas provenientes de sementes que não foram escarificadas (experimento 1) foram aclimatadas respeitando-se o histórico dos tratamentos da germinação *in vitro*, mantendo-se de uma a seis plantas por tratamento.

As plantas provenientes de sementes que receberam tratamento de escarificação (experimento 2) foram aclimatadas respeitando-se o histórico dos tratamentos da germinação *in vitro* em delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial (2x4) com três repetições e uma a seis plantas por repetição.

## RESULTADOS

### Experimento 1 (sementes não escarificadas)

A germinação iniciou 10 dias após a inoculação para T1 (CAMS), T2 (CAMS/2), T4 (CAWPM/2) e T7 (PVPWPM); 11 dias para T6 (PVPMS/2); 12 dias para T3 (CAWPM) e T5 (PVPMS); e 17 dias para T8 (PVPWPM/2) (Figura 1). Observou-se, pela ANOVA, que não houve efeito significativo ( $p > 0,05$ ) da interação entre os aditivos e meios de cultura e de cada fator isoladamente sobre o percentual de germinação e o índice de velocidade de germinação (IVG).



**Figura 1:** Curva do percentual de germinação de sementes não escarificadas de sucupira-preta em função dos tratamentos durante 30 dias.

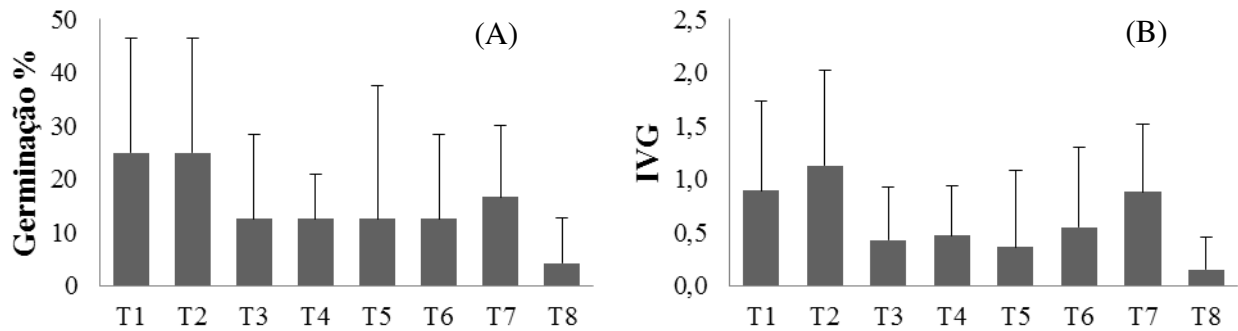
No geral, o percentual de germinação e o IVG foram baixos, não ultrapassando 25% e 1,12 respectivamente (Figuras 2A e 2B). Os maiores percentuais de germinação ocorreram com o uso do carvão ativado combinado com os meios MS 100% (T1) ou 50% (T2) da concentração de sais e vitaminas. Para o IVG, os maiores valores foram obtidos com o uso do carvão ativado combinado com o meio MS/2, com valor de 1,12 (T2) e com o meio MS, com valor de 0,89 (T1), e ainda com o uso do PVP combinado com o meio WPM, com valor de 0,88 (T7).

Durante a permanência das plantas na casa de vegetação, a temperatura média foi de  $23,3^{\circ}\text{C}$  e a

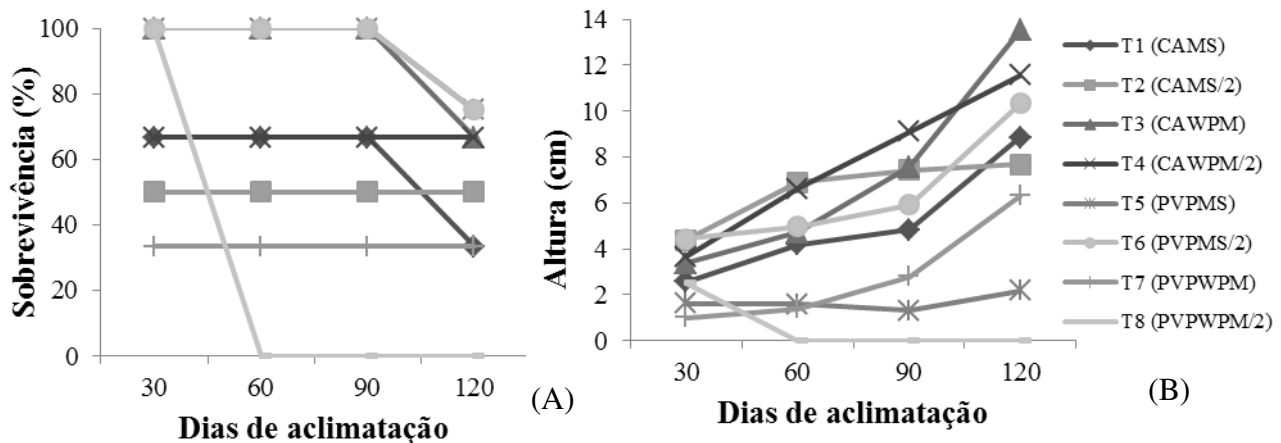
umidade relativa média de 70%, em casa de sombra, a temperatura média foi de  $19,7^{\circ}\text{C}$  e a umidade relativa média de 86,6%. Os tratamentos com maior percentual de sobrevivência, aos 30, 60 e 90 dias após o transplântio foram T4 (carvão ativado + meio WPM/2), T5 (PVP + meio MS) e T6 (PVP + meio MS/2) todos com 100% de sobrevivência (Figura 3A). Aos 120 dias, os tratamentos T5 e T6 foram também os que apresentaram maiores percentuais de sobrevivência, ambos com 75%, e o tratamento T3 e T4 apresentaram percentual de sobrevivência de 66,7% (Figura 3A). Em relação à altura das mudas aos 120 dias, os melhores tratamentos foram T3 (carvão

ativado + meio WPM) com altura de 13,5 cm, T4 (carvão ativado + meio WPM/2) com altura de 11,6

cm e T6 (PVP + meio MS) com altura de 10,3 cm (Figura 3B).



**Figura 2:** Percentual de germinação (A) e índice de velocidade de germinação (IVG) (B) de sementes não escarificadas de sucupira-preta em função dos tratamentos. As barras indicam o desvio padrão.



**Figura 3:** Percentual de sobrevivência (A) e crescimento em altura (B) de plantas de sucupira-preta, germinadas *in vitro* a partir de sementes não escarificadas, em função dos tratamentos, aos 30, 60, 90 e 120 dias de aclimação.

### Experimento 2 (sementes escarificadas)

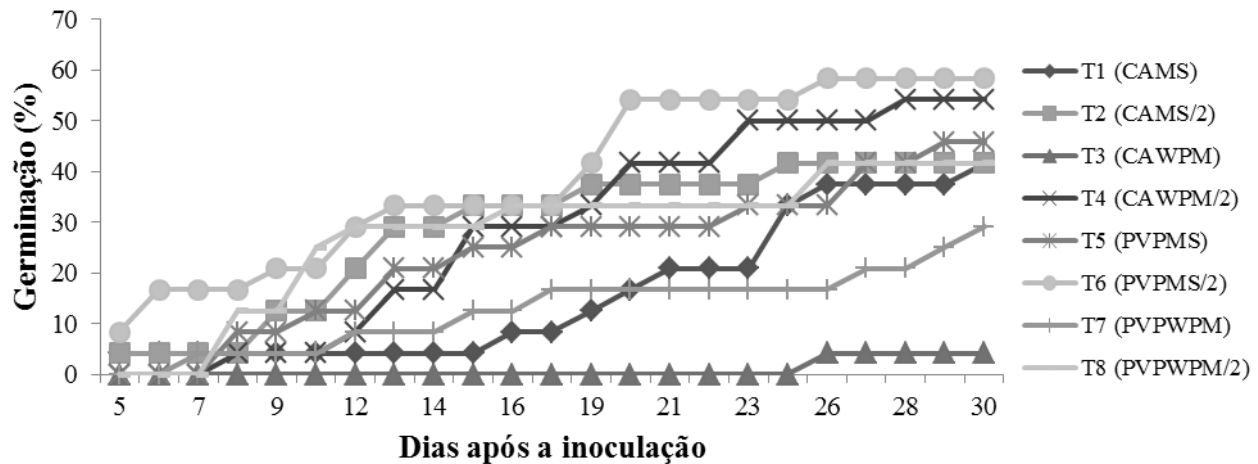
A germinação iniciou após cinco dias da inoculação para T1 (CAMS), T2 (CAMS/2) e T6 (PVPMS/2); sete dias para T7 (PVPWPM); oito dias para T4 (CAWPM/2), T5 (PVPMS) e T8 (PVPWPM/2); e 26 dias para T3 (CAWPM) (Figura 4). Observou-se, pela ANOVA, que não houve efeito significativo ( $p > 0,05$ ) da interação entre os aditivos e meios de cultura e do aditivo sobre o percentual de germinação e o índice de velocidade de germinação (IVG) (Tabela 2). Observou-se diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre os diferentes meios de cultura tanto para o percentual de germinação como para o IVG (Tabela 2). Observou-se superioridade no percentual de germinação dos meios MS/2 e WPM/2 em relação ao WPM (Tabela 3). Para o IVG o meio MS/2 foi estatisticamente

superior ao WPM (Tabela 3). Numericamente, o tratamento T6 (PVP + meio MS) foi o que apresentou maiores médias no percentual de germinação e no IVG (Figura 5A e 5B).

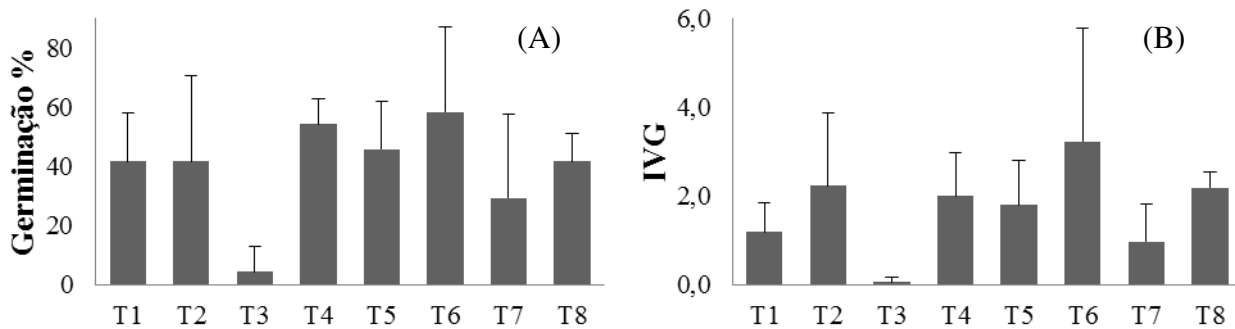
Durante a permanência das plantas na casa de vegetação, a temperatura média foi de 21,1°C e a umidade média de 81,6%, e na casa de sombra, a temperatura média foi de 17,0°C e a umidade média de 82,2%. Na fase de aclimação, aproximadamente 60 dias após o transplante, as plantas foram atacadas por insetos, comprometendo o crescimento e sobrevivência das mudas. Entretanto, até os 60 dias, os tratamentos que se destacaram em relação à sobrevivência foram T1 (carvão ativado + meio MS) e T3 (PVP + meio WPM) com 100% de sobrevivência após 30 e 60 dias (Figura 6A). No geral, as mudas não ultrapassaram 4,46 cm de altura após 60 dias, valor

inferior ao encontrado no experimento de germinação da sucupira-preta não escarificada (Item 3.1.). Os melhores tratamentos foram T3 (carvão

ativado + meio WPM) com altura de 4,46 cm e T2 (carvão ativado + meio MS/2) com altura de 3,95 cm após 60 dias (Figura 6B).



**Figura 4:** Curva do percentual de germinação de sementes escarificadas de sucupira-preta em função dos tratamentos durante 30 dias.



**Figura 5:** Percentual de germinação (A) e índice de velocidade de germinação (IVG) (B) de sementes escarificadas de sucupira-preta em função dos tratamentos. As barras indicam o desvio-padrão.

**Tabela 2:** Resumo da análise de variância para os dados de percentual de germinação (G%) e índice de velocidade de germinação (IVG) de sementes escarificadas de sucupira-preta

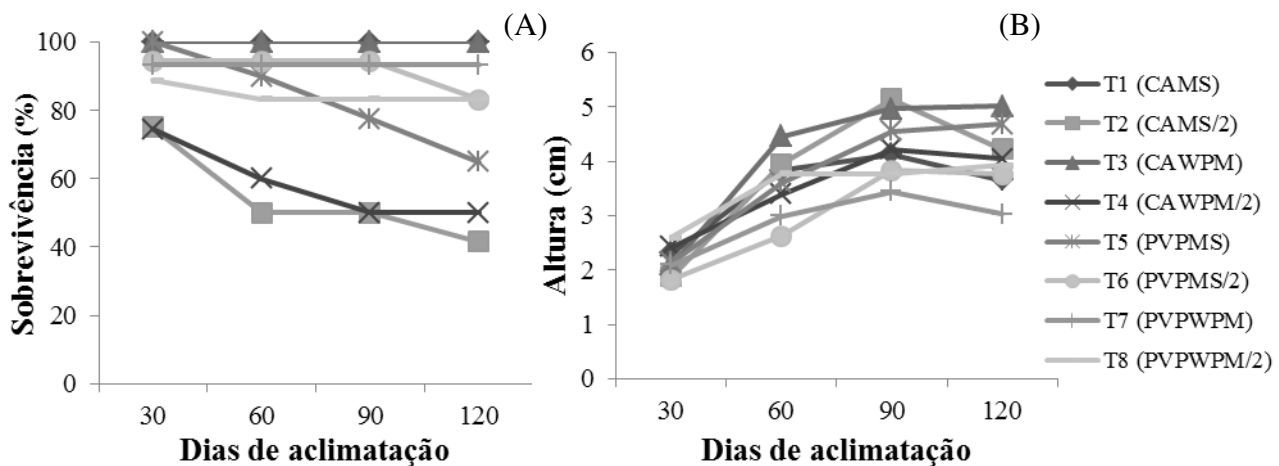
FV	GL	Quadrados Médios	
		G(%)	IVG
Aditivo	1	703,12 <sup>ns</sup>	3,72 <sup>ns</sup>
Meio de cultura	3	2045,72 <sup>**</sup>	7,11 <sup>*</sup>
Aditivo x Meio de cultura	3	587,38 <sup>ns</sup>	0,27 <sup>ns</sup>
Resíduo	24	379,05	1,55
MédiaGeral		40,10	1,70
CV <sub>exp.</sub> (%)		48,55	73,24

<sup>ns</sup> valor não significativo pelo teste F a 5% de probabilidade; <sup>\*\*</sup> e <sup>\*\*\*</sup> valores significativos pelo teste F a 5% e a 1% de probabilidade respectivamente; FV = fonte de variação; GL = graus de liberdade; CV<sub>exp.</sub> = coeficiente de variação experimental.

**Tabela 3:** Percentual de germinação (G%) e índice de velocidade de germinação (IVG) de sementes escarificadas de sucupira-preta em função dos diferentes meios de cultura

Meio de Cultura	G (%)	IVG
MS	43,75ab	1,48ab
MS/2	52,08 a	2,73 a
WPM	18,75 b	0,51 b
WPM/2	47,92 a	2,09ab

Valores em uma mesma coluna, seguidos por uma mesma letra, não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

**Figura 6:** Percentual de sobrevivência (A) e crescimento em altura (B) de plantas de sucupira-preta, germinadas *in vitro* a partir de sementes escarificadas, em função dos tratamentos, aos 30, 60, 90 e 120 dias de aclimação.

## DISCUSSÃO

O baixo percentual de germinação para as sementes não escarificadas obtido neste trabalho (máximo de 25%) pode ser explicado pela dormência tegumentar existente na sucupira-preta. A impermeabilidade do tegumento restringiu a entrada de água e oxigênio, retardando o processo de emergência em sementes de chichá (*Sterculia foetida* L.) (SANTOS et al., 2004). Em sucupira-preta, Albuquerque et al. (2007) e Gonçalves et al. (2008) observaram 11% e 20% de sementes germinadas, respectivamente, em condição de BOD, para sementes que não receberam nenhum tratamento de escarificação.

Efeitos significativos dos meios de cultura sobre a germinação *in vitro* de sementes também foram observados por Nogueira et al. (2004) estudando as concentrações de 50 e 100% dos meios MS e WPM em sementes de murici-pequeno (*Byrsonima intermedia*), onde o meio MS 50% foi o que proporcionou maior germinação dessas sementes.

Estudando os efeitos dos aditivos PVP e carvão ativado, Melo et al. (2001) encontraram resultados não-significativos na germinação *in vitro* de embriões de guarirrobeira (*Syagrus oleracea*). Resultados diferentes foram encontrados por Disarz; Corder (2009), trabalhando com a micropropagação de acácia (*Acacia mearnsii*), que observaram menor formação de calos, maior formação de raízes e ausência de clorose em explantes subcultivados em meio MS com a adição de carvão ativado.

Neste trabalho, a redução dos sais e vitaminas a 50% dos meios de cultura MS e WPM proporcionou um aumento no processo de germinação das sementes escarificadas e pode estar relacionado ao balanço osmótico, onde o meio nutritivo muito concentrado pode prejudicar o processo germinativo. Resultados semelhantes foram encontrados por Nogueira et al. (2004), trabalhando com murici-pequeno (*Byrsonima intermedia*). No presente trabalho o meio de cultura MS com 100% dos sais e vitaminas também proporcionou um alto percentual de germinação e IVG. O meio de cultura MS 100% foi satisfatório na multiplicação de gemas axilares de acácia (*Acacia*

*mearnsii*) (DISARZ; CORDER, 2009). No entanto, devido à semelhança dos resultados obtidos em relação à redução de 50% dos sais e vitaminas, recomenda-se o uso dessa concentração do meio de cultura para redução dos custos.

A fase de transferência das plantas estabelecidas *in vitro*, visando à aclimação e rustificação em condições *ex vitro*, constitui-se em uma importante etapa na formação de mudas de qualidade, principalmente porque esse material passa de uma condição heterotrófica para a autotrófica, sofrendo estresses fisiológicos (BANDEIRA et al., 2007). No presente caso, não foram encontradas diferenças significativas entre os tratamentos para o percentual de sobrevivência e para a altura das mudas aclimatadas de sucupira-preta. Isso pode estar relacionado ao fato de as plantas já estarem enraizadas no momento em que foram repicadas do tubo de ensaio para o tubete, o que facilitou sua adaptação ao novo ambiente, independentemente do histórico de aditivo ou meio de cultura em que foi germinada. Resultados diferentes foram encontrados por Santos et al. (2006), trabalhando com micropropagação de pequi, que observaram que as plantas provenientes do cultivo *in vitro* em meio WPM, acrescido com 4g L<sup>-1</sup> de carvão ativado apresentaram, no final da aclimação, maiores proporções de plantas vivas em relação às plantas provenientes do meio de cultivo com ausência de carvão ativado, embora o aspecto das plantas sobreviventes, provenientes dos dois tratamentos, tenham sido semelhantes.

No geral, a altura das mudas de sucupira-preta obtidas neste trabalho, provenientes de sementes escarificadas, foi menor do que a altura média das mudas provenientes de sementes não escarificadas e, ambas foram inferiores ao padrão de altura desejável de uma muda pronta para expedição. Após 120 dias, as mudas provenientes de

sementes não escarificadas apresentavam uma altura média de 7,5cm, enquanto as mudas provenientes de sementes escarificadas, de 4,0cm. Tanto as mudas provenientes de sementes não escarificadas, como as de sementes escarificadas devem permanecer em rustificação por um período superior a 120 dias, até atingirem um padrão para o plantio em campo.

## CONCLUSÕES

A escarificação de sementes e a utilização dos meios de cultura MS com 50 e a 100% e WPM com 50% dos sais e vitaminas proporcionaram os maiores percentuais de germinação *in vitro* de sucupira-preta.

A germinação da sucupira-preta ocorreu, independentemente, do tipo de aditivo utilizado, carvão ativado ou PVP.

A aclimação de plantas de sucupira-preta germinadas *in vitro* ocorreu, independentemente, do histórico de aditivos ou meios de cultura utilizados.

A germinação *in vitro* de sucupira-preta é um método viável para propagação da espécie e pode ser utilizada para introdução de material vegetal *in vitro* de forma asséptica.

A germinação *in vitro* de sucupira-preta é um processo importante para a micropropagação por meio da proliferação de gemas axilares visando a propagação e a conservação genética da espécie.

## AGRADECIMENTOS

Ao PROCAD/CAPES, FAPEMIG, IEF, SECTES pelo apoio financeiro.

---

**ABSTRACT:** This study objectived to evaluate the *in vitro* germination and acclimatization of plants sucupira-preta (*Bowdichia virgilioides*). Scarified and not scarified seeds were inoculated in test tubes containing culture medium MS or WPM, 100 or 50% of salts and vitamins, supplemented with two types of additives, activated charcoal and PVP, and kept in culture room. We used a completely randomized in a 2x4 factorial design (2 additives and 4 culture medium formulations) with 4 replications and 6 seeds per replicate. At 30 days gave the germination percentage and germination speed index (IVG). Plants were transferred to tubes containing substrate and acclimatized in a greenhouse, where they remained for 60 days and transferred to a dusk house, where they remained for another 60 days. At 30, 60, 90 and 120 days, we assessed the percentage of survival and seedling height acclimated. The *in vitro* germination of scarified seeds had the highest percentage using culture media MS and WPM halved the concentration of salts and vitamins. Germination occurred regardless of additive used both to scarified and not scarified seeds. The acclimation of plants germinated *in vitro* occurred regardless of additives history or culture media used.

**KEYWORDS:** *Bowdichia virgilioides* Kunth. Tissue culture. Culture medium. Plant propagation.



**REFERÊNCIAS**

- ALBUQUERQUE, K. S.; GUIMARÃES, R. M.; ALMEIDA, I. F.; CLEMENTE, A. C. S. Métodos para a superação da dormência em sementes de sucupira-preta (*Bowdichia virgilioides* Kunth.). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 31, n. 6, p. 1716-1721, 2007.
- BANDEIRA, F. S.; XAVIER, A.; OTONI, W. C.; LANI, E. R. G. Aclimação *ex vitro* de plantas propagadas pela enxertia *in vitro* de *Eucalyptus urophylla* x *E. grandis*. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 3, n. 5, p. 773 - 781, 2007.
- CALDAS, L. S.; HARIDASAN, P.; FERREIRA, M. E. Meios nutritivos. In: TORRES, A. C., CALDAS, L. S., BUSO, J. A. (Eds.). **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: EMBRAPASPI/ EMBRAPA-CNPq, 1999. v. 2, p. 87-132.
- DEBERGH, P. C.; MAENE, L. J. A scheme for commercial propagation of ornamental plants by tissue culture. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 14, p. 335-345, 1981.
- DISARZ, R.; CORDER, M. P. M. Multiplicação de gemas axilares de *Acacia mearnsii* Wild. sob diferentes meios de cultura. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 33, n. 4, p. 599-606, 2009.
- DUTRA, L. F.; WENDLING, I.; BRONDANI, G. E. A micropropagação de eucalipto. **Pesquisa Florestal Brasileira**, Colombo, n. 58, p. 49-59, 2009.
- GONÇALVES, J. V. S.; ALBRECHT, J. M. F.; SOARES, T. S.; TITON, M. Caracterização física e avaliação da pré-embebição na germinação de sementes de sucupira-preta (*Bowdichia virgilioides* Kunth). **Cerne**, Lavras, v. 14, n. 4, p. 330-334, 2008.
- GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A. C., CALDAS, L. S., BUSO, J. A. (Eds.). **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: EMBRAPASPI/ EMBRAPA-CNPq, 1999. v. 2, p. 183-260.
- LLOYD, G.; MCCOWN, B. Commercially-feasible micropropagation of Mountain laurel, *Kalmia latifolia*, by use of shoot tip culture. **International Plant Propagation Society Proceedings**, Council of Fremont, v. 30, p. 421-427, 1981.
- LORENZI, H. **Árvores Brasileiras – manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. v. 1, 4 ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2002. 384 p.
- MAGUIRRE, J. D. Speed of germination aid in selection and evaluation for seedling and vigour. **Crop Science**, Kansas, v. 2, n. 2, p. 176-177, 1962.
- MELO, B.; PINTO, J. E. B. P.; LUZ, J. M. Q.; PEIXOTO, J. R.; JULIATTI, F. C. Diferentes antioxidantes no controle da oxidação, germinação e desenvolvimento das plântulas na cultura *in vitro* de embriões da guaribeira [*Syngnathus oleracea* (Mart.) Becc.]. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 25, n. 6, p. 1301-1306, 2001.
- MURASHIGE, T., SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Sweden, v. 15, p. 473-497, 1962.
- NOGUEIRA, R. C.; PAIVA, R.; CASTRO, A. H.; VIEIRA, C. V.; ABBADE, L. C.; ALVARENGA, A. A. Germinação *in vitro* de murici-pequeno (*Byrsonima intermedia* A. Juss.). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 28, n. 5, p. 1053-1059, 2004.
- PASQUAL, M. **Textos acadêmicos: meios de cultura**. Lavras: FAEPE/UFLA, 2001. 127 p.

- SANTOS, B. R.; PAIVA, R.; NOGUEIRA, R. C.; OLIVEIRA, L. M.; SILVA, D. P. C.; MARTINOTTO, C.; SOARES, F. P.; PAIVA, P. D. O. Micropropagação de pequizeiro (*Caryocar brasiliense* Camb.). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Botucatu, v. 28, n. 2, p. 293-296, 2006.
- SANTOS, T. O.; MORAIS, T. G. O.; MATOS, V. P. Escarificação Mecânica em Sementes de Chichá (*Sterculia foetida*L.). **Revista Árvore**, Viçosa, v. 28, n. 1, p. 1-6, 2004.
- SMIRDELE, O. J.; SOUZA, R. C. P. Dormência em sementes de paricana (*Bowdichiavirgilioides* Kunth – Fabaceae - Papilonoideae). **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 25, nº 2, p.48-52, 2003.
- STATSOFT Statistica(data analysis software system). Version 10. 2010. Disponível em [www.statsoft.com](http://www.statsoft.com). Acesso em: 18 jan. 2011, 00:20:00.
- TEIXEIRA, S. L.; TORRES, A. C. Organização do laboratório de cultura de tecidos de plantas. In: TORRES, A.C., CALDAS, L. S., BUSO, J. A. (Eds.). **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: EMBRAPASPI/ EMBRAPA-CNPq, 1999. v. 2, p. 533-568.
- XAVIER, A.; SANTOS, G. A.; OLIVEIRA, M. L. Enraizamento de miniestaca caulinar e foliar na propagação vegetativa de cedro-rosa (*Cedrela fissilis*Vell.). **Revista Árvore**, Viçosa, v. 27, n. 3, p. 351-356, 2003.
- XAVIER, A.; WENDLING, I.; SILVA, R. L. **Silvicultura Clonal: princípios e Técnicas**. Ed. UFV, Viçosa, 2013, 272p.