

**Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**

Técnica de germinação *in vitro* e *ex vitro* de sucupira branca (*Pterodon pubescens* Vogel)

Michelle Gorgone

Dissertação apresentada para obtenção do título de
Mestra em Ciências, Programa Recursos Florestais.
Opção em: Silvicultura e Manejo Florestal

**Piracicaba
2020**

Michelle Gorgone
Engenheira Agrônoma

**Técnica de germinação *in vitro* e *ex vitro* de sucupira branca (*Pterodon pubescens*
Vogel)**

versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011

Orientador:

Prof. Dr. **ANTONIO NATAL GONÇALVES**

Dissertação apresentada para obtenção do título de
Mestra em Ciências, Programa Recursos Florestais.
Opção em: Silvicultura e Manejo Florestal

Piracicaba
2020

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
DIVISÃO DE BIBLIOTECA – DIBD/ESALQ/USP

Gorgone, Michelle

Técnica de germinação *in vitro* e *ex vitro* de sucupira branca (*Pterodon pubescens* Vogel) / Michelle Gorgone. - - versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011. - - Piracicaba, 2020.

47 p.

Dissertação (Mestrado) - - USP / Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”.

1. Propagação 2. Dormência 3. Cerrado 4. Planta medicinal I. Título

DEDICATÓRIA

Aos meus pais Orlando e Engrácia, meu irmão Marcel, meus sobrinhos Lucas e Laura e minha avó Argentina,

Dedico.

Aos meus avós, Dolores, Salvador, Benedito e Antônio (in memoriam),

Ofereço.

“Confie em Deus a todo o instante. Em tudo o que faço, penso em Deus. Amo a Deus com quem vivo. Sigo com Deus, por onde caminho. Na certeza de que tudo que acontece, Deus faz o melhor. Tudo o que sou e recebo, é bênção de Deus.”

(Chico Xavier)

AGRADECIMENTOS

Existe um Ser Maior que me deu a vida, guia meus passos e me dá forças para seguir. À Deus, a minha gratidão pela sustentação e determinação para concluir o meu trabalho. E, a toda forma de energia do bem, que também me ampara todos os dias.

Aos meus pais, com todo amor e carinho do meu coração, por me darem todo o apoio necessário, acreditaram nos meus sonhos e me ensinaram a percorrê-los, mesmo diante dos desafios e dificuldades.

Ao meu amado irmão e minha cunhada Bruna, por me proporcionarem a bênção de ser tia. Meus sobrinhos, seres iluminados que me trazem sempre muitas alegrias.

Ao orientador Prof. Dr. Antônio Natal Gonçalves, pelo aprendizado, auxílio e apoio nas minhas decisões.

Ao Prof. Dr. Demóstenes Ferreira da Silva Filho, amigo e parceiro. Pelo carinho, amizade e apoio.

Aos Profs. Dra. Flávia Gizele Konie Brun, Dr. Eleandro José Brun, pela amizade, parceria e contribuição para a melhoria do trabalho.

Ao Prof. Paulo Hercílio Viegas Rodrigues, pela amizade, apoio e oportunidade de conhecer um novo caminho na ciência.

À Prof. Dra Giuliana Del Nero Velasco, pela amizade, carinho e confiança no meu trabalho.

Aos professores Dra. Magda Lombardo, Dr. Paulo Muller, Dr. Marcos Sorrentino, pela amizade, apoio e contribuição nas disciplinas da pós-graduação.

A Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão de bolsa durante 24 meses para execução e redação do trabalho.

Aos parceiros do Departamento de Recursos Florestais, Giovana, Jeferson e Rafaela pela amizade, apoio e disponibilidade.

Aos parceiros de laboratório, Alexandre Vendemiatti, Analder, Renato, Gabriel, Christian, Jéssica e Patrícia, pela amizade e auxílio com os experimentos.

Aos amigos Gustavo, Alessandra, Crislaine, e Thaís, pessoas especiais que tenho um carinho enorme e quero sempre ter por perto.

Às amigas Silvia e Faride, que me trouxeram a tranquilidade e o apoio emocional

A Empresa Bioflora pela abertura e oportunidade. Aos seus funcionários, em especial ao Edmar, pelo carinho, amizade, apoio e aprendizado.

Aos funcionários da pós graduação, em especial a Luciana e Solizete pelo apoio, atenção e disponibilidade.

Aos funcionários da Biblioteca, em especial Eliana, que tornou-se uma amiga muito querida. Por toda a paciência e atenção durante o meu trabalho de dissertação. E a Ligiana pelo auxílio e disponibilidade.

Aos estudiosos das plantas medicinais, pela contribuição e dedicação ao trabalho pelo bem. Em especial ao Frei Hugolino, Walter Accorsi e Eva Michalak (in memoriam), Luciano Paiva, Regina Paiva, Wanderley Paiva, Prof. Dr. Lindolpho Capellari, Walterly Accorsi, aos amigos da Pastoral da Saúde de Santo Amaro da Imperatriz/SC, aos professores e amigos da Universidade Federal de Lavras/MG, da Universidade Federal de Santa Catarina/SC, da Universidade do Sul de Santa Catarina/SC, da Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina/SC.

Aos amigos da ESALQ que me deram a oportunidade de fazer o bem, através do Reiki e da Fitoterapia.

Aos amigos do grupo de Reiki São Pedro, pela amizade, carinho e parceria na função de auxílio ao próximo.

À Associação Missionários de Luz e todas as outras casas e amigos que conheci neste meio, por todo aprendizado e maturidade espiritual.

Ao prof. Edson Travaina, por me auxiliar no caminho da música, através do violão.

Aos demais amigos e familiares que apoiaram e acreditaram no meu trabalho.

Gratidão!

SUMÁRIO

RESUMO.....	9
ABSTRACT.....	10
1 INTRODUÇÃO.....	11
Referências.....	12
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	13
2.1 Local.....	13
2.2 Descrição da espécie.....	13
2.3 Importância da espécie.....	15
2.4 Seleção dos frutos e sementes.....	15
2.5 Germinação das sementes.....	15
2.6 Propagação.....	16
Referências.....	17
3 TÉCNICA DE GERMINAÇÃO <i>INVITRO</i> DE SUCUPIRA BRANCA (<i>Pterodon Pubescens</i> Vogel).....	19
RESUMO.....	19
ABSTRACT.....	19
3.1 Introdução.....	19
3.2 Material e Métodos.....	20
3.2.1 Local.....	20
3.2.2 Material vegetal.....	21
3.2.3 Seleção, abertura dos frutos e propagação.....	22
3.2.4 Desinfestação, inoculação e germinação	23
3.2.5 Análise de dados.....	24
3.3 Resultados e Discussões.....	25
3.4 Conclusão.....	30
Referências.....	30
4 TÉCNICA DE GERMINAÇÃO <i>EX VITRO</i> DE SUCUPIRA BRANCA (<i>Pterodon Pubescens</i> Vogel).....	33
RESUMO.....	33
ABSTRACT.....	33

4.1 Introdução.....	33
4.2 Material e Métodos.....	34
4.2.1 Local.....	34
4.2.2 Material vegetal.....	35
4.2.3 Seleção, abertura e picote dos frutos.....	35
4.2.4 Procedimento para germinação de sementes.....	37
4.2.5 Análise dos dados.....	37
4.3 Resultados e Discussões.....	38
4.4 Conclusão.....	43
Referências.....	43
5. CONCLUSÃO.....	47

RESUMO

Técnica de germinação *in vitro* e *ex vitro* de sucupira branca (*Pterodon pubescens* Vogel)

Pterodon pubescens Vogel (sucupira branca), é uma espécie nativa da região do cerrado brasileiro, de importância para recomposição ambiental de áreas degradadas, atividade madeireira, paisagística e medicinal. A escolha pela sucupira, se fez principalmente pelo uso na atividade medicinal. Mesmo com pouco estudo científico da espécie, o uso popular, vem difundindo a eficácia no tratamento de dores corporais. A progressiva ameaça a extinção da espécie, devido à grande parte do cerrado, estar sendo ocupado pela agricultura e pecuária, é uma preocupação evidente. A semente apresenta baixo poder germinativo, e tem dificuldade de se estabelecer fora do seu habitat. Ela é recoberta pelo fruto, que apresenta dureza e glândulas oleosas, impedindo a penetração de água, desfavorecendo a sua multiplicação de forma natural. Tratando-se destes fatores limitantes, este estudo, visou desenvolver um protocolo de desenvolvimento para a espécie. O estudo foi dividido em dois experimentos: Germinação *ex vitro*, realizado no Viveiro de Mudanças Bioflora e Germinação *in vitro*, realizado no Laboratório de Cultura de Tecidos e Plantas Ornamentais (LCTPO) em parceria com o Laboratório de Fisiologia de Árvores da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (ESALQ/USP). Para o experimento *in vitro*, foram utilizadas sementes e embriões advindos do corte de parte da semente, colocados em meios de cultura M&S e WPM, variando pH 4,5 e 5,8. No experimento *ex vitro*, foram seguidos procedimentos já aplicados no viveiro, onde são cultivadas espécies da Mata Atlântica. Foram utilizadas sementes sem frutos e frutos com picote expondo a semente. Com o objetivo de quebra de dormência, foi utilizada a técnica de embebição em água por 12h e 24h e semeadas em areia estéril. Nos experimentos *in vitro* e *ex vitro*, foram feitas observações semanais e analisado o fator germinação (emissão de radícula). Através das coletas, foi calculado o IVG (Índice de Velocidade de Germinação) e foram gerados dados estatísticos para discussão das análises. Foi utilizado o Modelo Linear Generalizado da Distribuição Binomial, comparados pelo AIC (Critério de Avaliação de Akaike). Em ambos os experimentos, os resultados apontaram que a germinação de sucupira, varia em função do tipo.

Palavras-chave: Propagação, Cultura de tecido, Viveiro

ABSTRACT

***In vitro* and *ex vitro* germination technique of Sucupira branca (*Pterodon pubescens* Vogel)**

Pterodon pubescens Vogel (Sucupira branca) is native species of the Brazilian Cerrado region, of importance for the environmental restoration of degraded areas, logging, landscape and medicinal activity. The choice for sucupira, was made mainly by use in medicinal activity. Even with little scientific study of the species, popular use has been spreading the effectiveness in the treatment of body pain. The progressive threat to the extinction of the species, because much of the cerrado is being occupied by agriculture and livestock, is a clear concern. The seed has low germination power, and has difficulty settling outside its habitat. It is covered by the fruit, which has hardness and oily glands, preventing water penetration, disfavoring its multiplication in a natural way. Being these limiting factors, this study aimed to develop a development protocol for the species. The study was divided into two experiments: *Ex vitro* germination, performed at the Bioflora Seedling Nursery and *In vitro* germination, performed at the Tissue and Ornamental Plant Culture Laboratory (LCTPO) in partnership with the Tree Physiology Laboratory of the Higher School of Agriculture. "Luiz de Queiroz" (ESALQ / USP). For the *in vitro* experiment, seeds and embryos from cutting part of the seed were placed in M&S and WPM culture media, varying pH 4.5 and 5.8. In the *ex vitro* experiment, procedures already applied in the nursery were followed, where Atlantic Forest species are cultivated. Seeds without fruits and fruits with perforation exposing the seed were used. In order to break dormancy, the water soaking technique was used for 12h and 24h and sown in sterile sand. In the *in vitro* and *ex vitro* experiments, weekly observations were made and the germination factor (radicle emission) was analyzed. Through the collections, the IVG (Germination Speed Index) was calculated and statistical data were generated for discussion of the analyzes. We used the Generalized Linear Model of Binomial Distribution, compared by AIC (Akaike Evaluation Criteria). In both experiments, the results showed that sucupira germination varies according to the type.

Keyword: Propagation, Tissue culture, Nursery

1. INTRODUÇÃO

A sucupira branca é uma espécie nativa do Brasil, da região do cerrado. Neste cenário, de acordo com Pinto (1993), vem sendo aplicado um modelo de agricultura voltada a um sistema de produção com ênfase ao lucro, sem preocupar-se com o fator meio ambiente. Grande áreas estão sofrendo desmatamento, devido à exploração agrícola e pecuária na região, prejudicando a questão genética, ambiental, fauna e flora regional.

A sucupira é uma espécie em potencial de importância na questão florestal, ambiental, econômica e comercial.

Em sua atividade madeireira, por apresentar resistência ao apodrecimento e qualidade de madeira, fornece material para construção civil, postes, moirões, móveis, objetos artesanais.

Na questão ambiental e florestal, além de contribuir para a qualidade atmosférica, é utilizada na recuperação de áreas degradadas, na restauração florestal. Utilizada como fim ornamental, devido as suas flores exuberantes.

Porém, a escolha principal deste trabalho, foi em função da sua importância medicinal. Embora tenham ainda poucos estudos científicos nesta área, o uso popular vem trazendo informações interessantes para o uso de óleo e extrato vegetal.

Por meio do uso popular, constatou-se que a sucupira branca, tem sido usada nas infecções de garganta e reumáticas (BARROS, 1982).

A popularidade nos meios de comunicação vem despertando o interesse pela espécie, porém, gerando problemas que podem levar a espécie a extinção. Retiram-se os frutos para o uso medicinal e cortam-se as árvores de forma indiscriminada para produção de madeira. E a preservação da espécie fica comprometida.

De acordo com Gurgel (1947), a propagação de espécies nativas, vem sendo um grande problema, pois muitas espécies produzem pouca ou nenhuma semente e outras apenas em determinadas épocas do ano.

É preciso desenvolver técnicas de exploração, visando a sua manutenção. Outro fator limitante é o fato de que as sementes ficam protegidas em um envoltório chamado de fruto, e na natureza, pode demorar anos para germinar de forma natural, pois é preciso gerar abertura do fruto, para que a água penetre em seu interior e possivelmente propicie a germinação.

O fruto é muito resistente, apresentando dureza natural e a presença do óleo faz a proteção contra ataques de insetos e patógenos. Este fator de proteção parece uma vantagem, pois preserva a semente que está interna ao fruto, mas impede a germinação natural.

A propagação através de experimentos controlados, em viveiro e/ou laboratório pode contribuir para o melhor desenvolvimento da espécie, por serem locais monitorados, possibilitando a melhor observação, diferente quando na natureza, onde vários fatores podem influenciar.

O objetivo deste trabalho foi desenvolver um protocolo de germinação para a espécie *Pterodon pubescens* Vogel (sucupira-branca) no laboratório (*in vitro*) e no viveiro (*ex vitro*), acompanhando o processo de germinação, compreendendo a emissão de radícula e, a observação da evolução para o desenvolvimento

Referências

BARROS, M.A.G. Flora medicinal do Distrito Federal. **Revista Brasil Florestal**, Brasília, v. 12, p.35-45, 1982.

GURGEL FILHO, D.A. **O faveiro**: ensaio sobre a germinação e transplante. São Paulo: Secretaria da Agricultura Serviço Florestal do Estado, 1947. 34 p. (Publicação, 1947).

PINTO, A.C.Q.; BYRNE, D.H.; ROGERS, S.J.V.I.D. Influence of ovule perforation, plant growth regulators, and α -glutamine on *in vitro* growth of immature peach embryos. **In Vitro Cellular Developmental Biology**, Columbia, v. 29, p. 55-58, Apr. 1993

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Local

A sucupira é uma espécie, nativa das áreas de cerrado do Brasil. De acordo com Ministério do Meio Ambiente (BRASIL, 2019), o Cerrado, ocupa uma área de 2.036.448 km², aproximadamente de 22% do território nacional, sendo o segundo maior bioma da América do Sul. Compreende áreas importantes do país, com pontos localizados nas regiões sudeste, centro-oeste, nordeste e norte. Abriga cerca de 11.627 espécies de plantas nativas, mais de 220 espécies para uso medicinal e mais de 416, podem ser usadas na recuperação de solos degradados. Tem importância social, onde vivem populações de várias etnias, de onde tiram o seu sustento, através da exploração de recursos naturais que são oferecidos pelo bioma. Porém, uma evidente preocupação, assombra o cenário brasileiro, em relação à exploração intensiva agrícola convencional, principalmente para produção de carvão.



Figura 1: Área de ocorrência da espécie Fonte: GEO Conceição (2017)

2.2. Descrição da espécie

A sucupira é uma árvore, que mede em torno de 8-12 m de altura, com diâmetro de tronco variando entre 40-60 cm. As raízes, se apresentam como órgãos de reserva, podendo formar túberas, chamadas de "batata-de-sucupira". Suas folhas são compostas, do tipo pinadas. Formam inflorescências de cor rosa e, os frutos são um tipo de cápsula envolvidos com óleo, que protege uma única semente contida em seu interior (LORENZI; MATOS, 2008).



Figura 2:Árvore de Sucupira Fonte: Viveiro Ipê (2019)



Figura. 3: Suas flores. Fonte: Laszlo (2019) Figura 4: Sementes de sucupira .Fonte Laszlo (2014)



Figura 5: Fruto e semente de sucupira

2.3. Importância da espécie

A espécie é muito empregada na medicina popular e na construção civil. Na casca e nos frutos são encontrados um óleo medicinal, utilizado no tratamento de reumatismo. Para diabetes, são utilizados as túberas radiculares. Estudos farmacológicos, comprovaram a eficácia do uso popular, na utilização do óleo dos frutos, inibindo a penetração na pele de humanos, através de esquistossomose. (LORENZI; MATOS, 2008).

De acordo com o Jornal da UNICAMP (UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS, 2017), o chá dos frutos de sucupira branca, pode ser usado como analgésico e antiinflamatório natural. Um estudo do grupo da professora Mary Ana Foglio, da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da UNICAMP, trouxe uma preocupação com o uso popular da espécie. Ela afirma que “Nem tudo que é natural é bom”. Segundo o estudo, a sucupira branca, apresenta em sua composição vouacapanos e compostos atípicos.

Outro fator interessante, sobre o óleo da sucupira, é que ele apresenta propriedades calmantes e ansiolíticas. Fazendo uma analogia com a árvore, que vive em locais estressantes, com pouca disponibilidade de água, nos seres humanos, pode estar relacionado com a capacidade emocional de lidar com as adversidades, mágoas, ressentimentos, que quando somatizados podem gerar tumores e câncer. (LASZLO, 2019).

2.4. Seleção dos frutos e sementes

A preocupação com a análise da semente, é um fator muito interessante quando a espécie, pois a qualidade física e fisiológica, determina a qualidade de armazenamento e sementeira. Desta maneira, se estabelece comparativos entre os lotes e as melhores condições para armazenamento. Em relação às espécies florestais, algumas dificuldades são encontradas no decorrer das análises, pois há uma grande variação bio-morfológica, além de muitas sementes serem de difícil beneficiamento por estarem contidas no interior das vagens. (AGUIAR; RODRIGUES; FIGLIOLIA, 1993).

2.5. Germinação das sementes

O desenvolvimento completo das plantas superiores, compreende a germinação seguida do desenvolvimento pós-germinativo, através do crescimento da planta (FERREIRA; BORGHETTI, 2004)

Já o conceito botânico, entende a germinação quando o embrião emerge dentro dos envoltórios, um sinal de metabolismo ativo, tendo uma curvatura de radícula (LABORIAU, 1983).

Outro conceito quanto a germinação, define que o processo inicia com a embebição de água pela semente e termina com a protusão da radícula pelo tegumento. (DAVIDE; SILVA, 2008)

Alguns estudos efetuados, afirmam que sementes de sucupira apresentam dormência devido a impermeabilidade ao oxigênio e à água em seu tegumento, pela presença de inibidores químicos da germinação (REIS,1976).

Um fator que dificulta a propagação, está relacionado ao envoltório do fruto, associado a presença do óleo, onde a semente está recoberta, impedindo a entrada de água, impossibilitando a germinação. Na natureza, é necessário em torno de quatro anos para produzir plântulas. (HERINGER, 1971).

No sentido de quebra de dormência, a embebição em água, corte e furo do tegumento, escarificação mecânica e/ou química, imersão em água oxigenada, pode viabilizar o processo de germinação. (SANTARÉM; ÁQUILA,1995).

Uma hipótese, é que os inibidores químicos não estejam participando diretamente do processo de germinação, dado que o corte do tegumento apresentou aumento da embebição (REIS; RENA, 1987).

2.6. Propagação

Em geral, as espécies florestais se multiplicam através de sementes, gerando mudas de baixo rendimento, pois muitas espécies apresentam dificuldades de reprodução, causando germinação e frutificação irregular, crescimento lento, além, de prejudicar a coleta de sementes. (RIBAS et al., 2005).

Um método que tem apresentado bastante importância dentro das técnicas de cultura de tecidos, tanto na área florestal, como hortícola, é a micropropagação, ou seja, propagação ou clonagem *in vitro*. (GRATTAPAGLIA; MACHADO, 1998; BORGATTO; HAYSHI, 2002).

Importante ressaltar, que a técnica de micropropagação é capaz de manter características genéticas de interesse, fazendo uso de qualquer parte da planta, propiciando uma maior produtividade. Em um ambiente controlado, o que garante menor influência em relação as questões climáticas e riscos de contaminação. Além de ocuparem menor espaço, possibilitando o aumento da produção, em tempo reduzido. (SERAFINI et al., 2001; JUNGHANS et al., 2014).

Em áreas protegidas, ainda assim, constituem desafios quanto a conservação e manejo da biodiversidade, pois é necessário conhecimentos sobre distribuição e ocorrência de

espécies, suas interações, aspectos como reprodução e a genética dos descendentes. (BASSAN et al., 2006).

Referências

AGUIAR, I.B; PIÑA-RODRIGUES, F.C.M.; FIGLIOLIA, M.B. **Sementes florestais tropicais**. Brasília: ARATES, 1993. 350 p.

BASSAN, J.S.; REINIGER; L.R.S.; ROCHA, B.H.G.; SEVERO, C.R.P.; FLÔRES, A.V. Oxidação fenólica, tipo de explante e meios de cultura no estabelecimento *in vitro* de Canafístula (*Peltophorum dubium* (Spreng.) Taub.). **Ciência Florestal**, v. 16, n.1, p. 381-390, 2006.

BORGATTO, F.; HAYASHI, T. K. Biotecnologia de plantas. In: CASTRO, P.R.C.; SENA, J.O.A.; KLUGE, R.A. **Introdução à fisiologia do desenvolvimento vegetal**. Maringá: Eduem, 2002. p. 227-254.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. **O bioma cerrado**. Disponível em <https://www.mma.gov.br/biomas/cerrado>. Acesso em: 13 jul. 2019.

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: Embrapa, SPI; Embrapa, CNPH, 1998. p.183-260.

DAVIDE, A.C; SILVA E.A.A. **Produção de sementes e mudas de espécies florestais**. Lavras: Editora UFLA, 2008. 175 p.

FERREIRA, A. G.; BORGHETTI, F. **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, 2004. 326 p.

GEO CONCEIÇÃO. **A importância do Cerrado**. Estudo coordenado pelo INPE aponta os riscos da exploração do Cerrado, 2017. Disponível em: <http://geoconceicao.blogspot.com.br/2017/01/a-importancia-do-cerrado.html>. Acesso em: 10 de novembro 2017.

GURGEL FILHO, D.A. **O faveiro: ensaio sobre a germinação e transplante**. São Paulo: Secretaria da Agricultura Serviço Florestal do Estado, 1947. 34 p. (Publicação, 1947).

HERINGER, E.P. Flora micológica do Cerrado e suas implicações no ecossistema dessa Flora. **Revista Cerrado**, Brasília, n. 12, 1971.

JUNGHANS, T. G.; SOUZA, A. S. **Aspectos práticos da micropropagação de plantas**. Cruz das Almas: EMBRAPA, 2014. 386p.

LABOURIAU, L.G. **A germinação das sementes**. Washington: Organização dos Estados Americanos, 1983. 170 p. Monografias científicas.

LASZLO, F. A **Sagrada árvore do cerrado**. Laszlo Jornal de Aromatologia. Publicação Científica Cultural. Belo Horizonte, ano IV, 2014. 8 p.

LASZLO, F. **Óleo essencial de sucupira branca**. Disponível em: <http://laszlo.ind.br/campanhas/Oleo_essencial_de_Sucupira-branca-Pterodon-emarginatus.pdf>. Disponível em: 15 ago. 2019.

LORENZI, H.; MATOS, F.J.A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. 2. ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2008.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Malden, v. 15, n. 1, p. 473-497, 1962.

REIS, G.G. dos. **Estudos sobre a dormência de sementes de sucupira (*Pterodon pubescens* Benth)**. 1976. 41 p. (Tese – Mestrado em Fisiologia Vegetal) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1976.

REIS, G.G. dos; RENA, A.B. Estudos sobre a dormência de sementes de sucupira (*Pterodonpubescens* Benth): Viabilidade, perda e absorção de água, respiração e presença de inibidores. **RevistaÁrvore**, Viçosa, v. 11, n. 2, p. 105-118, jul./dez. 1987.

RIBAS, L.L.F.; ZANETTE, F.; KULCHETSCKI, L.; GUERRA, M. P. Micropropagação de *Aspidosperma lolyneuron* (Peroba-rosa) a partir de segmentos nodais de mudas juvenis. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 29, n. 1, p. 517-524, 2005.

SANTARÉM, E.R.; ÁQUILA, M.E.A. Influência de métodos de superação de dormência e do armazenamento na germinação de sementes de *Senna macranthera* (Colladon) Irwin & Barneby (Leguminosae). **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 17, n. 2, p. 205-209, 1995.

SERAFINI, L.A.; BARROS, N.M.; AZEVEDO, J.L. **Biotecnologia na agricultura e na agroindústria**. Guaíba: Agropecuária, 2002. 463 p.

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS. JORNAL DA UNICAMP. **Estudo revela risco da ingestão de sucupira**. 2017. Disponível em: <https://www.unicamp.br/unicamp/index.php/ju/noticias/2017/02/20/estudo-revela-riscos-da-ingestao-de-sucupira>. Acesso em: 12 jul. 2019.

VIVEIRO IPÊ. **Sucupira branca**. Disponível em: <http://www.viveiroipe.com.br/?mudas=sucupira-branca>. Acesso em: 25 de setembro de 2019.

3. TÉCNICA DE GERMINAÇÃO *IN VITRO* DE SUCUPIRA BRANCA (*Pterodon pubescens* Vogel)

RESUMO

Pterodon pubescens Vogel (sucupira-branca), é uma espécie do cerrado brasileiro, de importância para as áreas: Ambiental, florestal, comercial, medicinal e paisagística. Porém, as suas sementes apresentam baixo poder germinativo, devido ao fruto que a envolve, contendo óleo e dureza, impossibilitando a entrada de água, dificultando processo de germinação e a capacidade de adaptação fora do seu habitat. Este estudo, visou desenvolver um protocolo *in vitro*, de desenvolvimento para a espécie. Realizado no Laboratório de Cultura de Tecidos e Plantas Ornamentais (LCTPO) em parceria com o Laboratório de Fisiologia de Árvores da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz (ESALQ/USP). Foram utilizadas sementes e embriões advindos do corte de parte da semente, colocados em meios de cultura M&S e WPM, variando pH 4.5 e 5,8. No experimento foram feitas observações semanais e analisado o fator germinação (emissão de radícula). Através das coletas, foram gerados dados estatísticos para discussão das análises. Foi utilizado o modelo linear generalizado da distribuição binomial, comparados pelo AIC. Os resultados apontaram que a germinação varia em função do tipo.

Palavras-chave: Semente, Meio de cultura, Laboratório

ABSTRACT

Pterodon pubescens Vogel (white sucupira), is a species from the Brazilian cerrado, of importance for the areas: Environmental, forest, commercial, medicinal and landscape. However, its seeds have low germinative power, due to the fruit that surrounds it, containing oil and hardness, preventing water entry, hindering the germination process and adaptability outside its habitat. This study aimed to develop an *in vitro* protocol of development for the species. Held at the Tissue and Ornamental Plant Culture Laboratory (LCTPO) in partnership with the Tree Physiology Laboratory of the Luiz de Queiroz College of Agriculture (ESALQ / USP). Seeds and embryos from cutting part of the seed were placed in M&S and WPM culture media, varying pH 4.5 and 5.8. In the experiment *in vitro* weekly observations were made and factor as germination (radicle emission) was analyzed. Through the collections, statistical data were generated for discussion of the analyzes. We used the generalized linear model of the binomial distribution, compared by the AIC. The results indicated both the germination vary according to the type.

Keywords: Seed, Embryo, Laboratory

3.1 Introdução

A sucupira-branca é uma espécie de difícil multiplicação, devido a fatores limitantes, referentes a adaptação fora do seu habitat natural e pela dormência causada pelo envoltório oleoso e rígido (fruto) que recobre a semente.

A propagação *in vitro*, é uma técnica com ambiente controlado que facilita o processo de germinação e acelera os resultados, pois controla fatores como luminosidade, umidade,

disponibilidade de nutrientes. É possível também controlar, possíveis contaminações e ataques de pragas.

O objetivo deste estudo foi desenvolver um protocolo de germinação para a espécie *Pterodon pubescens* Vogel (sucupira-branca) no laboratório (*in vitro*), acompanhando o processo de germinação, compreendendo a emissão de radícula e, a observação da evolução do seu desenvolvimento.

3.2 Material e Métodos

3.2.1 Local

O experimento foi conduzido no Laboratório de Cultura de Tecidos e Plantas Ornamentais (LCTPO), em parceria com o Laboratório de Fisiologia de Árvores, da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz/ Universidade de São Paulo, no município de Piracicaba, São Paulo.



Fig. 6: Localização do Laboratório de Cultura de Tecidos. Fonte: Google Maps (2019)

De acordo com o Departamento de Produção Vegetal (ESALQ, 2019b), o Laboratório de Cultura de Tecidos de Plantas Ornamentais (LCTPO), criado em 2012 tem por objetivo em sua rotina de trabalho, criar protocolos de plantas hortícolas, nas áreas: ornamentais, frutíferas e medicinais, também, e desenvolver novas técnicas de micropropagação ou propagação *in vitro*. Dentro deste conceito, estudar novas tecnologias, o efeito de diferentes tipos de espectros de luz como parte do desenvolvimento e conservação. Desenvolvimento de protocolos de espécie ornamentais tropicais como as heliconias e costus, de plantas amazônicas como Sacha inchi (*Plukenetia volubilis*) e Tucumã (*Astrocarium aculeatum*) que são materiais já estabelecidos, somando pesquisas em andamento com Vanila, Bambu, Orquídeas, e, as espécies medicinais como Abricó de Macaco (*Couroupita guianensis* Aubl.-Lecythidaceae.). A variação somaclonal é uma outra área de estudo do laboratório. A

experiência de estudo do laboratório com a cultura da banana, propiciou o desenvolvimento de uma nova cultivar de *Heliconia rostrata*, denominada de cv. Esalqueana em homenagem a Escola, ficando designada como primeira cultivar a ser lançada pelo LCTPO.

De acordo com o Departamento de Ciências Florestais (ESALQ, 2019) o Laboratório de Fisiologia de Árvores, executa principalmente atividades ligadas a cultura do eucalipto, sendo, processo de indução de embriogênese somática, através de estímulos químicos/físicos/nutricionais, determinação de enzimas (fosfatase ácida e poliaminas). Porém em sua rotina também trabalha, com biotecnologia e micropropagação de plantas ornamentais, morfofisiologia do estresse, nutrição, fisiologia e propagação de plantas.

3.2.2 Material vegetal

As sementes utilizadas foram adquiridas no mercado agrícola, advindas da região do de Uibaí (Bahia/Brasil).

De acordo com Cidade-Brasil (2019), Uibaí é uma cidade do Estado da Bahia. O município tem extensão de 551 km², com aproximadamente 13 625 habitantes. A densidade demográfica é de 24,7 habitantes por km² no território do município. Faz limite com os municípios vizinhos de Presidente Dutra, Ibititá e Gentio do Ouro. Situa-se a 30 km a Sul-Oeste de Irecê a maior cidade nos arredores. Apresenta altitude de 587 metros, com as seguintes coordenadas geográficas: Latitude: 11° 20' 24" Sul, Longitude: 42° 7' 56" Oeste.



Figura 7: Localização de Uibaí. Fonte Google Maps (2019)

As sementes advindas da região de Uibaí, foram colhidas de forma manual, através de coletores regionais. As coletas de frutos com sementes foram efetuadas ao acaso, de forma aleatória nas árvores e/ou no chão.

Segundo informações dos coletores, a localização das árvores é de difícil acesso, se fazendo apenas, através do transporte por animais (cavalos, jegues ou mulas), chegando a durar até cinco horas no lombo do animal, como eles mesmos narram.

3.2.3 Seleção, abertura dos frutos e propagação

Primeiramente, foi efetuada uma análise visual e manual, através da observação e separação quanto a viabilidade.

Foram observados a parte externa dos frutos, quanto ao ataque de pragas que pudesse vir a comprometer a semente na parte interna.

Os frutos saudáveis, foram abertos, expondo as sementes e posteriormente, foram observados as sementes e selecionadas para o uso na germinação (Figura 8 a, b, c, d).

Devido a dificuldade para abrir os frutos, foi desenvolvida uma técnica artesanal e manual, através de duas ferramentas. Um alicate para segurar o fruto e um martelo para bater. Cada fruto foi colocado em uma superfície dura, posicionado quanto a linha de abertura natural (Figura 9 a e b), para que ao abrir não causasse danos a semente.

Para a obtenção do embrião isolado, o mesmo foi excisado do tegumento da semente. (Figura 9 c).



Figura: 8 a) Seleção dos frutos b) Fruto e semente c). Fruto atacado, d) Semente atacada



Figura 9: a) Ferramentas, b) Fruto aberto e semente exposta, c) Semente e Embrião

3.2.4. Desinfestação, inoculação e germinação

A desinfestação foi efetuada, de acordo com a rotina pré-estabelecida do laboratório de cultura de tecidos e quem surtindo efeitos positivos para outras culturas.

As sementes foram colocadas por 5 minutos em uma solução de Pro Lyks¹, depois foram lavadas 3 vezes em água corrente e colocadas em uma solução contendo 40% Hipoclorito², por 20 minutos.

A assepsia da câmara de fluxo e dos materiais utilizados (pinças, bisturis, frascos) foi feita por pulverização através de uma solução de amônia Herbalvet³.

Para fazer o meio de cultura, foram utilizados os produtos(CAISSOM LABS, 2019): M&S (MSP 09)(MURASHIGE; SKOOG, 1962)e WPM (WPP04)(LLOYD; MCCOWN, 1980)e o Phytigel (GELLEX).

Além dos sais e vitaminas contidos nos meios, foi acrescentado sacarose e ajustado para cada meio o pH de 4,5 e 5,8

A mistura foi colocada em um frasco de vidro de 0,5 litro e autoclavado a 121°C, 1,0Kgfc^m-² durante 20 minutos.

Quando atingiu a temperatura ambiente (18°C), foi adicionado Polybac⁴ na proporção 0,5ml do produto para 1litro de água

O material pronto, foi colocado em frascos de vidro, contendo 25ml de meio de cultura, sendo todos os procedimentos executados para posterior inoculação das sementes.

Após os procedimentos acima mencionados, foram inoculadas um total de 60 sementes e 60 embriões.

Para cada tipo foram divididas em partes iguais, sendo 15 exemplares em cada tratamento (MS 4.5, MS 5.8 e WPM 4.5 e WPM 5,8).

Os vidros foram tampados, vedados com papel filme e etiquetados de acordo com tratamento estabelecido.

¹**Pro Lyks Natural** Apresenta-se como um composto de extratos de óleos, extraídos de cascas de frutas, e tem como finalidade a limpeza profunda e remoção de sujeiras, diminuindo o risco de proliferação de doenças e pragas. Recomendações:Diluir em água na proporção de 0,5 ml a 5 ml para cada litro, e agitar antes de fazer uso. <http://www.hydroplan.com.br/prolikys-natural.html>

²**Água sanitária:** Produto com concentração de cloro, com ação bactericida (2% a 2,5%).<https://www.tratamentodeagua.com.br/artigo/manual-das-aguas-sanitarias/>

³**Herbalvet:** Desinfetante com ação bactericida, fungicida e viricida. Com propriedade tensoativa biodegradável e não corrosiva. Utilização: Diluir em água, na dosagem de 1 mL do produto para 500 mL de água, na aplicação e pulverização de pisos, paredes, mesas etc. <https://www.ourofinopet.com/produtos/protacao/herbalvet-ta/>

⁴**Polybac** (Biguanida) É um produto de ação bactericida de amplo espectro e rápida ação, para formulações de desinfetantes para uso geral.<https://polyorganic.com.br/polybac-phmb/>

Após a inoculação das sementes e dos embriões, os frascos ficaram em sala de crescimento, com temperatura de $26 \pm 2^\circ\text{C}$, fotoperíodo de 16/8 horas e sob fonte luminosa, através de luz branca fria de 2000 lux, localizada acima de cada prateleira da estante.



Figura 10: Câmara de fluxo

Figura 11: Sala de crescimento

3.2.5 Análise dos dados

Os critérios utilizados para a observação dos dados foram:

- Meios de cultura:
 - M&S - pH 4,5
 - M&S- pH 5,8
 - WPM- pH 4,5
 - WPM - 5,8

- Tipos de explante:
 - Embrião
 - Semente

- Observação:
 - Germinação

- Tempo de coleta:
 - 9 semanas

A coleta de dados foi realizada através da observação semanal, durante 9 semanas. Avaliando as sementes e embriões que germinaram.

Foi aplicado o Índice de Velocidade de Germinação (IVG) (MAGUIRE, 1962), através da fórmula:

$$IVG = \Sigma(n/t)$$

t = número de dias da semeadura à primeira, à segunda, ..., à última contagem.

n = número de germinação na primeira contagem, na segunda contagem, na última contagem.

A análise estatística dos dados coletados para germinação, foi realizada através do Modelo Linear Generalizado da Distribuição Binomial (BOLKER, 2008), uma vez que os dados coletados são dados de ocorrência ou não-ocorrência.

A variável germinação, foi analisada pelo meio do Critério de Informação de Akaike (AIC) (AKAIKE, 1974).

Foram testados os modelos para a não influência dos tratamentos (modelo nulo), influência do tipo de explante, influência do meio de cultura e influência da interação do meio de cultura e tipo de explante. Segue abaixo o esquema de dados:

➤ Germinação:

- Modelo 0 - Nulo
- Modelo 1 - Tipo de explante
- Modelo 2 - Meio de Cultura
- Modelo 3 - Meio de cultura e Tipo de explante

3.3 Resultados e discussões

A partir dos dados coletados, das análises efetuadas de Índice de Velocidade de Germinação (IVG) e dos dados estatísticos, pelo Modelo Linear Generalizado da Distribuição Binomial foram gerados resultados, mencionados na Tabela 1

Tabela 1: Dados coletados e resultados obtidos

meio	tipo	IVG	germinação	% germinação
ms4.5	embrião	2,071	15	100
ms5.8	embrião	1,928	15	100
wpm4.5	embrião	2,142	15	100
wpm5.8	embrião	1,713	13	86.66
ms4.5	semente	0,620	8	53.33
ms5.8	semente	0,237	4	26.66
wpm4.5	semente	0,269	5	33.33
wpm5.8	semente	0,510	9	60

De acordo com o conceito de avaliação do IVG, quanto maior o valor de IVG, maior a germinação média diária. Neste experimento, o tratamento do tipo embrião em meio wpm 4,5, foi o que apresentou o melhor IVG.

Os modelos foram comparados pelo AIC, sendo que, o modelo com menor AIC foi o modelo aceito.

Tabela 2: Resultados de AIC

germinação	AIC
modelo1	0
modelo3	1.5
modelo0	45
modelo2	49.4

Através dos dados estatísticos, para germinação foi considerado o modelo nulo, ou seja, não há efeito de nenhuma variável independente na germinação

Portanto, o modelo adotado foi o modelo1, ou seja, o tipo (Embrião ou Semente) tem efeito na germinação. Consequentemente, a germinação varia apenas em função do tipo.

Os meios de cultura não influenciaram significativamente os resultados.

De acordo com os dados estatísticos, um indivíduo do tipo Embrião tem 37 vezes mais chance de germinar que o indivíduo do tipo Semente.

Como foi apresentado no decorrer deste trabalho, a espécie em estudo trouxe um grande desafio para a pesquisa. A questão dormência, que a priori acreditava-se ser apenas da semente, de fato foi possível perceber que o envoltório, ou fruto recoberto pelo óleo inibe a passagem de água e oxigênio.

Para abrir o fruto, várias tentativas foram efetuadas, mas a dureza inviabilizava o processo. Foi desenvolvido uma maneira artesanal que propiciou a abertura.

Foi preciso posicionar de forma adequada, seguindo a anatomia do fruto, e utilizar força, gerando desconforto (dor) nas articulações dos manipuladores, limitando o tempo e quantidade de sementes abertas.

A contaminação, era um fator preocupante, pois, poderia limitar o processo de germinação. Experimentos preliminares não obtiveram êxito, perdendo exemplares por problemas relacionados a contaminação.

Mas, a combinação entre os produtos específicos para a assepsia do material vegetal e das ferramentas utilizadas e, o critério de minucioso de trabalho, proporcionou um experimento livre de contaminação.

Os meios de cultura utilizados ofereceram condições nutricionais ideais, para o desenvolvimento das sementes e embriões.

As condições de luz e temperatura controladas na sala de crescimento, ofereceram o ambiente necessário, para a germinação.

Ressaltando que este estudo, foi baseado em protocolos já desenvolvidos, na rotina de trabalho do laboratório de cultura de tecidos e que também deram resultados positivos para a sucupira.

Segundo este estudo, tanto a semente, quanto o embrião podem ser utilizados como fonte de explantes em trabalhos *in vitro* para a espécie sucupira branca.

A partir das observações, em média, uma semana é suficiente para a germinação, tanto do tipo embrião como o tipo semente. Duas semanas para obter os primeiros folíolos. E, em um mês pode-se obter uma plântula pronta para transplante ou para fragmentação no uso da cultura de tecido.

Nas Figuras 12 e 13, é possível visualizar o desenvolvimento de explante, respectivamente, semente e embrião.

Os estudos científicos para a espécie de sucupira branca, ainda é reduzido. Não é possível encontrar muitas referências ao tema, o que dificulta o estudo. Buscou-se informações de outras espécies, com estudos semelhantes, no sentido de encontrar similaridade para a pesquisa desenvolvida neste trabalho.

No decorrer da pesquisa, foram observados estágios de desenvolvimento a partir da germinação, dando continuidade ao crescimento dos explantes

Um caminho seria colocar estes explantes crescidos em substrato vegetal, levar a sala de aclimatização e posterior casa de vegetação para gerar uma possível muda.

Outro caminho, produto deste estudo, foi segmentar o exemplar germinado em fase vegetativa e fazer cultura de tecido. Para isso, adicionou-se ao meio de cultura, 1,0 mg/L de BAP (6-benzilaminopurina, benzil adenina).

Uma citocinina sintética que, unida com as auxinas, é capaz de provocar respostas no crescimento e desenvolvimento das plantas (SIGMA, 2019).

Após este procedimento, foi possível observar brotações. Na Figura 14 a) Considera-se uma plântula gerada a partir da semente, em b) e c) foram retirados fragmentos (apical, mediano e basal) da plântula já germinada, em fase vegetativa e colocados em meio. Pôde-se observar que houve desenvolvimento, portanto, uma possível alternativa que poderá ser utilizada na produção de clones.



Figura.12: Desenvolvimento tipo Semente



Figura13:Desenvolvimento tipo Embrião



Figura: 14 a) Fase vegetativa após germinação, b) Desenvolvimento a partir do processo de fragmentação

Devido ao número reduzido de estudos científicos direcionados a espécie sucupira branca e com o objetivo de elucidar este trabalho, buscou-se referências com estudos semelhantes para outras espécies, no sentido de melhor compreensão dos resultados obtidos.

Pode-se observar em *Prunus* que o crescimento e desenvolvimento do embrião, pode durar 35 dias (PEDROTTI et al.,1992). Já em macieira, o tempo é maior, chegando a 140 dias (ZHANG; LESPINASSE,1991).

Segundo Santa-Catarina et al., (2001), que trabalhou com sassafrás (*Ocoteaodorifera* Mez) objetivou em seu estudo, quantificar o crescimento do fruto e do embrião em função do tempo, avaliando a indução à embriogênese somática e o potencial da germinação *in vitro*, a partir de embriões e eixos embrionários de diferentes estádios de desenvolvimento. Concluindo que os resultados obtidos para a espécie é promissor, mostrando que é possível o uso da técnica na conservação da espécie. Como fonte de carbono para a germinação, fez uso da sacarose ao meio de cultura.

De acordo com George (1996), a necessidade de carbono é um fator interessante para a cultura de células e tecidos.

Segundo, Bewley e Black (1994) os cotilédones armazenam em seu interior, substâncias de reservas, que são fundamentais no metabolismo dos embriões no processo de germinação.

Os experimentos de Reis e Rena (1987) com sucupira branca, foram baseados em isolamento de eixos embrionários de sementes secas e com corte no tegumento, embebidas por 24 horas em placas de Petri. Comparando-se os dois tratamentos, concluíram que as sementes que sofreram corte tiveram redução do quociente respiratório e aumento da taxa respiratória, havendo mudança no curso respiratório. Contudo, a soma das taxas respiratórias, dos eixos embrionários e cotilédones isolados, foi maior que a das sementes cortadas, concluindo-se que a barreira ao oxigênio e à água, colocada pelos tegumentos, não foi removida totalmente pelo corte.

A micropropagação vem sendo utilizada em 24 plantas lenhosas nos últimos anos. Os processos de propagação *in vitro*, são semelhantes tanto para espécies lenhosas como para as demais. Porém, os experimentos com tecidos mais jovens, têm oferecido melhores resultados do que os efetuados com tecidos mais maduros. (SOMMER; WETZSTEIN, 1984)

Os materiais de cultivo, utilizados na propagação *in vitro*, tem sido, os calos, órgãos, células e culturas de protoplastos. Mesmo com a dificuldade de crescimento e diferenciação de espécies lenhosas na micropropagação, houve sucesso nos primeiros tipos de cultivos em espécies arbóreas. (BONGA; DURZAN, 1987)

De acordo com Pierik (1990), a planta passa a perder capacidade regenerativa com o seu envelhecimento, por este motivo, é interessante fazer uso de material jovem, principalmente em caso de árvores e arbustos. Os tecidos embrionários, com ênfase aos embriões e sementes, são tecidos jovens e têm maior capacidade regenerativa, tendendo a maior germinação em cultura de tecidos.

Muitas espécies lenhosas leguminosas são de importância econômica, principalmente as de regiões tropicais, servindo para construção e combustível. Sendo que a clonagem de genótipos superiores, apresentam alto rendimento para o melhoramento na produção de madeira. As brotações axilares obtidas por meio da micropropagação, estão começando a ser desenvolvidas para espécies lenhosas e poderão substituir as plantações clonais. (DAVEY; KUMAR; HAMMATT, 1994)

Para determinadas espécies do cerrado, as técnicas de cultura de tecido pode ser uma alternativa viável, pois as suas características naturais e adaptativas ao meio podem impedir ou dificultar a propagação pelas vias existentes. Quando as estacas não enraízam, a micropropagação pode ser uma alternativa, no sentido de selecionar plantas com alta

produtividade e qualidade de frutos superiores. A exemplo da pera-do-cerrado (*Eugenia klotzchiana*), que é uma espécie rara, ou a sucupira-branca que produz poucas sementes. A produção de mudas seria ineficaz para a demanda, sendo a multiplicação através de cultura de tecidos uma possibilidade de produzir matrizes e mudas. (MELO et al.,1998).

3.4 Conclusão

Este estudo mostrou que a sucupira branca é uma espécie peculiar, que exige cuidados especiais para sua propagação. Dentre estes desafios, justifica-se a importância da espécie, devido ao seu potencial, principalmente na área da saúde e recuperação de áreas degradadas, também, o potencial comercial.

A propagação *in vitro* mostrou uma alternativa viável, no sentido de obter-se um maior número de plântulas em tempo reduzido e a possível obtenção de clones, a partir da cultura de tecidos.

Através dos resultados, foi possível compreender que houve desenvolvimento significativo da espécie em laboratório, sendo o ambiente controlado, uma opção de maior produtividade.

Referências

AKAIKE, H. A new look at the statistical model identification. **IEEE Transactions on Automatic Control**, AC- 19, p. 716-723, 1974.

BEWLEY, J.D.; BLACK, M. **Seeds: physiology of development and germination**. 2nd ed. New York: Plenum Press, 1994.

BOLKER, B.M. **Ecological models and data in R**. Princeton: Princeton University Press, 2008. 396 p.

BONGA, J.M.; DURZAN, D.J. Cell and tissue culture in forestry. Case histories: Gymnosperms, Angiosperms and Paks. Dordrecht: Martinus Nijhoff, 1987c. v. 3.

CAISSON LABORATORIES. **Produtos e serviços**. Disponível em: <<https://www.caissonlabs.com/>>. Acesso em: 18 jun. 2019.

CIDADE-BRASIL. **Cidades do Brasil**. Disponível em: <https://www.cidade-brasil.com.br/municipio-uibai.html>. Acesso em: 15 de agosto de 2019

DAVEY, M.R.; KUMAR, V.; HAMMATT, N. In vitro culture of legumes. In: VASIL, I.K.; THORPE, TA (Ed.). **Plant cell and tissue culture**. Dordrecht: Kluwer Academic, 1994. chap.13, p.313-329.

ESALQ. Departamento de Ciências Florestais. Laboratório de Fisiologia de Árvores. Disponível em: <http://www2.lcf.esalq.usp.br/lab/laborat%C3%B3rio-de-fisiologia-das-%C3%A1rvores>. Acesso em: 15 ago. 2019a.

ESALQ. Departamento de Produção Vegetal. Laboratório de Cultura de Tecidos de Plantas Ornamentais. Disponível em: <http://www.lpv.esalq.usp.br/lab/laborat%C3%B3rio-de-cultura-de-tecidos-de-plantas-ornamentais>. Acesso em: 15 ago. 2019b.

GEORGE, E.F. **Plant propagation by tissue culture**. 2nd ed. Edington:Exegetics, 1996. v.1.

GOOGLE MAPS. Cidade de Uibaí. Disponível em: <https://www.google.com/maps/place/Uiba%C3%AD,+BA,+44950-000/@-11.3313611,-42.1467984,14z/data=!3m1!4b1!4m5!3m4!1s0x768ce98c49b751b:0x1ec484bc84d9ff97!8m2!3d-11.3348553!4d-42.1310211> Acesso em: 25 de agosto de 2019

GOOGLE MAPS. Laboratório de Cultura de Tecidos. Disponível em: <https://www.google.com/maps/place/LCTPO+-Laboratório+de+Cultura+de+Tecido+Vegetal+e+Plantas+Ornamentais+-+ESALQ/@-22.7082125,-47.6297858,15z/data=!4m5!3m4!1s0x0:0x6319d76a8f47700d!8m2!3d-22.7082125!4d-47.6297858>. Acesso em: 25 de agosto de 2019

LLOYD, G.; MCCOWN, B. Commercially-feasible micropropagation of mountain laurel, *Kalmia latifolia*, by use of shoot-tip culture. **Combined Proceedings of the International Plant Propagators Society**, Ashville, v. 30, p. 412-427, 1980.

MAGUIRE, J.D. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, Madison, v. 2, n. 1, p. 176-177, Jan./Feb. 1962.

MELO, J.T. de; SILVA, J.A. da; TORRES, R.A.A; SILVEIRA, CE.S. da; CALDAS, L.S. Coleta, propagação e desenvolvimento inicial de espécies do cerrado. In: SANO, S.M.; ALMEIDA, S.P. de. (Ed.). **Cerrado: ambiente e flora**. Planaltina: EMBRAPA, CPAC, 1998. p.195-231.

MORE, B.;ZHOU, L.;ROLLAND, F.;HALL, Q.;CHENG, W.H.;LIU, Y.X.;HWANG, I.; J.T.;SHEEN, J. Role of the Arabidopsis glucose sensor HXK1 in nutrient, light, and hormonal signaling. **Science**, Washington, v. 300, p. 332-336, 2003.

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

PEDROTTI, E.L.; LELU, M.A.; BILLOT, I.; CORNU, D. Morphogenetic response on wild cherry (*Prunus avium* L.) immature embryos. In Mass production technology for improved fast growing forest tree species. In PROCEEDINGS OF SYMPOSIUM BORDEAUX, 1992, Bordeaux.p.67-72.

PIERIK, R.L.M. **Cultivo in vitro de las plantas superiores**. Tradução por Luís Ayerbe Mateo-Sagasta. 3. ed. Madrid: Mundi-Prensa, 1990. 326p.

REIS, G.G. dos; RENA, A.B. Estudos sobre a dormência de sementes de sucupira (*Pterodon pubescens* Benth): viabilidade, perda e absorção de água, respiração e presença de inibidores. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 11, n. 2, p. 105-118, jul./dez. 1987.

SANTA-CATARINA, C.; MACIEL, S.C.; PEDROTTI, E.L. Germinação *in vitro* e embriogênese somática a partir de embriões imaturos de canela sassafrás (*Ocotea odorifera* Mez). **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v.24, n.4, p.501-510, 2001. Suplemento.

SIGMA. **Catálogos de produtos.** Disponível em: https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sigma/b3408?lang=pt®ion=BR&gclid=EA1aIQobChMI6qKd4ZyD5QIVD4KRCh0KWAH6EAAYASAAEgJ9HPD_BwE. Acesso em: 07 set. 2019.

SOMMER, H.E.; WETZSTEIN, H.Y. Crop species. In: AMMIRATO, P.V.; EVANS, DA; SHARP, W.R.; YAMADA, Y. (Ed.). **Handbook of plant cell culture**. New York: Macmillan, 1984. v. 3, chap. 19, p. 511-540.

SKREBSKY, E.C.; NICOLOSO, F.T.; FERRÃO, G.D.E. Sacarose e período de cultivo *in vitro* na aclimatização *ex vitro* de ginseng brasileiro (*Pfaffia glomerata* Spreng. Pedersen). **Ciência Rural**, v. 34, n. 5, p. 1471–1477, 2004.

WIND, J.; SMEEKENS, S.; HANSON, J. Sucrose: metabolite and signaling molecule. **Phytochemistry**, v. 71, p. 1610–1614, 2010.

ZHANG, Y.X.; LESPINASSE, Y. Removal of embryonic dormancy in apple (*Malus domestica* Borkh) by 6-benzylaminopurine. **Scientia Horticulturae**, v. 46, p. 215-223, 1991.

4 TÉCNICA DE GERMINAÇÃO *EX VITRO* DE SUCUPIRA BRANCA (*Pterodon pubescens* Vogel)

RESUMO

Pterodon pubescens Vogel (sucupira-branca), é uma espécie do cerrado brasileiro, de importância para as áreas: Ambiental, florestal, comercial, medicinal e paisagística. Porém, as suas sementes apresentam baixo poder germinativo, devido ao fruto que a envolve, contendo óleo e dureza, impossibilitando a entrada de água, dificultando processo de germinação e a capacidade de adaptação fora do seu habitat. Este estudo, visou desenvolver um protocolo *ex vitro*, de desenvolvimento para a espécie. Realizado no Viveiro de Mudanças Bioflora, o experimento contou com procedimentos já aplicados no viveiro, onde são cultivadas espécies da Mata Atlântica. Foram utilizadas sementes sem frutos e frutos com picote expondo a semente. Com o objetivo de quebra de dormência, foi utilizada a técnica de embebição em água por 12h e 24h e semeadas em areia estéril. No experimento *ex vitro*, foram feitas observações semanais e analisado o fator germinação (emissão de radícula). Através das coletas, foram gerados dados estatísticos para discussão das análises. Foi utilizado o modelo linear generalizado da distribuição binomial, comparados pelo AIC. Os resultados apontaram que tanto a germinação como a fase vegetativa, variam em função do tipo.

Palavras-chave: Propagação, Semente, Viveiro

ABSTRACT

Pterodon pubescens Vogel (white sucupira), is a species from the Brazilian cerrado, of importance for the areas: Environmental, forest, commercial, medicinal and landscape. However, its seeds have low germinative power, due to the fruit that surrounds it, containing oil and hardness, preventing water entry, hindering the germination process and adaptability outside its habitat. This study aimed to develop an *ex vitro* protocol of development for the species. Held at the Bioflora Seedling Nursery, the experiment had procedures already applied in the nursery, where Atlantic Forest species are grown. We used seeds without fruits and fruits with perforation exposing the seed. In order to break dormancy, the technique of soaking in water for 12h and 24h and sown in sterile sand was used. In the *ex vitro* experiment, weekly observations were made and germination factor (radicle emission) was analyzed. Through the collections, statistical data were generated for discussion of the analyzes. We used the generalized linear model of the binomial distribution, compared by the AIC. The results indicated that both the germination and the vegetative phase vary according to the type.

Keywords: Propagation, Seed, Nursery

4.1 Introdução

A sucupira-branca é uma espécie de difícil multiplicação, devido a fatores limitantes, referentes a adaptação fora do seu habitat natural e pela dormência causada pelo envoltório oleoso e rígido (fruto) que recobre a semente.

A propagação *ex vitro*, no viveiro Bioflora, trouxe tecnologias que favoreceram o estudo deste trabalho, devido a informações já efetuadas com outras espécies já cultivadas no

local. Com tempo reduzido em relação ao seu desenvolvimento na natureza e viabilizando as questões utilizadas em campo, vem como uma alternativa para os produtores viveiristas.

O objetivo deste estudo foi desenvolver um protocolo de germinação para a espécie *Pterodon pubescens* Vogel (sucupira-branca) no viveiro (*ex vitro*), acompanhando o processo de germinação, compreendendo a emissão de radícula, compreendendo a emissão de radícula e, a observação da evolução do seu desenvolvimento

4.2 Material e Métodos

4.2.1 Local

O experimento foi conduzido no Viveiro Bioflora, localizado na Rodovia Piracicaba-Tupui, km 18, s/n Sítio Flora Nativa, no município de Piracicaba, São Paulo.

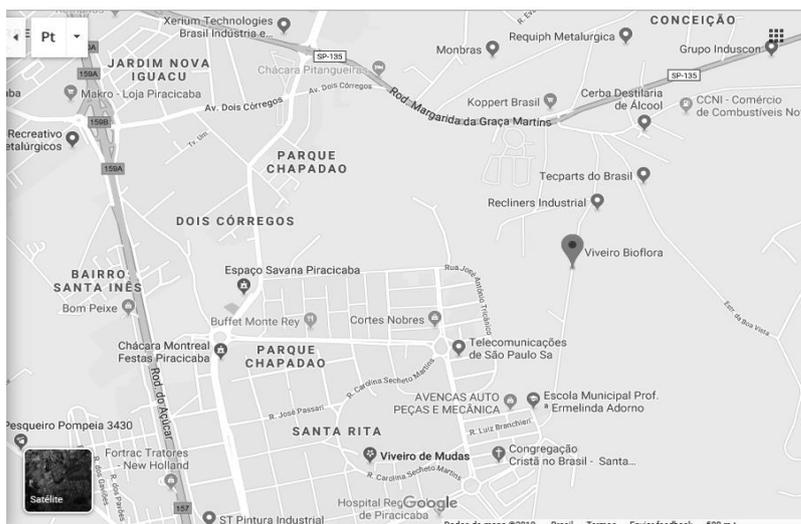


Figura 15: Localização do Viveiro Bioflora. Fonte: Google maps (2019)

De acordo com Viveiro Bioflora (2019) A Empresa foi fundada em 1998 com o objetivo de ajudar no processo de desenvolvimento da restauração florestal no Brasil, fornecendo aos produtores dessa atividade, produtos e serviços com a alta qualidade. A Bioflora tem evoluído de forma constante, desde a sua fundação, aplicando tecnologias e atuais descobertas científicas em suas recomendações técnicas, transformando ambientes altamente degradados, em florestas, ricas em espécies nativas regionais e auto-sustentáveis. Atuando nos segmentos de restauração de florestas nativas, em projetos, produção de sementes e mudas, implantação e manutenção de reflorestamentos. Com capacidade de produção anual de mais de 3 toneladas de sementes e 4 milhões de mudas de 200 espécies, sendo atualmente, o maior viveiro de produção de nativas do Estado.

4.2.2 Material vegetal

As sementes utilizadas foram adquiridas no mercado agrícola, advindas da região do de Uibaí (Bahia/Brasil).

De acordo com o site Cidade-Brasil (2019), Uibaí é uma cidade de Estado do Bahia. O município tem extensão de 551 km², com aproximadamente 13 625 habitantes A densidade demográfica é de 24,7 habitantes por km² no território do município. Faz limite com os municípios vizinhos de Presidente Dutra, Ibititá e Gentio do Ouro. Situa-se a 30 km a Sul-Oeste de Irecê a maior cidade nos arredores. Apresenta altitude de 587 metros, com as seguintes coordenadas geográficas: Latitude: 11° 20' 24" Sul, Longitude: 42° 7' 56" Oeste.

As sementes advindas da região de Uibaí, foram colhidas de forma manual, através de coletores regionais. As coletas de frutos com sementes. Foram efetuadas ao acaso, captadas de forma aleatória nas árvores e/ou no chão.

Segundo informações dos coletores, a localização das árvores é de difícil acesso, se fazendo apenas, através do transporte por animais (cavalos, jegues ou mulas), chegando a durar até cinco horas no lombo do animal, como eles mesmos narram.



Figura 16: Localização de Ubaí. Fonte Google Maps (2019)

4.2.3 Seleção, abertura e picote dos frutos

Para a seleção dos frutos e sementes, foi efetuada uma análise visual e manual, através da observação e separação quanto a viabilidade. Observado a parte externa dos frutos, quanto ao ataque de pragas que viesse a comprometer a semente na parte interna.

Os frutos saudáveis, foram abertos, expondo as sementes e posteriormente, foram observadas as sementes e selecionadas para o uso na germinação.

Foram desenvolvidas duas técnicas, de forma artesanal e manual para expor as sementes: A primeira, através de duas ferramentas: Um alicate para segurar o fruto e um martelo para bater. Cada fruto foi colocado em uma superfície dura, posicionado quanto a linha de abertura natural (Figura17 a), para que ao abrir não causasse dano a semente (Figura17b)

A segunda, para o tratamento do tipo picote, foi utilizada uma tesoura de cortar grama, que propiciou um pequeno corte no fruto, no sentido da água penetrar no interior, chegando até a semente (Figura 17 c e d.)

O substrato utilizado foi a base de areia esterilizada, distribuída na telha calhetão, dentro da casa de vegetação, coberta com sombrite. A irrigação foi feita de forma manual através de irrigador ou mangueira ligada a bico gotejador.

Nos horários de 17h até às 9h foi colocada uma cobertura plástica em cima do canteiro, para proteção contra baixas temperaturas na madrugada. Das 9h às 17h o plástico era retirado, ficando apenas o sombrite no teto da casa de vegetação (Figuras 18 a e b).



Figura17: a) Abertura da semente, b) Fruto aberto com semente exposta, c) Abertura do tipo picote d) Fruto com picote



Figura18: a) Casa de vegetação; (b) Experimento montado e irrigação

4.2.4 Procedimento para germinação das sementes

Foram inoculadas um total de 288 exemplares, sendo 144 exemplares do Tipo Semente (sementes puras sem frutos) e 144 exemplares do Tipo Picote (sementes com frutos, com picote). E para cada tipo foram divididas em partes iguais, sendo 48 exemplares em cada tratamento (Tipo Semente: Testemunha, Embebição 12h e Embebição 24h) e (Tipo Picote: Testemunha, Embebição 12h e Embebição 24h)

4.2.5 Análise de dados

Os critérios utilizados para a observação dos dados foram:

- Tempo de embebição:
 - T0
 - T12
 - T24

- Tipos de abertura de fruto:
 - Picote
 - Semente

- Observação:
 - Germinação

- Tempo de coleta:
 - 9 semanas

A coleta de dados foi realizada através da observação semanal, durante 9 semanas. Avaliando as sementes e embriões que germinaram.

Foi aplicado o Índice de Velocidade de Germinação (IVG) (MAGUIRE, 1962), através da fórmula:

$$IVG = \Sigma(n/t)$$

t = número de dias da semente à primeira, à segunda, ..., à última contagem.

n = número de germinação na primeira contagem, na segunda contagem, na última contagem.

A análise estatística dos dados coletados para germinação foi realizada através do Modelo Linear Generalizado da Distribuição Binomial (BOLKER, 2008), uma vez que os dados coletados são dados de ocorrência ou não-ocorrência.

A variável germinação, foi analisada pelo meio do critério de informação de Akaike (AIC) (AKAIKE, 1974).

Foi testado os modelos para a não influência dos tratamentos (modelo nulo), para a influência do tempo de embebição, influência do tipo (semente e picote) e para a influência da interação (tempo e tipo). Segue abaixo:

- Germinação:
 - Modelo 0 - Nulo
 - Modelo1 - Tempo de embebição
 - Modelo 2 - Tipo(Semente e Picote)
 - Modelo 3 - Tempo e Tipo

4.3 Resultados e Discussões

A partir dos dados coletados, das análises efetuadas de Índice de Velocidade de Germinação (IVG) e dos dados estatísticos, pelo Modelo Linear Generalizado da Distribuição Binomial, foram gerados resultados, mencionados na tabela 3:

Tabela 3: Dados coletados e resultados obtidos

tempo	Tipo	IVG	germinação	% germinação
T0	Pic	1,107	8	17
T12	Pic	1,214	10	21
T24	Pic	1,681	12	25
T0	Sem	0,018	20	42
T12	Sem	0,330	20	42
T24	Sem	0,156	24	50

De acordo com o conceito de avaliação do IVG, quanto maior o valor de IVG, maior a germinação média diária. Neste experimento, o tratamento do tipo picote em embebição 24h, foi o melhor tratamento avaliado

Os modelos foram comparados pelo AIC, sendo que, o modelo com menor AIC foi o modelo aceito.

Tabela 4: Resultados do AIC /Germinação

GERM	AIC
Modelo 2	0
Modelo 3	6.1
Modelo 0	16.6
Modelo 1	18.9

O modelo 2, foi o modelo adotado, onde a sobrevivência varia apenas em função do tipo (ela não depende do tempo de embebição), sendo que um indivíduo do tipo Semente tem 3 vezes mais chance de germinar que o indivíduo do tipo Picote

Como foi apresentado no decorrer deste trabalho, a espécie em estudo trouxe um grande desafio para a pesquisa. A questão dormência, que a priori acreditava-se ser apenas da semente, de fato foi possível perceber que o envoltório, ou fruto recoberto pelo óleo inibe a passagem de água e oxigênio.

Para abrir o fruto, várias tentativas foram efetuadas, mas a dureza inviabilizava o processo. Foi desenvolvida uma maneira artesanal que propiciou a abertura.

Foi preciso posicionar de forma adequada, seguindo a anatomia do fruto, e utilizar força, gerando desconforto (dor) nas articulações dos manipuladores, limitando o tempo e quantidade de sementes abertas.

O procedimento de picote, foi um tratamento que viabilizou o processo. Um pequeno corte no fruto mostrou-se suficiente para a entrada de água e possível germinação. Porém o tempo de germinação foi mais demorado neste tratamento.

A partir dos resultados observados, em média, enquanto um exemplar do tipo semente, começa a germinar em uma semana, o do tipo picote inicia a germinação a partir da terceira semana. Já os primeiros folíolos para ambos os tratamentos, inicia em torno de uma semana após a germinação e o desenvolvimento vegetativo, também foram semelhantes para os dois tratamentos.

Com a utilização de areia estéril, até onde foi observado, não houve contaminação, o que seria um fator limitante para o experimento.

Ressaltando que este estudo, foi baseado em protocolos já desenvolvidos, na rotina de trabalho do viveiro e que também deram resultados positivos para a sucupira.

Na figura 19, em substrato de areia, pode-se observar os estágios de desenvolvimento da espécie. Em a) início da fase de germinação, a partir da emissão de radícula. Em b) os primeiros folíolos, iniciando a fase vegetativa. Seguindo o processo de desenvolvimento, em c) é possível perceber o desenvolvimento completo na areia. Nesta fase, assim como é feita com outras espécies no viveiro, é necessário retirá-la e colocar em um substrato mineral que venha a fornecer nutrientes necessários para o crescimento da possível muda a se formar. Em d) é possível observar a estrutura de um exemplar de sucupira branca. A partir deste estágio, foi efetuado o transplante para o tubete (figura 20) dando continuidade ao crescimento e ao desenvolvimento da possível muda.



Figura 19: Estágios de desenvolvimento. a) Emissão de radícula, b) Fase vegetativa
c) Ápice do desenvolvimento em areia. d) Observação da estrutura



Figura 20: Processo de replicagem: (a) transferência; b) muda

Devido ao número reduzido de estudos científicos direcionados a espécie sucupira branca e com o objetivo de elucidar este trabalho, buscou-se referências com estudos semelhantes para outras espécies, no sentido de melhor compreensão dos resultados obtidos.

Nos estudos relacionados a germinação, mobilização de reservas, permeabilidade tegumentar, determinação e tratamento de reguladores de crescimento, a curva de embebição é primordial (CARVALHO; NAKAGAWA, 2000; (BORGES et al., 2002).

No processo de absorção de água pela semente, ocorre a reativação do metabolismo e das enzimas, mobilizando as reservas, também há a produção de energia e de compostos essenciais para o crescimento e desenvolvimento da plântula (BORGES et al., 2002).

O processo de germinação inicia quando é reativado o metabolismo e acentua o processo de embebição das sementes. O padrão trifásico de hidratação é identificado, quando a embebição da semente é monitorada. (CARVALHO; NAKAGAWA, 2000).

Foi designado um tipo de classificação (Fase I, II e III) em relação a germinação de sementes, descritos da seguinte forma: Fase I (rápida absorção da água, e reativação do metabolismo), Fase II (estabilização da absorção de água, desencadeando a degradação de substâncias de reserva devido a retomada do crescimento do embrião, e, Fase III (retomada da absorção de água pelas sementes, protrusão radicular e crescimento da plântula). Ressaltando que o tempo de ocorrência para cada fase é influenciado por fatores endógenos e exógenos, determinado pela curva de absorção de água pela semente (MARCOS FILHO, 2005).

As sementes de *Cariniana estrellensis* apresentam cerca de 9,5% de teor de água inicial, a fase II deu-se das 12 às 96 horas e a partir de 168 horas de embebição iniciou-se a Fase III (KOPPER, 2008).

Cada espécie apresenta características específicas em relação a duração de cada fase germinativa, do teor de água inicial necessário, composição da semente e permeabilidade do tegumento. Verificado para sementes de *Annona cherimola* e *Annona squamosa* (FERREIRA et al., 2006), *Ricinus communis* (ZUCHI et al., 2012) e *Jatropha curcas* (SMIDERLE et al., 2013).

Estudos mostram que as sementes de espécies florestais, que não absorvem água, podem evidenciar um caso de dormência. (OROZCO-SEGOVIA et al., 2007).

Embora a flora brasileira ser considerada uma das maiores do mundo, apresentando uma vasta diversidade e grande potencial de utilização de suas espécies, a dificuldade de obtenção de sementes, associada ao processo de dormência, têm causado falta de interesse dos produtores de mudas florestais. (CHEROBINI, 2006).

Em sementes de *Ormosia arborea*, uma espécie da família Fabaceae Papilionoideae também conhecida como olho-de-cabra ou olho-de-boi de importância ornamental e artesanal, além de recomendada para plantios destinados a áreas degradadas, é uma espécie que apresenta dormência tegumentar. (LORENZI, 1998).

Muitas espécies apresentam um envoltório muito resistente que impede a circulação de gases e de água. O processo de embebição fica comprometido e reduz as chances de completar o poder germinativo. É importante o conhecimento, sobre a curva de absorção de água, no sentido de compreender estudos sobre impermeabilidade e pré-hidratação do tegumento. (BEWLEY; BLACK, 1994; ANASTÁCIO; SANTANA, 2010).

Quando a água entra em contato com a semente, ocorre um fenômeno chamado de reidratação, que permite os tecidos e tegumentos ficarem mais permeável, intensificando o processo de respiração e as atividades metabólicas, conseqüentemente, fornece energia e

nutrientes para que o crescimento embrionário volte a se desenvolver. (FERREIRA; BORGHETTI, 2004; ARAUJO et al., 2016).

Uma semente germina, quando recebe água suficiente, para ativar as reações químicas metabólicas para retomar a atividade de desenvolvimento do embrião.

Para que uma semente germine, é necessário que o meio forneça água suficiente, permitindo a ativação das reações químicas relacionadas ao metabolismo e, com isto, a retomada do processo do desenvolvimento do embrião. (MAYER; MAYBER, 1978; COPELAND; MCDONALD, 1995).

Quando a embebição é impedida, devido a impermeabilidade do tegumento, não ocorre a germinação, portanto, o tegumento exerce atividade de suma importância no processo de embebição, impactando o fator germinação. (BRADFORD, 1995).

McDonald et al. (1988) demonstraram que na cultura de soja, nas primeiras oito horas, o seu tegumento regula a passagem de água, porém, após este tempo quebra as barreiras do tegumento, tornando-se totalmente permeáveis e podendo armazenar água para o uso do eixo embrionário.

Ainda sobre a cultura da soja, Rocha et al. (1984), verificaram que as sementes de colheita tardia tiveram aumento na velocidade de embebição quando comparadas as de colheitas em época adequada.

No processo de embebição, foi observado que as sementes menores, atingem teores de água superiores aos de sementes maiores. (CALERO et al., 1981; HSU et al., 1983; SOUZA, 1996).

Um outro fator que pode afetar o processo de germinação de sementes é O uso de hipoclorito de sódio. A prática é utilizada na assepsia de sementes e outras unidades de dispersão, podendo ser responsável pelo estímulo ou inibição do processo de germinação, variando com a espécie e tempo de exposição. (CARNELOSSI et al., 1995).

A dificuldade de absorção de água pela semente, impedindo a hidratação e de forma direta, restringindo os processos físicos e metabólicos, caracteriza a dormência tegumentar no processo de germinação. (BORGES et al., 2004).

A dormência é muito comum em espécies da família Fabaceae (HARTMANN et al., 1997; BASKIN; BASKIN, 2001).

As sementes que apresentam dormência, são aquelas que não germinam, mesmo quando inseridas em condições ambientais favoráveis, ao processo de germinação. (BIANCHETTI, 1981; POPINIGIS, 1985).

Quando as sementes são utilizadas para produção de mudas, a dormência passa a ser um empecilho pois apresentam irregularidades, afetando a homogeneidade das plântulas e o período de formação de mudas (SOUZA et al.,1994),

Ainda em relação dormência, estas sementes estão sujeitas a condições a probabilidade de ataque de doenças fúngicas, acarretando perdas significativas (BORGES et al., 1982).

De acordo com Castro; Hilhorst (2004),as sementes que são pré-embebidas em água, têm germinação mais rápida e uniforme, devido a influência que a água exerce sobre o processo germinativo.

De acordo com Vechiato (2010), com o advento das leis federais e estaduais, devido a obrigatoriedade de reposição ambiental, em propriedades rurais e a recuperação de áreas degradadas, propiciou um aumento da procura por sementes de espécies florestais, no sentido de recuperação e conservação de áreas atingidas. Com isso, a importância de gerar mudas florestais foi intensificada para programas de recuperação, reflorestamento, arborização urbana, preservação de espécies e outras atividades ambientais.

4.4 Conclusão

Este estudo mostrou que a sucupira branca é uma espécie peculiar, que exige cuidados especiais para sua propagação. Dentre estes desafios, justifica-se a importância da espécie, devido ao seu potencial, principalmente na área da saúde e recuperação de áreas degradadas, também, o potencial comercial.

A propagação *ex vitro* mostrou-se uma alternativa viável, quando comparada com a germinação na natureza, no seu habitat natural.

O tempo foi reduzido, devido aos procedimentos de abertura do fruto e do tratamento de embebição.

Através dos resultados, foi possível compreender, que houve desenvolvimento significativo da espécie em ambiente monitorado. Mesmo com clima diferente daquele de sua origem, apresentou uma opção viável de germinação.

Referências

AKAIKE, H. A new look at the statistical model identification. **IEEE Transactions on Automatic Control**, AC- 19, 1974. 716-723p.

ANASTÁCIO, M.R.; SANTANA, D.G. Características germinativas de sementes de *Ananas ananassoides* (Baker) L. B. Sm. (Bromeliaceae). **Acta Scientiarum**. Biological Sciences, v.32, p. 195-200, 2010.

ARAUJO, M.M.V.; FERNANDES, D.A.; CAMILI, E.C. Emergência e vigor de sementes de maracujá amarelo em função de diferentes disponibilidades hídricas. **Revista Uniciências**, v.20, n.2, p.82-87, 2016.

BEWLEY, J.D.; BLACK, M. **Seeds: physiology of development and germination**. New York: Plenum Press, 1994. 445 p.

BASKIN, C.C.; BASKIN, J.M. **Seeds: ecology, biogeography, and evolution of dormancy and germination**. San Diego: Academic Press, 2001. 666p.

BIANCHETTI, A. Tecnologia de sementes de essências florestais. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.3, n.3, p.27-46, 1981.

BOLKER, B.M. **Ecological models and data in R**. Princeton: Princeton University Press, 2008. 396 p.

BORGES, E.E.L.; BORGES, R.C.G.; CANDIDO, J.F.; GOMES, J.M. Comparação de métodos de quebra de dormência em sementes de copaíba. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 4, n.1, p. 9-12, 1982.

BORGES, E.E.L.; BORGES, R.C.G.; SOARES, C.P.B.; PEREZ, S.C.J.G.A. Crescimento e mobilização de carboidrato em embrião de sementes de fedegoso (*Sennamacranthera* Irwin et Barneby) durante a germinação. **Cerne**, v. 8, n. 1, p. 69-76, 2002.

BORGES, E.E.L.; RIBEIRO JUNIOR, J.I.; REZENDE, S.T.; PEREZ, S.C.J.G.A. Alterações fisiológicas em sementes de *Tachigalia multijuga* (Benth.) (mamoneira) relacionadas aos métodos para a superação da dormência. **Revista Árvore**, Viçosa, v.28, n.3, p.317-325. 2004.

BRADFORD, K.J. Water relations in seed germination. In: KIGEL, Y.; GALILI, G. (Ed.). **Seed development and germination**. New York: Marcel Dekker, 1995. chap.3, p.351-356.

CALERO, E.; WEST, S.H.; HINSON, K. Water absorption of soybean associated causal factors. **Crop Science**, v.21, p.926-933, 1981.

CARNELOSSI, M.A.G.; LAMOUNIER, L.; RANAL, M.A. Efeito da luz, hipoclorito de sódio, escarificação e estratificação na germinação de sementes de alface (*Lactuca sativa* L.), cv. maioba e moreninha-de-uberlândia. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.30, n.6, p.779-787. 1995.

CARVALHO, N.M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. 4. ed. Jaboticabal: FUNEP, 2000. 588 p.

CASTRO, R.D.; HILHORST, H.W.M. Embebição e reativação do metabolismo. In: FERREIRA, A.G.; BORGHETTI, F. (Ed.). **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre, Artmed, 2004. p.149-162.

CHEROBINI, E.A.I. **Avaliação da qualidade de sementes e mudas de espécies florestais nativas**. 2006. 115 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) - Universidade Federal de Santa Maria - RS, 2006.

COPELAND, L.O.; McDONALD, M.B. **Principles of seed science and technology**. 3rd ed. New York: Chapman & Hall, 1995. 409p.

FERREIRA, A.G.; BORGHETTI, F. **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, 2004.

GOOGLE MAPS. **Viveiro Bioflora**. Disponível em: <https://www.google.com/maps/place/Viveiro+Bioflora/@-22.7471345,-47.5930784,16z/data=!4m5!3m4!1s0x0:0xcadc8f716dd1c4ae!8m2!3d-22.7493409!4d-47.577543> Acesso em: 15 ago. 2019.

GOOGLE MAPS. **Cidade de Uibaí**. Disponível em: <https://www.google.com/maps/place/Uiba%C3%AD,+BA,+44950-000/@-11.3313611,-42.1467984,14z/data=!3m1!4b1!4m5!3m4!1s0x768ce98c49b751b:0x1ec484bc84d9ff97!8m2!3d-11.3348553!4d-42.1310211> Acesso em: 25 de agosto de 2019

HARTMANN, H.T.; KESTER, D.E.; DAVIES JR., F.T.; GENEVE, R.L. **Plant propagation: principles and practices**. 6thed. New Jersey: Prentice-Hall, 1997. 770p.

HSU, K.H.; KIM, C.J.; WILSON, L.A. Factors affecting water uptake of soybean during soaking. **Cereal Chemistry**, v.60,p.208-211, 1983.

KOPPER, A.C. **Adequação de testes para avaliação de viabilidade e vigor em sementes de *Cariniana estrellensis* (RADDI) KUNTZE**. 2008. 85 p. Dissertação de Mestrado(Mestrado em Agronomia) - Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Paraná.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. Nova Odessa: Plantarum, 1998.

MAGUIRE, J.D. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, Madison, v. 2, n. 1, p. 176-177, Jan./Feb. 1962.

MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Piracicaba: FEALQ, 2005. 495 p.

MAYER, A.M.; MAYBER, A.P. **The germination of seeds**. 2nded. Oxford: Pergamon Press, 1978. 192p.

OROZCO-SEGOVIA, A.; MÁRQUEZ-GUZMÁN, J.; SÁNCHEZ-CORONADO, M.E.; BUEN, A.G.; BASKIN, J.M.; BASKIN, C.C. Seed anatomy and water uptake in relation to seed dormancy in *Opuntia tomentosa* (Cactaceae, Opuntioideae). **Annals of Botany**, Oxford, v. 99, n. 4, p. 581-592, 2007.

POPINIGIS, F. **Fisiologia da semente**. Brasília: AGIPLAN, 1985. 289p.

ROCHA, V.S.; SEDIYAMA, T.; DA SILVA, R.F.; SEDIYAMA, C.S.; THIEBAUT, J.T.L. Embebição de água e qualidade fisiológica de sementes de soja. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.6,p.51-66, 1984.

SMIDERLE, O.J.; LIMA, J.M.E.; PAULINO, P.P.S. Curva de absorção de água em sementes de *Jatropha curcas* L. com dois tamanhos. **Revista Agroambiente On-line**, v. 7, n. 2, p. 203-208, 2013.

SOUZA, L.A.G.; VARELA, V.P.; BATALHA, L.F.P. Tratamentos pré-germinativos em sementes florestais da Amazônia: VI – Muirajuba *Apuleialeiocarpa* (Vog.) Macbride var. *molaris* Spr. Ex Benth. (*Leguminosae*). **Acta Amazônica**, Manaus, v.24, n.1/2, p.81-90, 1994.

SOUZA, F.H.D. Características físicas das sementes de *Calopogonium mucunoides* Desv. associadas à qualidade fisiológica e ao padrão de absorção de água: I. Tamanho. **Revista Brasileira de Sementes**, v.18, p.33-40, 1996.

VECHIATO, M.H. **Importância da qualidade sanitária de sementes de florestais na produção de mudas.** 2010. Disponível em: http://www.infobibos.com/Artigos/2010_3/SementesFlorestais/index.htm. Acesso em: 05 ago. 2019.

VIVEIRO BIOFLORA. **Quem somos.** Disponível em: <http://www.viveirobioflora.com.br/quem-somos> . Acesso em: 05 de agosto de 2019

ZUCHI, J.; PANOZZO, L.E.; HEBERLE, E.; ARAUJO, E.F. Curva de embebição e condutividade elétrica de sementes de mamona classificadas por tamanho. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 34, n. 3 p. 504-509, 2012.

6. CONCLUSÃO

No decorrer deste estudo, foi possível perceber que a sucupira branca é uma espécie de difícil multiplicação, surgindo desafios a serem superados em cada fase da pesquisa.

Devido aos problemas encontrados, o tempo de estudo estabelecido não foi o suficiente para chegar a todos os resultados esperados, porém, foi possível identificar peculiaridades da espécie e propor iniciativas para tentar minimizar, fatores que pudessem prejudicar o andamento da pesquisa.

Foi possível descobrir novas formas de trabalhar com a espécie e desenvolver um protocolo de germinação, baseado nos experimentos e nos dados estatísticos.

Encontrar resultados eficientes, como por exemplo o tipo (semente, embrião e picote) como fatores de importância na germinação.

Os meios de cultura no experimento *in vitro* e o tempo de embebição no experimento *ex vitro*, de acordo com os dados estatísticos, não foram fatores que influenciaram significativamente a germinação.

A continuidade da pesquisa, dará andamento a novos projetos e resultados, que irão juntar-se aos descobertos neste trabalho.

Fica exposto neste trabalho, o amor, a dedicação, a superação de limites e a certeza de que cada dia é um novo dia, um novo desafio a ser superado. Não se trata apenas de um trabalho de pesquisa científica, mas, de um desejo do coração, um sonho realizado, com novas páginas a serem escritas. Aos olhos do Criador, a vida é da cor se pinta!