

Efeito de diferentes concentrações de 2,4-D e carvão ativado na germinação *in vitro* de embriões zigóticos imaturos de Macaúba (*Acrocomia aculeata*).

Hodecker, Thiago Petermann¹; Bandeira, Fabiana Schmidt²; Lani, Elisonete Ribeiro Garcia³; Xavier, Aloísio⁴; Otoni, Wagner Campos⁵.

¹Graduando em Engenharia Florestal (UFV-BIOAGRO) Campus Universitário, CEP 36570-000 Viçosa, Minas Gerais, fone (31) 3899-2930, email: thiagoph@gmail.com; ²Doutoranda em Ciência Florestal (UFV-BIOAGRO), email: bandeira.fabiana@gmail.com; ³Técnica de nível superior (UFV-DFT/BIOAGRO), email: elisonete@yahoo.com.br; ⁴Professor Adjunto (UFV-DEF), email: xavier@ufv.br; ⁵Professor Adjunto (UFV-DBV), email: wotoni@ufv.br.

INTRODUÇÃO

A macaúba (*Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd. ex Mart) é uma palmeira nativa da América do Sul, com ocorrência em grande parte do território brasileiro, predominantemente nos estados de Minas Gerais e São Paulo.

Esta espécie apresenta grande potencial para produção de óleo, com vasta aplicação nos setores industriais e energéticos, com vantagens comparativas sobre as demais oleaginosas, principalmente em relação à sua maior rentabilidade agrícola e produção total de óleo (Motta et al., 2002), podendo atingir uma produção de 6 toneladas de óleo anual. Entretanto, a dificuldade de germinação *in situ* torna-se um grande entrave para a produção em larga escala de mudas, a qual pode levar 8 a 10 meses, com pouco aproveitamento e mudas desuniformes (Silva, 1994).

A cultura *in vitro* de embriões pode ser uma alternativa viável para a produção de mudas de macaúba. Segundo Hu e Ferreira (1998) essa técnica tem sido utilizada para superar a dormência de sementes, em virtude da imaturidade do embrião ou da presença de substâncias inibidoras no endosperma; no estudo dos aspectos nutricionais e fisiológicos do desenvolvimento do embrião; para testar a viabilidade de sementes; na recuperação de híbridos raros de cruzamentos incompatíveis; e como fonte de explantes com tecido de elevada totipotência. Tabai (1990) alcançou resultados positivos, reduzindo drasticamente o tempo de germinação de embriões zigóticos de macaúba, obtendo mudas aptas à aclimatização 16 semanas após a inoculação dos embriões em meio nutritivo.

Com o objetivo de aumentar o índice de germinação desta palmeira, foi avaliado o efeito do 2,4-D (ácido 2,4-diclorofenoxiacético) e do carvão ativado na germinação *in vitro* de embriões zigóticos imaturos de Macaúba.

METODOLOGIA

O experimento foi realizado no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais do BIOAGRO, da Universidade Federal de Viçosa. Os frutos utilizados foram coletados no município de Florestal, armazenados em câmara fria a 15°C por dois dias antes de serem processados.

No presente estudo, foram utilizados frutos imaturos (8 a 9 meses após a polinização). Para o isolamento dos embriões, os frutos foram retirados da câmara fria, descascados, despulpados e colocados para secar à temperatura ambiente por 24 horas. Em seguida foram quebrados em um torno, liberando as amêndoas das quais foram extraídos os embriões.

Os embriões foram extraídos com o auxílio de bisturis, e, em condições assépticas desinfestados em hipoclorito de sódio 1%, acrescido de 3 gotas/100 mL de Tween 20, por 10 minutos. Procedeu-se 4 enxágües em água deionizada e autoclavada e a posterior inoculação dos embriões em meio basal MS (Murashige & Skoog, 1962), acrescido de mio-inositol (100 mg. L⁻¹), sacarose (30 g. L⁻¹), ágar Merck® (6,5 g. L⁻¹), e do antibiótico Timentim® (300 mg. L⁻¹). O pH do meio foi ajustado para 5,7±0,1 (antes da adição do ágar e do carvão ativado) e, em seguida foi realizada a autoclavagem a 120°C, pressão de 1,0 kgf cm⁻², durante 15 minutos. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, em esquema fatorial, onde foram combinadas três concentrações de 2,4-D (0;

2,5; 5 mg. L⁻¹) a três concentrações de carvão ativado (1; 2; 3 g. L⁻¹), totalizando 9 tratamentos. Adotou-se cinco repetições por tratamento, sendo considerada cada placa de Petri um repetição, com 7 embriões por placa. Foram utilizadas placas de Petri de poliestireno (60 x 15 mm). O meio de cultura foi vertido assepticamente, em alíquotas de 12 mL por placa de Petri.

As culturas foram mantidas em sala de crescimento, à temperatura de 25±2°C em regime de escuro. Após 30 dias, foram realizadas avaliações quanto ao percentual de germinação. Foram considerados embriões germinados, aqueles que emitiram raiz e parte aérea (germinação normal); apenas parte aérea ou apenas raiz (germinação anormal). Após a avaliação, os embriões germinados foram transferidos para tubos de ensaio (25x150 mm) contendo 10 mL de meio basal MS, acrescido de sacarose (30 g. L⁻¹), carvão ativado (2 g. L⁻¹) e de ágar Merck® (6,5 g. L⁻¹) e vedados com tampas de polipropileno. Nesta fase, as plântulas obtidas foram mantidas sob as mesmas condições anteriormente descritas, porém sob fotoperíodo de 16 horas de luz e 8 horas de escuro, irradiância de 40 μmol m⁻² s⁻¹, fornecida por tubos fluorescentes (luz do dia) Osram, 20 Watts.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Observou-se melhores resultados quanto à germinação normal, nas menores concentrações de 2,4-D (0 e 2,5 mg. L⁻¹) combinadas a 2 g. L⁻¹ de carvão ativado (40 e 37% respectivamente). Na concentração mais elevada de 2,4-D (5 mg. L⁻¹) foi observado um máximo de 30% de germinação, associada à adição de 3 g. L⁻¹ de carvão ativado ao meio de cultura (Figura 1).

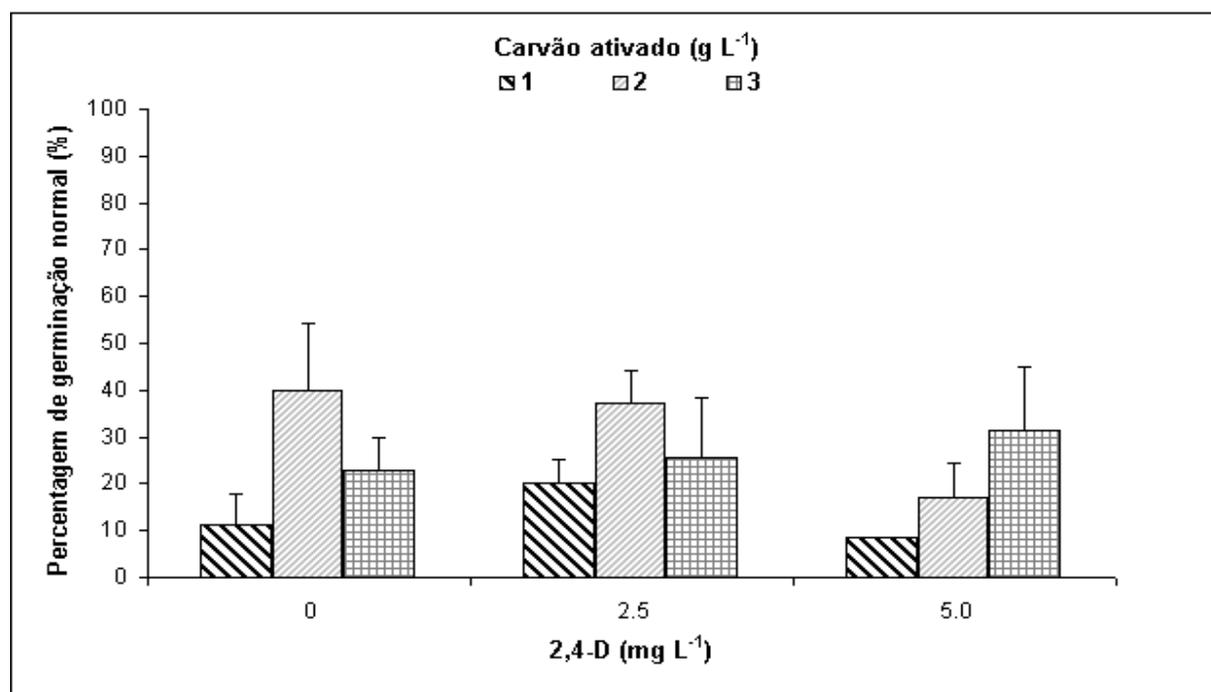


Figura 1. Percentagem de germinação *in vitro* normal (emissão de parte aérea e raiz) de embriões zigóticos imaturos de *Acrocomia aculeata* após 30 dias de inoculação. As barras indicam o desvio padrão.

Em relação à germinação anormal caracterizada pela emissão de raízes apenas, observou-se menores percentuais nos tratamentos 0 e 2,5 mg. L⁻¹ combinados a 2 g. L⁻¹ de carvão ativado (51 e 37% respectivamente). Por outro lado, em 5 mg. L⁻¹ de 2,4-D, a menor percentagem de germinação anormal obtida (51%) ocorreu na maior concentração de carvão ativado (Figura 2).

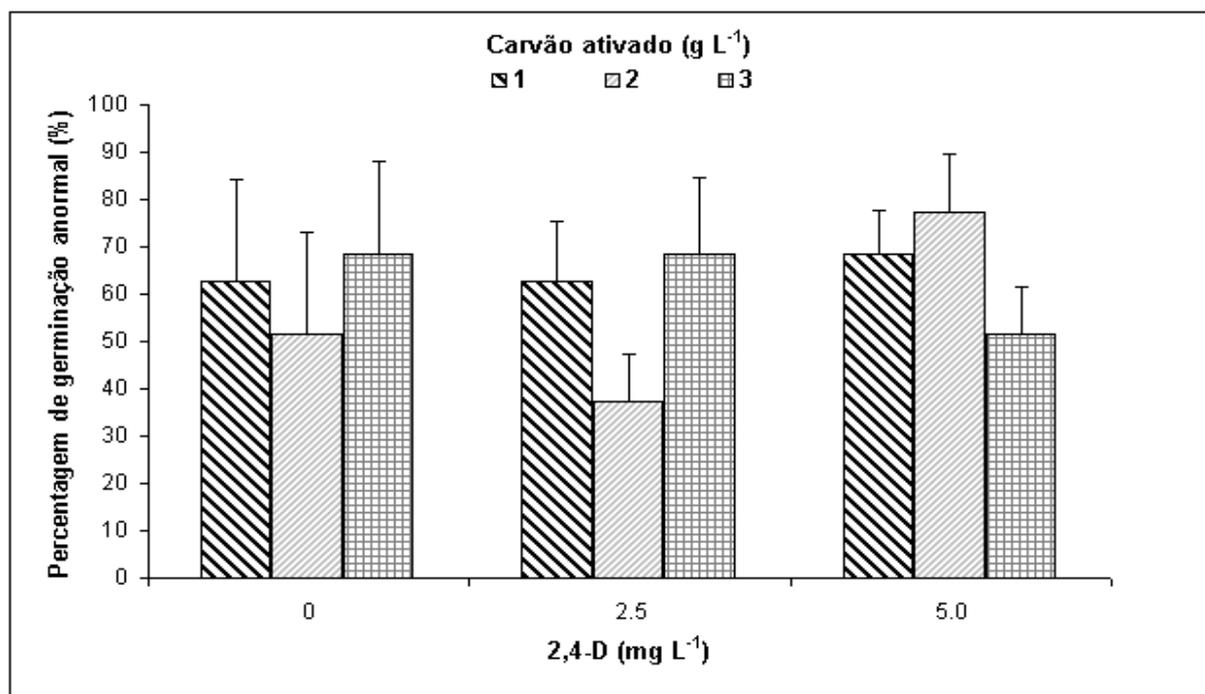


Figura 2. Percentagem de germinação *in vitro* anormal (emissão de raízes apenas) de embriões zigóticos imaturos de *Acrocomia aculeata* após 30 dias de inoculação. As barras indicam o desvio padrão.

Vale comentar o efeito do carvão ativado, independente da concentração de 2,4 D utilizada, sobretudo na qualidade do sistema radicular dos embriões germinados, particularmente nas concentrações mais elevadas (2 e 3 g. L⁻¹). As raízes formadas apresentaram-se alongadas e vigorosas (dados não mostrados), aspecto que assume grande importância durante a fase de aclimatização *ex vitro* das plântulas. Pan e Staden (1998) relatam os efeitos benéficos que o carvão ativado pode exercer no desenvolvimento de culturas *in vitro*, dentre esses a capacidade de adsorver determinadas substâncias presentes no meio de cultura, bem como aquelas liberadas pelos explantes. Steinmacher (2005) obteve melhores resultados na germinação *in vitro* de embriões zigóticos de *Bactris gasipaes* ao adicionar carvão ativado (1,5 g. L⁻¹) aos meios nutritivos, ressaltando que na ausência deste componente, as plântulas obtidas apresentaram crescimento lento e desbalanceado.

De acordo com os resultados obtidos quanto à germinação anormal, caracterizada pela emissão de parte aérea apenas, observou-se que na ausência de 2,4-D e no aumento da concentração de carvão ativado, houve uma redução na percentagem de germinação (de 9 para 6%). Entretanto, na maior concentração de 2,4-D (5 mg. L⁻¹) melhores resultados foram obtidos na menor concentração de carvão ativado (1 g. L⁻¹), não sendo observada emissão de parte aérea (Tabela 1).

Tabela 1. Percentagem de germinação *in vitro* anormal (emissão de parte aérea apenas) de embriões zigóticos imaturos de *Acrocomia aculeata* após 30 dias de inoculação.

Percentagem de embriões intumescidos, oxidados ou sem reação (%)			
2,4 D (mg. L ⁻¹)	Carvão ativado (g. L ⁻¹)		
	1	2	3
0	9	6	6
2,5	6	6	3
5,0	0	3	3

Quanto aos explantes que não germinaram por terem intumescido, oxidado ou por não reagirem, os maiores percentuais foram observados nos tratamentos de 2 g. L⁻¹ de carvão ativado com 2,5 mg. L⁻¹ de 2,4-D (20%) e 1 g. L⁻¹ de carvão ativado com 5 mg. L⁻¹ de 2,4-D (23%). Esses resultados podem ser atribuídos aos danos causados aos embriões durante a extração e desinfestação dos explantes (Tabela 2).

Tabela 2. Percentagem total de embriões que intumesceram, oxidaram, ou que não reagiram, nas diferentes combinações de 2,4 D e carvão ativado.

Percentagem de embriões intumescidos, oxidados ou sem reação (%)			
2,4 D (mg. L ⁻¹)	Carvão ativado (g. L ⁻¹)		
	1	2	3
0	17	3	3
2,5	11	20	3
5,0	23	3	14

CONCLUSÃO

Para a germinação *in vitro* de embriões imaturos de macaúba, recomenda-se o uso de carvão ativado na concentração de 2g. L⁻¹. O uso de 2,4 D não estimulou a germinação normal dos embriões sendo dispensável sua adição ao meio nutritivo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

HU, C. Y.; FERREIRA, A. G. Cultura de embriões. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. (Eds.). **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: EMBRAPA-CNPq, 1998. p. 371-393.

MOTTA, P. E. F.; CURI, N.; OLIVEIRA FILHO, A. T.; GOMES, J. B. V. Ocorrência da macaúba em Minas Gerais: relação com atributos climáticos, pedológicos e vegetacionais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 37, n. 7, p. 1023-1031, 2002.

MURASHIGE, T. & SKOOG, F. A revised medium for rapid growth with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, 15: 473-497, 1962.

PAN, M. J.; Van STADEN, J. Use of charcoal in *in vitro* culture – a review. **Plant Growth Regulation**, v. 26, p. 155-163, 1998.

SILVA, J. C. **Macaúba: fonte de matéria-prima para os setores alimentício, energético e industrial**. Universidade Federal de Viçosa, UFV, Viçosa, 1994, 41 p.

STEINMACHER, D. A. **Germinação *in vitro*, criopreservação e embriogênese somática em pupunha**. 2005, 125 p. Dissertação (Mestrado em Recursos Genéticos Vegetais), Florianópolis: UFSC.

TABAI, S.; MELO, M.; CROCOMO, O. J. Control of somatic embryos formation the palm macaúba (*Acrocomia aculeata*). In: INTERNACIONAL CONGRESS PLANT TISSUE AND CELL CULTURE, 7. 1990. Amsterdam. **Abstracts...** Amsterdam: IAPTC, 1990. p. 248.

PALAVRAS-CHAVES

Acrocomia aculeata; germinação *in vitro*; 2,4-D; carvão ativado; embriões zigóticos