

Efeito da sacarose associada com diferentes concentrações de GA₃ na taxa de germinação *in vitro* de sementes de nim

Rodrigues, Marcelo¹, Paiva², Renato; Porto, Jorge Marcelo Padovani³; Figueiredo, Milene Alves de⁴; Martinotto, Cristiano⁵.

¹Graduando de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Lavras (UFLA), Bolsista de iniciação científica (CNPq), e-mail: marcel.or.7@hotmail.com; ²Professor Associado, Universidade Federal de Lavras (UFLA), Setor de Fisiologia Vegetal, Departamento de Biologia, Setor de Fisiologia Vegetal, CEP: 37200-000, Lavras, Minas Gerais, Brasil, Caixa Postal: 3037, e-mail renpaiva@ulfa.com.br.; ³Mestrando em Fisiologia Vegetal (UFLA), bolsista FAPEMIG, e-mail: marcelo_pado@yahoo.com.br, ⁴Doutorando em Fisiologia Vegetal (UFLA), Bolsista CNPq, e-mail: migueiredo@yahoo.com.br, ⁵Doutoranda em Fisiologia Vegetal (UFLA), bolsista CNPq, e-mail: cmartinotto@yahoo.com.br.

INTRODUÇÃO

Azadirachta indica A. Juss, popularmente conhecida como nim, é uma espécie arbórea nativa da Índia, pertencente a família Meliaceae. Destaca-se por possuir substâncias de ação inseticida, fungicida, bactericida e nematicida (Martinez,1998). Segundo Schmutterer (1995), citado por Pletsch (1997), dentre essas substâncias, estão centenas de princípios ativos.

Entre os compostos químicos presentes no nim com atividade biológica, o mais ativo é a azadirachtina, que por sua vez possui semelhança com o hormônio da ecdise dos insetos, desse modo atua alterando essa transformação, podendo inclusive impedi-la (Martinez, 1998). Apresenta ainda, efeito repelente e intoxicante, afetando a biologia e desenvolvimento, oviposição e a viabilidade dos ovos (Neves & Nogueira, 1996).

A micropropagação oferece muitas vantagens para a prática agrícola, como a maior rapidez na obtenção de um grande número de mudas ou materiais vegetais, e a erradicação de pragas e doenças da cultura (Pletsch, 1997). A clonagem *in vitro* é particularmente útil para conservação de espécies ameaçadas, e a propagação de espécies recalcitrantes ou de ciclo de vida longo. Também pode ser aplicada as espécies vegetais produtoras de princípios ativos úteis a serem explorados economicamente, da mesma forma que a micropropagação de espécies leguminosas, frutíferas, florestais e ornamentais (Kerbaui,1997)

Concluimos que a produção em larga escala de clones, via cultura de tecidos, surge como importante alternativa para a produção de mudas selecionadas e sadias de nim. Essa técnica permite o isolamento asséptico de células ou tecidos da planta-mãe e seu cultivo em condições controladas, sendo que a expressão da totipotencialidade celular permite a regeneração de plantas inteiras idênticas a matriz (Tores & Caldas,1990). A micropropagação apresenta-se com grande superioridade em relação aos métodos vegetativos convencionais por incluir elevadas taxas de multiplicação, produção de material livre de doenças e pequeno espaço requerido para multiplicar um grande número de plantas (Torres & Caldas, 1990).

O presente trabalho tem como objetivo estudar o efeito do GA₃ e da sacarose na taxa de germinação de sementes de nim e no desenvolvimento das plântulas.

MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Cultura de Tecidos de Plantas, do setor de Fisiologia Vegetal, do Departamento de Biologia da Universidade Federal de Lavras (UFLA). As sementes utilizadas nesse trabalho foram coletadas na cidade de São José do Rio Preto, estado de São Paulo, as mesmas foram coletadas de 5 árvores diferentes e posteriormente transportadas durante 1 dia, para a cidade de Lavras/MG. Os frutos estavam ainda verdes, porém prontos para o amadurecimento, cada fruto contém apenas uma semente, no qual foram submetidas aos métodos de assepsia, logo depois, para o cultivo *in vitro*. As condições assépticas foram: desinfestação das sementes em álcool 70% durante 60 segundos e em hipoclorito de sódio (NaOCl) com 2,0% de cloro ativo durante 10 minutos. Ao final desse

processo, as sementes foram levadas para câmara de fluxo para repetir esse procedimento, porém com imersão no hipoclorito durante 20 minutos, ao final desse período, foram lavadas 3 vezes em água destilada e autoclavada, banhadas no fungicida Derosal e inoculadas em tubos de ensaio contendo o meio de cultivo previamente autoclavado a 120 C durante 20 minutos. O meio de cultivo utilizado foi WPM (Lloyd & McCown, 1981), solidificado com 0,6% de agar e pH = 5,8. Os tratamentos testados foram: T0 = WPM; T1 = WPM + GA₃ ; T2 = WPM + sacarose; T3 = WPM + GA₃ + sacarose. A concentração de GA₃ utilizada foi de 8,0 mg L⁻¹ e de sacarose 1,5%.

Após a inoculação, as sementes foram mantidas em sala de crescimento a 27 ± 2 °C, sob fotoperíodo de 16 horas e irradiância de fótons de 25 μmol m⁻² s⁻¹. Aos 30 dias de cultivo, a percentagem de sementes germinadas, bem como o número de brotos, de folhas e de raízes foram analisadas. O aspecto dos frutos e das plantas de nim germinadas *in vitro* são apresentados na Figura 1.

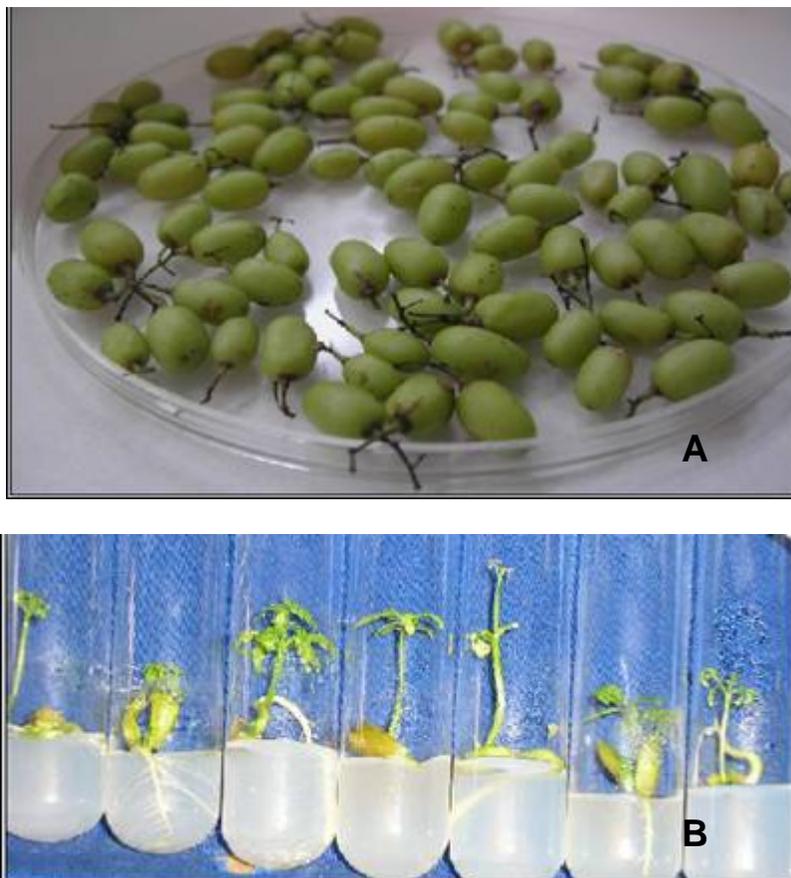


Figura 1. Aspecto dos frutos (A) e das plantas de nim (B) germinadas *in vitro*.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise de variância mostrou diferença estatística entre os quatro tratamentos. Podemos evidenciar que o tratamento controle possui maior taxa de germinação em relação aos outros tratamentos (aproximadamente, 80%). Além disso, podemos observar que ao associar GA₃ e sacarose, houve uma redução significativa na taxa de

germinação (30%). O GA₃, provavelmente em alta concentração, causou um desequilíbrio hormonal nas sementes, e a sacarose dificultou o processo osmótico de absorção de água. Quando associados, esses dois fatores promoveram uma redução brusca na taxa de germinação (Figura 2A). As demais variáveis avaliadas são apresentadas na Figura 2B, 2C, 2D e 2E.

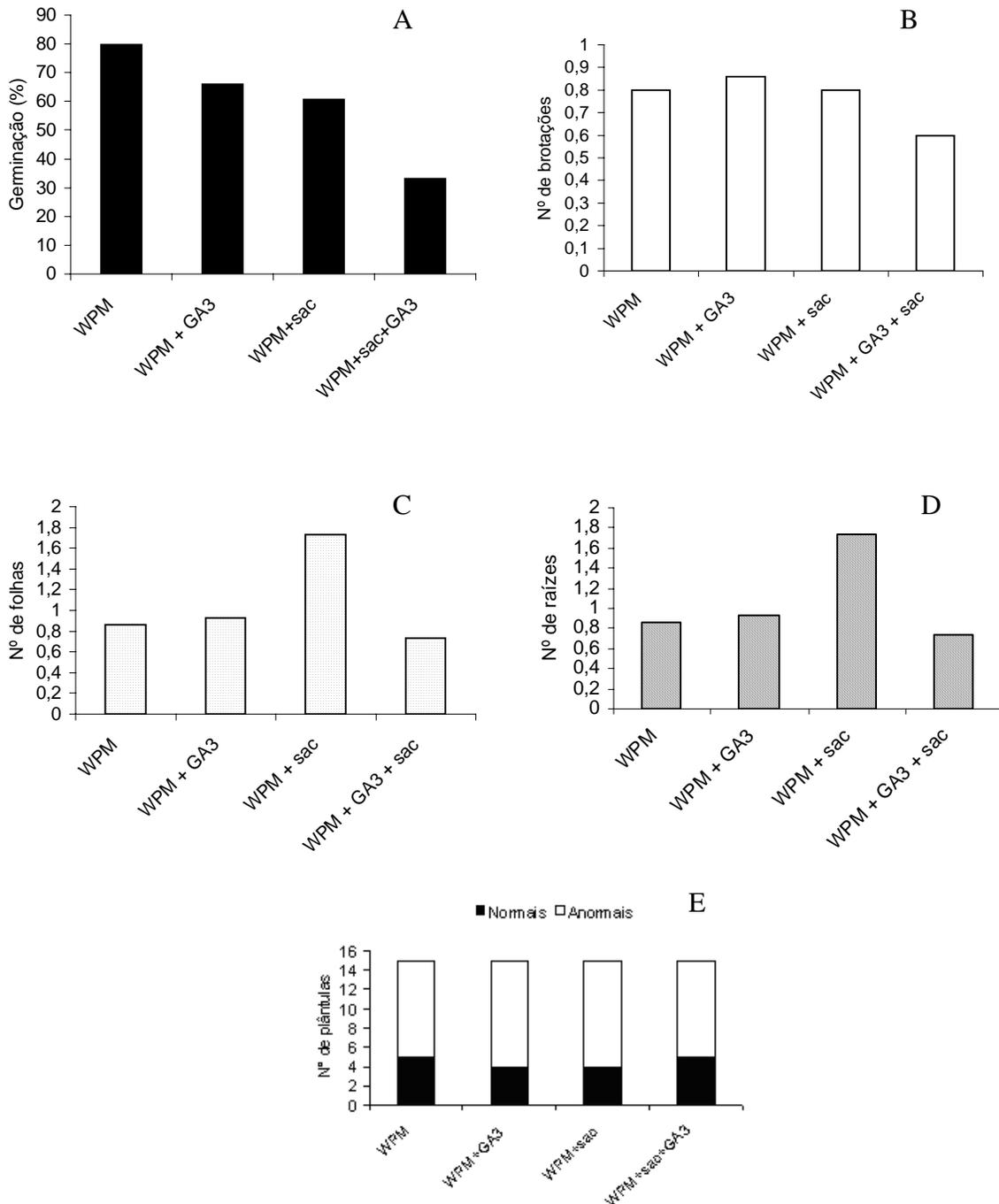


Figura 2. Porcentagem de germinação (A), número de brotações (B), número de folhas (C), número de raízes (D) e ocorrência de plântulas normais e anormais (E) obtidos a partir da

germinação de sementes de nim de acordo com a suplementação com GA₃, sacarose ou sacarose + GA₃.

O número de brotação foi maior na presença da giberelina exógena ou na presença de sacarose, em torno de 1 brotação por semente, provavelmente por se tratar de uma espécie que não apresenta poliembrionia.

Já o número de folhas foi maior na presença de sacarose, assim como o número de raízes. A maior formação de órgãos na presença de sacarose sugere que, além das reservas contidas nas sementes, a fonte de carbono exógena provavelmente contribuiu para o maior fornecimento de esqueleto de carbono para incremento de matéria seca.

Nos 80% de germinação, houve a formação de plântulas anormais em quantidades equivalentes em todos os tratamentos.

CONCLUSÃO

Para as condições experimentais utilizadas, conclui-se que o meio de cultura apropriado para germinação *in vitro* de nim é o meio WPM na ausência de sacarose e GA₃. No entanto, para formação de maior número de folhas e raízes, causando um aumento da matéria seca da plântula, utiliza-se sacarose no meio de cultivo como observado no tratamento T2.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

KERBAUY, G.B. Clonagem de plantas *in vitro*. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**. Ano I, n^o 1, p.30-33, maio 1997.

LLOYD, G; MCCOWN, B. Commercially-feasible micropropagation of Mountain Laurel, *Kalmia latifolia*, by use of shoot tip culture. **International Plant Propagation Society Proceedings**, Washington, v.30, p.421-427, 1981.

MATINEZ, S.S.; LIMA, J. de; BOIÇA JUNIOR, A.L. Avaliação agronomica e fitoquimica de neem, *Azadirachta indica*, de diferentes procedencias em vários locais da região sul e sudeste do Brasil. **XVII Congresso Brasileiro de Entomologia. Sociedade Entomológica do Brasil**, Resumo, p.831, agosto 1998.

NEVES, B.P.; NOGUEIRA, J.C.M. **Cultivo e utilização do nim indiano (*Azadirachta indica* A. Juss)** Goiânia: Embrapa, CNPAF; APA, 1996. 32p. (Circular Técnica, 28).

PLETSCH, M. Compostos naturais biologicamente ativos. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**. Ano I, n^o 1, p.12-15, maio 1997.

SCHMUTTERER, H. Properties and potential of natural pesticides from the neem tree, *Azadirachta indica*. **Annual Review of Entomology**. Palo Alto, v.35, p.271-297, 1990.

TORRES, A.C.; CALDAS, L.S. **Técnicas e aplicações da cultura de tecidos de plantas**. Brasília: ABCTP/EMBRAPA – NCPH, 1990. 433 p.

PALAVRAS CHAVE

Azadirachta indica, giberelina, carboidrato, cultivo *in vitro*.