

GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE SUCUPIRA-BRANCA [*Pterodon pubescens* (BENTH.) BENTH.] IN VITRO E EX VITRO¹

MARLY CATARINA FELIPE COELHO²
JOS É EDUARDO BRASIL PEREIRA PINTO³
AUGUSTO RAMALHO DE MORAIS⁴
LUIS PEDRO BARRUETO CID⁵
OSMAR ALVES LAMEIRA⁶

RESUMO: A Sucupira-branca é uma espécie nativa dos cerrados de importância medicinal e florestal, porém suas sementes apresentam baixo poder germinativo. Com o presente trabalho, objetivou-se melhorar a sua taxa de germinação. Para tanto, sementes de sucupira foram submetidas aos seguintes tratamentos: germinação em areia e “in vitro”. A germinação em areia consistiu em colocar sementes seccionadas e sementes sem tegumentos nesse substrato. Por outro lado, a germinação “in vitro” consistiu em colocar sementes sem tegumentos, sementes escarificadas e sementes seccionadas em MS

líquido 50% e MS 50% com ágar e ágar suplementado com carvão ativado a 0,1%; 0,2% e 0,3%. Utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado. Foi observado que as sementes seccionadas e germinadas em areia apresentaram 91% de germinação, ao passo que as sementes sem tegumentos apresentaram 55%. Com relação à germinação “in vitro”, observou-se que a maior porcentagem de germinação, ou seja, 96,66%, foi obtida quando utilizaram-se sementes sem tegumentos em MS líquido 50%.

TERMOS PARA INDEXAÇÃO: Meio líquido, dormência, planta medicinal.

IN VITRO AND EX VITRO SEED GERMINATION OF SUCUPIRA-BRANCA [*Pterodon pubescens* (BENTH.) BENTH.]

ABSTRACT - White Sucupira [*Pterodon pubescens* (Benth.) Benth.] is a plant of medical and forest importance originated from the Brazilian savanas, and it has a very low germination rate. This study aimed at improving White Sucupira's germination rate. In order to carry out this job, seeds were treated as follow: a) a longitudinal cut in the end of the seed opposite to the embryo; b) total removal of the external seed tegument, and c) sanded with sand paper. Treated seeds were then placed in washed sand or *in vitro*. Four different media were used *in vitro*: MS modified (half strength MS salts + full strength MS vitamins), supplement with zero or

0.7% Agar, and supplemented with activated charcoal at zero, 0.1, 0.2 or 0.3% (only the media with agar were supplemented with activated charcoal). A random block statistical design was used, with four replicates for each treatment, and at least 25 seeds per each replicate. The germination rate observed in the treatments using sand as substrate were 91 and 55%, respectively, for seeds with the longitudinal cut and the ones without the tegument, after one month. The treatment using seed without tegument, incubated in liquid MS modified medium, gave the best germination rate observed, with 96.66% of germination after one month.

INDEX TERMS: Liquid medium, dormancy, medicinal plant.

-
1. Parte da dissertação apresentada à UNIVERSIDADE FEDERAL DE LAVRAS (UFLA), pelo primeiro autor, como um dos requisitos do curso de Mestrado em Agronomia, área de concentração Fitotecnia. Apoio Financeiro CAPES
 2. Engenheiro Agrônomo, Pesquisador- EMBRAPA/CENARGEN – Caixa Postal 02372, 70.770-900, Brasília-D.F.
 3. Engenheiro Agrônomo, Dr., Professor Titular/UFLA, Caixa Postal 37, 37.200-000, Lavras – MG.
 4. Engenheiro Agrônomo, Dr., Professor/UFLA
 5. Biólogo, Pesquisador- EMBRAPA/CENARGEN – Caixa Postal 02372, 70.770-900, Brasília-D.F.
 6. Engenheiro Agrônomo., Pesquisador- EMBRAPA/Amazônia Oriental – Caixa Postal 48, 66.095-100, Belém-Pará.

INTRODUÇÃO

A espécie *Pterodon pubescens* (sucupira-branca) é uma essência nativa dos cerrados brasileiros, sendo encontrada em Minas Gerais, São Paulo, Goiás e Mato Grosso do Sul.

A árvore dessa espécie possui alta resistência natural ao apodrecimento. O óleo do fruto é muito utilizado na medicina popular, uma vez que confere proteção contra infecção por cercária de *Schistosoma mansoni*, (Mors, Pellegrino e Santos Filho, 1966 e Dias, 1993) e também no tratamento de infecções de garganta e reumáticas (Barros, 1982). No entanto, o corte intensivo dessa essência tem contribuído para seu rápido desaparecimento.

Estudos realizados com germinação permitem levantar a hipótese de que as sementes de sucupira possuem dormência causada pela impermeabilidade dos tegumentos ao oxigênio e à água, possivelmente pela existência de inibidores químicos da germinação (Reis, 1976).

A propagação por semente apresenta sérios obstáculos aos métodos normalmente utilizados pelo fato de a semente ser coberta com envoltório lenhoso do fruto e ainda ser essa camada pontuada de glândulas oleosas que impedem a penetração d'água. Em condições naturais, a semente necessita de mais ou menos quatro anos para produzir plântulas (Heringer, 1971).

Para superar a dormência, vários métodos podem ser utilizados, sendo os mais comuns: embebição em água, retirada do tegumento, desponte (corte do tegumento), furo do tegumento, escarificação mecânica, imersão em água quente ou fria, água oxigenada, escarificação química com ácido sulfúrico, ácido clorídrico, soda, acetona e álcool (Santarém e Áquila, 1995).

Na semente de sucupira, há uma evidência de que os inibidores químicos não estejam participando diretamente do processo de germinação, já que o simples corte do tegumento resultou em imediato aumento da embebição (Reis e Rena, 1987).

Portanto, com o presente trabalho objetivou-se identificar as melhores condições "in vitro" e "ex vitro" de germinação da semente.

MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Biotecnologia do Departamento de

Agricultura da Universidade Federal de Lavras e no Laboratório de Cultura de Tecidos do Centro Nacional de Pesquisa de Recursos Genéticos e Biotecnologia (CENARGEN – EMBRAPA).

As sementes utilizadas foram coletadas de populações do município de Brasilândia, norte de Minas Gerais e em Brasília.

Inicialmente, antes de montar os testes, as sementes foram desinfestadas em ambiente asséptico. Para tanto, foram imersas em álcool a 70% por um minuto; em seguida, imergiram-nas numa solução de hipoclorito de sódio a 2% por vinte minutos, lavando-as três vezes em água destilada autoclavada.

Teste de Germinação "ex vitro"

O experimento comparou dois métodos de superação de dormência. Um dos métodos constou do seccionamento do tegumento das sementes com um pequeno corte no lado oposto ao eixo embrionário e o outro consistiu na remoção do tegumento. As sementes foram semeadas em caixas tipo gerbox, contendo areia lavada e autoclavada a 121°C durante 60 minutos. Foram utilizadas 50 sementes por tratamento, divididas em dez repetições, sendo cada unidade experimental constituída por 5 sementes. As caixas foram mantidas na câmara de germinação a 30°C e fotoperíodo de 8 horas. O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado e avaliaram-se, aos 14 dias após a semeadura, as seguintes variáveis: comprimento de raízes e da parte aérea, número de folhas e germinação.

Teste de Germinação "in vitro"

a) Superação da dormência por seccionamento ou remoção do tegumento.

Como no teste de germinação "ex vitro", neste experimento foram utilizadas sementes com os tegumentos seccionados e sementes com os tegumentos removidos.

Utilizou-se meio básico de MS diluído para metade da força dos sais dos macro e micronutrientes, suplementados com vitaminas de MS e 2% de sacarose, utilizando-se ponte de papel-filtro como suporte. O meio de cultura foi ajustado a um pH de 5,8 e autoclavado a 121°C durante 20 minutos. O material foi cultivado em tubos de ensaio de 20 x 150 mm, contendo 13 ml de meio de cultura, sob condições de 14 horas de fotoperíodo e 28°C de temperatura, tapados com forminhas 24 x 16mm de papel alumínio

Rochedo[®]. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com parcelas subdivididas e 6 repetições

sendo cada unidade experimental constituída por 5 tubos de ensaio contendo uma semente por tubo. Os tratamentos foram constituídos de dois métodos de superação de dormência: seccionamento e remoção dos tegumentos e quatro épocas de avaliação (7, 14, 21 e 35 dias), colocando-se os métodos nas parcelas e épocas nas subparcelas. Em cada época, avaliaram-se as seguintes variáveis: comprimento da raiz, comprimento da parte aérea, número de folhas e percentagem de germinação.

b) Superação da dormência por escarificação ou remoção do tegumento.

Neste experimento, uma parte das sementes foi escarificada com lixa da marca 3M 231 Q Wetordry Imperial paper C 180[®]. E a outra parte teve seus tegumentos removidos, como métodos de superação da dormência.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com parcelas subdivididas e quatro repetições, sendo a unidade experimental constituída por 6 tubos de ensaios contendo uma semente por tubo. Os tratamentos foram constituídos da combinação dos métodos de superação da dormência (sementes escarificadas e sementes sem tegumento) com cinco meios (ágar lavado, meio líquido e ágar com carvão a 0,1%; 0,2% e 0,3%), fatorial (2 x 5) e duas épocas de avaliação (7 e 28 dias). Nas parcelas, avaliaram-se os tratamentos que constituíram o fatorial, e na subparcela, as épocas de avaliação.

Os meios de cultura foram preparados a partir do MS, conforme descrito no experimento anterior, da seguinte forma: a) meio MS com ágar lavado com um litro de água deionizada; b) meio MS líquido, utilizando suporte de papel-filtro e c) meios MS com ágar a 0,7%, suplementado de carvão ativado nas concentrações de 0,1%; 0,2% e 0,3%.

Após montagem, o teste foi conduzido nas mesmas condições do estudo, com sementes com tegumentos seccionados, avaliando-se, em cada época, as seguintes variáveis: comprimentos de raízes e da parte aérea, número de folhas e germinação.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Teste de Germinação “ex vitro”

Pelos resultados apresentados na Tabela 1, observou-se que as sementes com os tegumentos seccionados foram superiores às sementes com os tegumentos removidos, em relação ao comprimento da raiz e à germinação.

O seccionamento no tegumento das sementes favoreceu maior rapidez na germinação. O mesmo foi observado por vários autores, como Barradas e Handro (1974), que trabalharam com sementes de barbatimão [*Stryphnodendron barbadetiman* (Vell.) Mart.] e compararam a germinação de sementes seccionadas e sementes intactas, em experimento estabelecido em placas de Petri sob condições de germinador. O mesmo foi observado por Ferreira (1976) em seu experimento com maricá [*Mimosa bimucronata* (DC.) O. K.], em que o seccionamento da semente possibilitou cerca de 100% de germinação em menos de 48 horas. O seccionamento do tegumento promoveu rapidez de germinação nas leguminosas *Acacia bonariensis* Gill e *Mimosa bimucronata* (DC.) O.K., conforme Ferreira, João e Heuser (1992); também em *Acacia senegal* (L.) Willd por Danthu et al. (1992); com *Cassia sieberiana* D C. por Todd-Bockarie et al. (1993); com *Senna macranthera* (Colladon) Irwin e Barneby por Santarém e Áquila (1995).

Áquila e Fett Neto (1988), no entanto, observaram que em *Leucaena leucocephala* (Lam.) De Wit o seccionamento proporcionou alta porcentagem de germinação, mas as plântulas cresceram menos do que as plântulas provenientes de sementes submetidas a outros métodos de quebra de dormência. Gosling, Samuel e Jones (1995) relataram que sementes de *Leucaena leucocephala* submetidas ao seccionamento e sob 40°C de germinação apresentaram alto índice de mortalidade.

Reis, Brune e Rena (1985), em estudo comparativo com sementes intactas de sucupira-branca e utilizando várias formas de superação de dormência, observaram que o corte no tegumento apresentou porcentagem de germinação e energia germinativa pelo menos cinco vezes superior ao controle.

Neste experimento, no qual compararam-se a germinação de sementes seccionadas e o desenvolvimento de sementes sem o tegumento, observou-se que as sementes seccionadas apresentaram 36% de germinação superior à obtida com sementes sem o tegumento. As sementes que foram submetidas à remoção dos tegumentos sofreram um severo ataque de fungos. Em experimento realizado por Melo, Ribeiro e Lima (1979) com sementes de sucupira-branca,

ocorreu também forte ataque de fungos nas sementes, embora tenham sido tratadas com solução aquosa de hipoclorito de sódio a 0,2%. A remoção do tegumento muito provavelmente facilitou o ataque de fungos.

TABELA 1 - Valores médios para os parâmetros comprimento de raiz e da parte aérea, número de folhas e porcentagem de germinação, em função dos métodos de superação da dormência de sementes de sucupira-branca, cultivados “ex vitro”. UFLA, Lavras – MG.

Métodos de superação de dormência	Comprimento (cm)		Número de Folhas	Germinação (%)
	Raiz	Parte aérea		
Seccionamento do tegumento	1,96a	1,51a	1,48a	91a
Remoção do tegumento	1,43b	1,28a	1,18a	55b

Médias com a mesma letra na coluna não diferem estatisticamente pelo teste F a 1% de probabilidade.

Para as espécies tropicais, segundo Mascarenhas et al. (1987) e Le Roux, citado por Harry e Thorpe (1994), as sementes que são utilizadas para explante devem ser desinfestadas antes da remoção dos embriões ou no caso de germinação asséptica. O procedimento da desinfestação deve ser rigoroso por causa do alto grau de contaminação natural. Geralmente utiliza-se a combinação $HgCl_2$ NaOCl e etanol

Teste de germinação “in vitro”

a) Superação da dormência por seccionamento ou remoção do tegumento

As sementes sem tegumento tiveram maior crescimento do que as sementes com tegumentos seccionados. Nesse caso, provavelmente o tegumento ainda agiu como uma barreira, impedindo rapidez no processo de embebição da semente, em relação ao embrião, que tinha maior área de superfície de absorção em contato com o meio líquido, ao passo que as sementes seccionadas atingiram a máxima germinação somente aos 26 dias (Figura 1 e 2). Rapidez de germinação, pela retirada do tegumento, foi relatada por Radhamani, Malik e Chandel (1991) com várias espécies de *Citrus*: *C. aurantifolia* (Chrism.), Swingle, *C. limonia* Osbeck, *C. limon* (L.), Burm. f., *C. reticulata* Blanco, *C. aurantium* L., *C. maxima* (Burm.) Merrill, *C. maderaspatana* Tanaka e *Poncirus trifoliata* (L.) Raf., em que as sementes com tegumento precisaram de 32, 30, 32, 31, 70, 85, 80 e 32 dias para germinar e sem o tegumento reduziram para 25, 20, 27, 26, 35, 36, 35 e 28 dias, respectivamente.

A remoção dos tegumentos das sementes de *Fraxinus ornus* L. (freixo) e *Sorbus domestica* L. foi a maneira encontrada para obtenção das plantas.

Sementes de *Fraxinus* com tegumento germinaram apenas 7%, não havendo germinação para sementes com tegumento de *Sorbus domestica*, conforme Arrillaga, Marzo e Segura (1992).

Nas sementes seccionadas, observou-se leve coloração amarronzada exsudando no local do corte das sementes; provavelmente ocorreu oxidação dos fenóis, o que também foi observado por Ashburner, Thompson e Burch (1993) no cultivo de embriões de coco (*Cocos nucifera* L.) “in vitro”, sendo necessário a suplementação de carvão ativado a 0,2% no meio de cultura. Na sucupira-branca, a oxidação fenólica foi atenuada pelo uso do meio líquido.

Cantos et al. (1998) observaram que a baixa germinação de pinheiros, *Juniperus oxycedrus* L. (subsp. *oxycedrus* e subsp. *macrocarpa*) estava relacionada com a presença de inibidores no endosperma e com o impedimento mecânico da testa. Obtenção de plantas foram conseguidas quando inocularam embriões “in vitro”.

Ainda com relação às sementes seccionadas, verificou-se uma germinação heterogênea, diferentemente das sementes sem o tegumento, que apresentaram desenvolvimento bem homogêneo. As sementes sem tegumento atingiram cerca de 90% de germinação aos 7 dias de cultivo, como mostra a Figura 2. Para as sementes seccionadas, o percentual de germinação máximo ocorreu aos 26 dias. Também foram observados para as sementes sem tegumentos maior comprimento da parte aérea e maior número de folhas, em menor tempo (Figura 3 e Figura 4). Nota-se que houve um acréscimo médio no comprimento da parte aérea de 0,14 cm e de 0,13 cm para sementes sem o tegumento e com o tegumento seccionado, respectivamente, para cada dia de avaliação; com relação ao número de folhas, houve um acréscimo

médio de 0,18 e 0,16 folhas para sementes sem o respectivamente, em função do aumento de um dia na tegumento e com o tegumento seccionadas, avaliação (Figura 4).

TABELA 2 - Valores médios para os parâmetros comprimento de raiz e da parte aérea, número de folhas e porcentagem de germinação em função dos métodos de superação da dormência de sementes de Sucupira-branca, cultivados “in vitro”. UFLA, Lavras - MG.

Métodos de superação de dormência	Comprimento (cm)		Número de Folhas	Germinação (%)
	Raiz	Parte aérea		
Remoção do tegumento	5,448 ^a	2,955 ^a	2,90a	95 ^a
Seccionamento do tegumento	3,792 ^b	1,814 ^b	2,00b	80 ^b

Médias com a mesma letra na coluna não diferem pelo teste de F, a 1% de probabilidade.

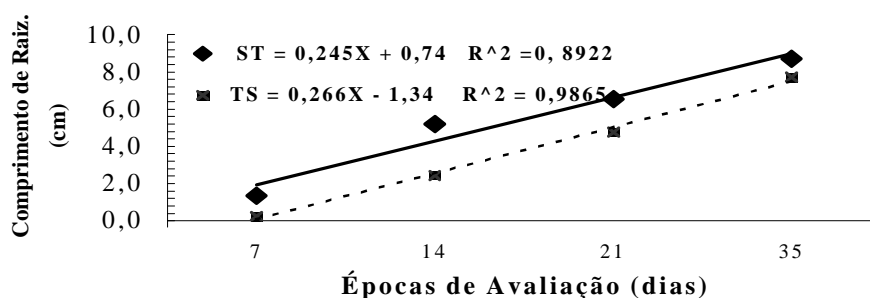


FIGURA 1 - Comprimento de raízes, em função das épocas de avaliação, de sementes de sucupira-branca sem o tegumento (ST) e de sementes com o tegumento seccionado (TS), cultivadas “in vitro”. UFLA, Lavras - MG, 1999.

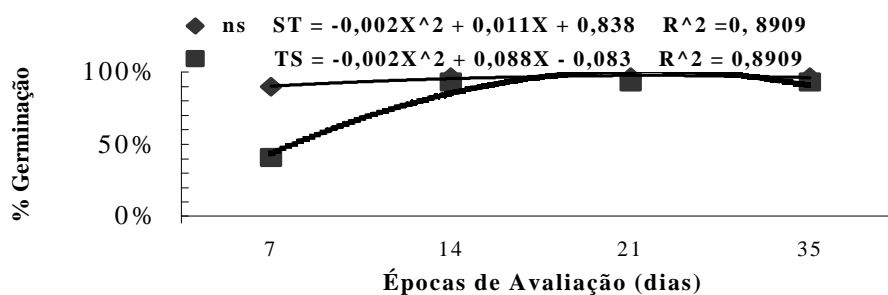


FIGURA 2 - Representação e equação de regressão para porcentagem de germinação em função das épocas de avaliação para os dois diferentes tipos de métodos de superação de dormência: sem tegumento (ST) e sementes com o tegumento seccionado (TS) cultivados “in vitro”. UFLA, Lavras - MG.

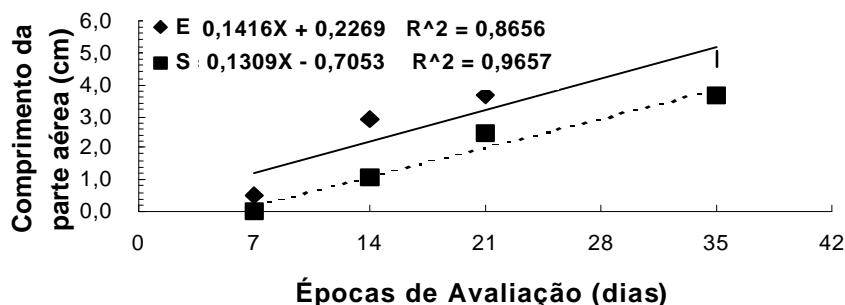


FIGURA 3 - Comprimento da parte aérea em função das épocas de avaliação de sementes de Sucupira-branca sem o tegumento (ST) e de sementes com o tegumento seccionado (TS) cultivada “in vitro”. UFLA, Lavras - MG.

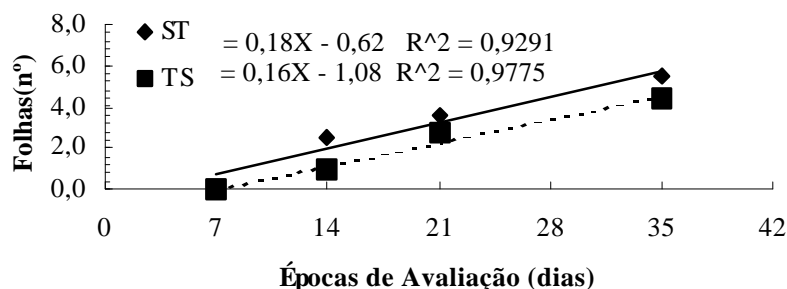


FIGURA 4 - Número de folhas em função das épocas de avaliação de sementes de sucupira-branca sem o tegumento (ST) e de sementes com o tegumento seccionado (TS) cultivadas “in vitro”. UFLA, Lavras - MG.

Observou-se um comportamento diferente na germinação “in vitro” em relação à germinação “ex vitro” do experimento anterior. Na germinação “ex vitro” de sucupira-branca, melhor germinação ocorreu com sementes seccionadas; já na germinação “in vitro”, o melhor desempenho germinativo foi das sementes sem tegumento.

Com o cultivo “in vitro” de sementes sem tegumento de sucupira-branca neste experimento obtiveram alto índice de germinação e maior velocidade devido à ausência de tegumento, que ao ser inoculado,

rapidamente iniciou o metabolismo da germinação através da embebição. Outro fator que contribuiu foi o meio básico, rico em nutrientes e em estado líquido. O estágio de maturação das sementes, com os cotilédones cheios de reservas. Inclusive este é um fator interessante visto que o cultivo de embriões é muitas vezes empregado com embriões imaturos, geralmente sendo necessário o emprego de reguladores de crescimento, como no caso da obtenção de híbridos de *Vicia narbonensis* L. x *Vicia faba* L. (fava) por

Lazaridou, Roupakias e Economou (1993). Alta porcentagem de germinação de embriões imaturos de damasco (*Prunus armeniaca* L.) foi conseguida também por Burgos e Ledbetter (1993), obtendo-se mais de 80% de germinação com embriões medindo de 5 a 9mm de comprimento. Emershad e Ramming (1994) relataram altas percentagens de germinação de embriões de nectarina (*Prunus persica* var. *nucipersica* Schneid) e pêsego [*Prunus persica* (L.) Batsch], cultivados em meio básico WPM, os quais atingiram 98% e 100% de germinação, respectivamente, em que 100% desenvolveram-se em plantas. A ameixa (*Prunus salicina* Lindl.), cultivada em meio C2d, obteve 98% de germinação, com 100% dos embriões sendo convertidos em plantas. Thiagarajan e Murali (1994), com cultivo de embriões imaturos de neem [*Azadirachta indica* (A. Juss)], obtiveram mais de 89% de germinação de embriões a partir de 3 mm de comprimento.

b) Superação de dormência por escarificação ou remoção do tegumento.

O teste de germinação de sementes sem tegumento de sucupira-branca “in vitro” possibilitou um estudo mais detalhado do comportamento desses propágulos em diferentes meios. A germinação “in vitro” tem como objetivo a produção de explantes juvenis e assépticos para o estabelecimento de experimentos “in vitro”. O ideal neste caso é a produção de plântulas vigorosas e bem homogêneas.

O resultado das análises de variância mostrou diferenças significativas quanto aos métodos de superação de dormência e meios ($P < 0,01$) para todos os parâmetros: comprimento da raiz, parte aérea, número de folhas e porcentagem de germinação. As avaliações que foram feitas afetaram significativamente ($P < 0,01$) o comprimento da raiz, parte aérea e número de folhas formadas, não afetando a germinação. Quanto às interações, observamos: entre métodos de superação

de dormência x meio, não afetaram nenhum parâmetro avaliado; método de superação de dormência x avaliação com diferenças significativas para comprimento de raiz, altura da parte aérea e número de folhas, entre meios x avaliações, afetaram todos parâmetros menos a germinação. A interação tripla somente foi significativa ($P < 0,05$) para porcentagem de germinação.

As sementes sem tegumentos tiveram melhores resultados em relação ao comprimento da raiz, parte aérea, número de folhas e porcentagem de germinação, quando comparadas com as sementes escarificadas (Tabela 3). Geralmente, as sementes escarificadas apresentam altas porcentagens de germinação e desenvolvimento, quando comparadas com outros métodos de superação de dormência, comumente realizados em laboratórios de qualidade de sementes. Diferentemente do que foi obtido com a germinação de sucupira-branca, Rodrigues, Aguiar e Sader (1990) observaram a eficiência da escarificação com lixa na porção distal do eixo embrionário em três espécies de *Cassia*; esse teste de germinação foi conduzido em substrato de areia esterilizada.

Porcentagem de 100% de germinação foi obtida por González-Melero, Pérez-Garcia e Martínez-Laborde (1997) com sementes da leguminosa *Coronilla valentina* ssp. *glauca* L., *C. juncea* L., com 92% de germinação, e *C. minima* L., com 98%, quando as sementes foram submetidas à escarificação, em teste de germinação conduzido em placas de Petri. Lemos Filho et al. (1997) observaram que a escarificação promoveu mais de 80% de germinação nas sementes das leguminosas arbóreas *Senna macranthera* (Collad.) Irwin e Barneby (fedegoso), *Senna multijuga* (Rich.) Irwin e Barneby (farinha-seca) e *Stryphnodendron polyphyllum* Mart. (barbatimão-da-mata), em testes conduzidos com papel-filtro em caixas tipo gerbox.

TABELA 3 - Valores médios de comprimento de raiz e da parte aérea, número de folhas e índice de germinação, em função dos métodos de superação da dormência de sementes de sucupira-branca cultivados “in vitro”. UFLA, Lavras - MG.

Métodos de superação de Dormência	Comprimento (cm)		Número de Folhas	Índice de Germinação
	Raiz	Parte aérea		

Remoção do tegumento	1,68a	1,41a	1,37a	1,26a
Escarificação do tegumento	1,22b	1,13b	1,13b	1,07b

Médias com a mesma letra, na colunas, não diferem entre si na linha, pelo Teste F a 1% de probabilidade.

O cultivo "in vitro" de sementes de Sucupira-branca, escarificadas através de lixa, não apresentou boa germinação. O tegumento remanescente muito provavelmente ainda agiu como barreira a germinação. Observou-se grande desuniformidade na germinação, além de apresentar uma forte coloração marrom ao redor da semente nos meios com ágar e manchar o papel-filtro no meio líquido, muito provavelmente pela liberação de fenóis. Esse fenômeno da oxidação também foi relatado por Siqueira e Inoue (1991) com cultivo de tecidos do coqueiro (*Cocos nucifera* L.); segundo eles, o processo de oxidação se deve principalmente à intoxicação dos tecidos por fenóis liberados por tecidos recém-feridos, testou-se o meio líquido, ao contrário de sua localização fixa, próxima aos explantes, no meio sólido.

De maneira geral, não houve diferença na primeira avaliação em relação aos cinco diferentes tipos de meios. No entanto, na segunda avaliação, percebe-se a superioridade do meio líquido em relação aos outros meios. Em seguida, os meios suplementados com carvão ativado, principalmente na concentração a 0,3%, apresentaram-se como os melhores no cultivo de propágulos de Sucupira-branca e, por último, o ágar lavado (Tabela 4).

A presença de carvão ativado, principalmente em altas concentrações no cultivo in vitro de Sucupira-branca, causou um engrossamento na raiz e um maior

crescimento desta. Observou-se também uma coloração verde mais intensa nos folíolos. Segundo Pasqual e Pinto, citados por Pasqual, Ribeiro e Ramos (1990), o carvão ativado é utilizado pelo poder de absorver substâncias inibitórias do meio ou produtos tóxicos liberados pelos explantes, como também pode promover o crescimento de embriões.

O carvão ativado pode interferir com os compostos polifenólicos produzidos pelos explantes, modificando o índice entre polifenóis conjugados e polifenóis livres, influenciando o potencial organogênico do desenvolvimento das gemas e das raízes, Druart et al., citado por Dumas e Monteuis (1995). Conforme Druart e Wulf (1993), o carvão ativado também absorve 5-hydroxymethylfurfural produzido pela autoclavagem da sacarose, impurezas do ágar, etileno produzido pela cultura, como também absorve componentes do meio de cultura, como as vitaminas, citocininas, auxinas e ácido ascórbico.

Os propágulos de Sucupira-branca tiveram pior desempenho em meio de ágar lavado. Nas sementes escarificadas, a forte oxidação localizada ao redor das sementes deve ter dificultado a germinação. Com a lavagem do ágar, teve-se como objetivo reduzir a presença de resíduos tóxicos e reduzir as concentrações de elementos químicos, muitas vezes em excesso nos ágar purificados, conforme Hadrami et al. (1993).

TABELA 4 - Valores médios de comprimento de raiz e da parte aérea, número de folhas e índice de germinação em função dos meios de cultura. UFLA, Lavras - MG.

Meios de Cultura	Comprimento (cm)		Número de folhas	Índice de Germinação
	Raiz	Parte aérea		
MS c/ ágar lavado	1,22 b	1,12 c	1,15 b	1,09 b
MS líquido	1,79 a	1,48 a	1,42 a	1,27 a
MS c/ ágar + car. 0,1%	1,38 b	1,19 bc	1,19 b	1,15 b

MS c/ ágar + car. 0,2%	1,32 b	1,16 bc	1,22 b	1,11 b
MS c/ ágar + car. 0,3%	1,48 b	1,38 ab	1,26 b	1,20 b

Médias com a mesma letra na coluna não diferem pelo teste de Tukey (5%).

CONCLUSÕES

a) as sementes com tegumentos seccionadas e cultivadas “ex vitro” apresentaram 36 de germinação superior à obtida com sementes sem o tegumento;

b) em condições “in vitro”, as sementes sem tegumento tiveram maior rapidez de germinação e desenvolvimento do que as sementes seccionadas;

c) para a condição “in vitro”; as sementes sem tegumento apresentaram-se como melhor método de superação de dormência em relação às sementes escarificadas e seccionadas;

d) o cultivo de sementes sem tegumentos “in vitro” apresentou plântulas com maior homogeneidade;

e) o meio líquido favoreceu uma rapidez de desenvolvimento nas sementes sem tegumentos cultivadas “in vitro”;

AGRADECIMENTO

Os autores agradecem à EMBRAPA, FINEP e CNPq, pelo apoio financeiro.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ÁQUILA, M.E.A.; FETT NETTO, A.G. Influência de processos de escarificação na germinação e crescimento inicial de *Leucaena leucocephala* (Lam.). De Wit. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 10, n.1, p. 73-85, 1988.

ARRILLAGA, I.; MARZO, T.; SEGURA, J. Embryo culture of *Fraxinus ornus* and *Sorbus domestica* removes seed dormancy. **HortScience**, Alexandria, v.27, n. 4, p. 371, Apr. 1992.

ASHUBURNER, G. R.; THOMPSON, W. K.; BURCH, J.M. Effect of anaphthaleneacetic acid and sucrose levels on the development of cultured embryos of coconut. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Dordrecht, v. 35, p. 157-163, 1993.

BARRADAS, M.; M. HANDRO, W. Algumas observações sobre a germinação da semente do barbatimão, *Stryphnodendron barbadetiman* (Vell.) Mart. (*Leguminosae – Mimosoideae*). **Boletim de Botânica**, São Paulo, v. 2, p. 139-150, 1974.

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

BURGOS, L.; LEDBETTER, C.A. Improved efficiency in apricot breeding: Effects of embryo development and nutrient media on *in vitro* germination and seedling establishment. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Dordrecht, v. 35, p. 217-222, 1993.

CANTOS, M.; CUERVA, J.; ZÁRATE, R.; TRONCOSO, A. Embryo rescue and development of *Juniperus oxycedrus* subsp. *oxycedrus* and *macrocarpa*. **Seed Science and Technology**, New Delhi, v. 26, n. 1, p. 193-198, 1998.

DANTHU, P.; ROUSSEL, J.; DIA, M.; SARR, A. Effect of different pretreatments on the germination of *Acacia senegal* seeds. **Seed Science and Technology**, New Delhi, Índia, v. 20, n. 1, p. 111-117, 1992.

DIAS, F. da L. **Estudo da genotoxicidade in vivo e in vitro dos cercaricidas naturais óleo de sucupira e cremantina em células de mamíferos**. Ribeirão Preto: Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto: USP, 1993. 105p. (Tese-Doutorado).

DRUART, Ph; WULF, O. de. Activated charcoal catalyses sucrose hydrolysis during autoclaving. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Dordrecht, v. 32, p. 97-99, 1993.

DUMAS, E.; MONTEUUIS, O. In vitro rooting of micropropagated shoots from juvenile and mature *Pinus pinaster* explants: influence of activated

- charcoal. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Dordrecht, v. 40, p. 231-235, 1995.
- EMERSHAD, R.L.; RAMMING, D.W. Effects of media on embryo enlargement, germination and plant development in early-ripening genotypes of *Prunus* grown in vitro. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Dordrecht, v. 37, p. 55-59, 1994.
- FERREIRA, A. G. Germinação de sementes de *Mimosa bimucronata*. (DC.) OK. (Maricá) – I. Efeito da escarificação e do pH. **Ciência e Cultura**, Santa Maria, v. 28, n. 10, p. 1200-1204, out. 1976.
- FERREIRA, A. G.; JOÃO, K. H. L.; HEUSER, E. D. Efeitos de escarificação sobre a germinação e do pH no crescimento de *Acacia bonariensis* Gill e *Mimosa bimucronata* (D. C.) O. K. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Brasília, v. 4, n. 1, p. 63-65, jul.1992.
- GONZALEZ-MELERO, J. A.; PEREZ-GARCIA, F.; MATINEZ-LABORDE, J. B. Effect of temperature, scarification and gibberellic acid on the seed germination of three shrubby species of *Coronilla* L. (*Leguminosae*). **Seed Science and Technology**, New Delhi, Índia, v. 23, p. 521-532, 1995.
- GOSLING, P.G.; SAMUEL, Y.K.; JONES, S. K. A systematic examination of germination temperature, chipping and water temperature/soak duration pretreatments on the seeds of *Leucaena leucocephala*. **Seed Science and Technology**, New Delhi, v. 23, n. 2, p. 521-532, 1995.
- HADRAMI, I. EL.; HOUSTI, F.; MICHAUS-FERRIÈRE, N.; CARRON, M.P.; DÁUZAC, J. Effects of gelling agents and liquid medium on embryogenic potential, polyamines and enzymatic factors in browning in *Hevea brasiliensis* Calli. **Journal of Plant Physiology**, Stuttgart, v. 141, p. 230-233, 1993.
- HARRY, I.S.; THORPE, T. A. In vitro culture of forest trees. In: VASIL, J. K. ; THORPE, T. A. (eds). **Plant cell and tissue culture**. Dordrecht: Cluwer Academic Publishers, 1994. cap. 21, p. 539-560.
- HERINGER, E. P. Flora micológica do Cerrado e suas implicações no ecossistema dessa Flora. **Revista Cerrado**, Brasília, n. 12, 1971.
- LAZARIDOU, T. B.; ROUPAKIAS, D. G.; ECONOMOU, A.S. Embryo rescue in *Vicia faba* and *Vicia narbonensis*. **Plant Cell, tissue and Organ Culture**, Dordrecht, v. 33, p. 297-301, 1993.
- LEMOES FILHO, J.P. de; GUERRA, S.T.M.; LOVATO, M.B.; SCOTTI, M.R.M.M.L. Germinação de sementes de *Senna macranthera*, *Senna multijuga* e *Stryphnodendron polyphyllum*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 32, n. 4, p. 357-361, abr. 1997.
- MASCARENHAS, A.F.; KENDURKAR, S.V.; GUPTA, P.K.; KHUSPE, S.S.; AGRAWAL, D.C. Teak. In: BONGA, J.M.; DURZAN, D.J. (eds). **Cell and Tissue Culture in Forestry**. Dordrecht: Martinus Nijhoff Publishers. , 1987. v. 3, cap. 23, p. 300-315.
- MELO, J.T. de; RIBEIRO, J.F.; LIMA, V.L.G. de F. Germinação de sementes de algumas espécies arbóreas nativas do cerrado. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 1, n. 2, p. 8-12, 1979.
- MORS, W.B.; PELLEGRINO, J.; SANTOS FILHO, M.F. dos. Ação profilática do óleo dos frutos de Sucupira-branca, *Pterodon pubescens* Benth., contra a infecção pelo *Schistosoma mansoni*. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, v. 38, p. 325-330, dez. 1966. (Suplemento)
- PASQUAL, M.; RIBEIRO, V.G.; RAMOS, J.D. Influência do GA₃ e do carvão ativado sobre o enraizamento in vitro de embriões de laranja 'Natal'. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 25, n. 10, p. 1477-1482, out. 1990.
- RADHAMANI, J.; MALIK, S.K.; CHANDEL, K.P.S. Seedcoat characteristics in relation to the physiology of seed germination in *Citrus* and its allied genus. **Seed Science and Technology**, New Delhi, v. 19, n. 3, p. 611-621, 1991.
- 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.

- REIS, G.G. dos. **Estudos sobre a dormência de sementes de sucupira** (*Pterodon pubescens* Benth). Viçosa: UFV, 1976. 41p. (Tese - Mestrado em Fisiologia Vegetal).
- REIS, G.G. dos; DRUNE, A.; RENA, A.B. Estudos sobre a dormência de sementes de sucupira (*Pterodon pubescens* Benth): tratamento para superação da dormência. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 9, n. 1, p. 49-57, jan/jul. 1985.
- RODRIGUES, E.H. de A.; AGUIAR, J.B. de; SADER, R. Quebra de dormência de sementes de três espécies do gênero *Cassia*. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, ano 12, n. 2, p. 17-27, 1990.
- 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 e Barneby (*Leguminosae*). **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 17, n. 2, p. 205-209, 1995.
- SIQUEIRA, E.R. de; INOUE, M.T. Controle de oxidação na cultura de tecidos do coqueiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 26, n. 7, p. 949-953, jul. 1991.
- THIAGARAJAN, M.; MURALI, P.M. Optimum conditions for embryo culture of *Azadirachta indica* (A. Juss). **Indian Forester**, Tamil Nadu, v. 120, n. 6, p. 500-503, June. 1994.
- TODD-BOCKARIE, A.H.; DURYEY, M.L.; WEST, S.H.; WHITE, T.L. Pretreatment to overcome seed coat dormency in *Cassia sieberiana*. **Seed Science and Technology**, New Delhi, v. 21, n. 2, p. 383-398, 1993.