

## EFEITO DO AIB NA MICROPROPAGAÇÃO DAS ESPÉCIES DO CERRADO DA REGIÃO DE PONTA PORÃ, MS - *Aspilia foliacea*, *Sacoila lanceolata*, *Pelteia polymorpha* e *Mandevilla longiflora*.

Aryane Duca Lima<sup>1</sup>, Priscila Gonzales Figueiredo<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso do Sul (IFMS) – Ponta Porã-MS

aryaneduca@icloud.com, priscila.figueiredo@ifms.com.br

### Resumo

O Cerrado, abrigando 30% da biodiversidade do Brasil, enfrenta altas taxas de desmatamento e poucas áreas protegidas, colocando em risco suas espécies nativas. Esta pesquisa buscou micropropagar quatro espécies ameaçadas do Cerrado (*Aspilia foliacea*, *Sacoila lanceolata*, *Pelteia polymorpha* e *Mandevilla longiflora*) utilizando ácido indol butírico (AIB) para contribuir com a conservação e restauração. Quatro experimentos foram conduzidos, um para cada espécie, com diferentes tratamentos de AIB. A sobrevivência dos explantes foi avaliada até o oitavo dia após a inoculação (DAI). Os resultados indicaram que os protocolos de desinfecção não foram eficazes, resultando em contaminação rápida ou sobrevivência insuficiente. É importante notar que a sobrevivência de *Sacoila lanceolata* pode requerer acompanhamento prolongado para validar o protocolo. Este estudo sublinha a necessidade urgente de desenvolver protocolos mais eficazes para a micropropagação de espécies do Cerrado, essenciais para a conservação e recuperação deste ecossistema ameaçado e de grande importância para a biodiversidade brasileira.

**Palavras-chave:** Cultura de tecido, regulador de crescimento, meio de cultura MS.

### Introdução

A segunda maior formação vegetal brasileira é o bioma Cerrado, que ocupa aproximadamente 2 milhões de km<sup>2</sup> (cerca de 23% da área do Brasil). Seus tipos de vegetação incluem áreas florestais, savanas e campestre. O Cerrado foi incluído entre os 34 hotspots do planeta devido ao seu alto grau de endemismo sendo rico biologicamente em uma área ameaçada. Devido à expansão da agricultura no centro do Brasil, nas últimas décadas, o Cerrado sofreu uma rápida redução de sua cobertura vegetal original interferindo na redução da biodiversidade e na invasão por espécies exóticas. A invasão biológica particularmente por gramíneas africanas e mudanças no regime do fogo devido à queimadas não controladas são as maiores ameaças atuais para o bioma Cerrado. Estimativas indicam que cerca da metade da cobertura original do Cerrado foi transformada em pastagens cultivadas, culturas anuais e outros tipos de uso da terra. Atualmente a maior parte do Cerrado apresenta vegetação nativa altamente fragmentada e em muitas áreas onde houve uma mudança de uso da terra para o desenvolvimento das

pastagens agropecuárias (BARBOSA et al., 2016; CARVALHO et al., 2009).

O Cerrado tem sido alvo de altas taxas de desmatamento o que vem comprometendo a conservação das populações naturais; e embora seja responsável por 30% da biodiversidade do país, uma quantidade muito pequena de sua superfície é protegida (FRANÇOSO et al., 2015). Assim, a propagação vegetativa pode auxiliar neste processo, apresentando-se como uma ferramenta a ser utilizada na domesticação e reprodução das plantas (APARICIO et al., 2009).

O cultivo in vitro é uma técnica utilizada para a propagação de plantas em condições assépticas e controladas, este processo ocorre de forma assexuada e baseia-se na totipotencialidade das células em gerar um novo indivíduo que possuem as mesmas características da planta ancestral (TORRES et al. 2000; PALMA et al. 2011; XIAO et al. 2011).

Partindo desse pressuposto, o objetivo desta pesquisa foi avaliar o efeito do ácido indol butírico (AIB) em um protocolo para micropropagação in vitro de plantas nativas do cerrado - *Aspilia foliacea*, *Sacoila lanceolata*, *Pelteia polymorpha* e *Mandevilla longiflora*, espécies ameaçadas de extinção na região de Ponta Porã, MS como forma de subsidiar a preservação e restauração da flora do Cerrado.

## 2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

### 2.1 Cerrado

Cada espécie nativa dos diferentes biomas tem uma função específica e essencial dentro da biodiversidade e equilíbrio ambiental. A crescente atividade antrópica tem promovido profundas modificações nos processos regenerativos dos biomas brasileiros, aumentando assim, a pressão genética sobre diversas espécies pouco exploradas ou até mesmo desconhecidas (DA SILVA, 2021).

A biodiversidade do Cerrado é elevada, porém geralmente menosprezada. O número de plantas vasculares é superior àquele encontrado na maioria das regiões do mundo: plantas herbáceas, arbustivas, arbóreas e cipós somam mais de 7.000 espécies (MENDONÇA et al., 1998). Um dos principais desafios na conservação do Cerrado é demonstrar a importância que a biodiversidade desempenha no

funcionamento dos ecossistemas. O conhecimento sobre a biodiversidade e as implicações das alterações no uso da terra sobre o funcionamento dos ecossistemas são fundamentais para o debate “desenvolvimento versus conservação” (OLIVEIRA e MARQUIS, 2002).

De acordo com Ratter et al., (2003), apesar do crescente número de estudos, o Mato Grosso do Sul é um dos Estados com menor volume de dados disponíveis sobre a flora do Cerrado. Uma região rica em biodiversidade necessita despertar atenção especial na conservação de seus recursos naturais, é urgente a criação de planos de manejo para a manutenção do que ainda resta do cerrado brasileiro (GUEDES et al., 2010).

Diversos esforços e ferramentas tem sido feitos e utilizados para a proteção da diversidade dos biomas brasileiros. Dentre as quais cita-se a biotecnologia – micropropagação – cultura de tecidos, a sua aplicação depende da criação de protocolos de cultivo in vitro para cada espécie.

## 2.2 Micropropagação de espécies do cerrado

Intentando a disseminação das espécies nativas do Cerrado preconiza-se propagação vegetativa, a qual se destaca o método de cultivo in vitro, principalmente para multiplicação de espécies de difícil propagação, limpeza clonal, conservação e intercâmbio de germoplasma, além de programas de melhoramento genético (TORRES et al. 1998; LIMA & MORAES 2006; CARVALHO et al. 2007; PALMA et al. 2011).

Segundo FLORES (2006) a cultura in vitro é um conjunto de técnicas que se baseia na totipotência das células, ou seja, a capacidade que cada célula tem de regenerar-se em uma planta inteira. Essa técnica apresenta como vantagens a obtenção de plântulas livre de doenças, em um menor período de tempo e espaço e plantas uniformes.

O sucesso dessa prática depende da qualidade da planta matriz, bem como da esterilização desse material. Teoricamente, qualquer parte da planta pode se regenerar em uma nova planta, entretanto estudos apontam que regiões meristemáticas apresentam um maior potencial de totipotência (TORRES et al. 1998).

Após a assepsia do explante, e em condições assépticas em câmara de fluxo laminar, o material vegetal é inoculado em meio de cultura. Existem diversas formulações, no entanto, o meio MS (MURASHIGE e SKOOG, 1962) e suas diluições é o mais utilizado. Os componentes do meio de cultura são: água, macronutrientes, micronutrientes, vitaminas, sacarose, mioinositol e, quando se deseja um meio semi sólido, adiciona-se ágar ou algum outro agente gelificante, e o pH deve estar entre 5,0 a 6,5, para o maior número de espécies, podendo ser adicionado outros minerais ou hormônios (ARANDA-PERES et al., 2009).

As respostas das plantas às técnicas de propagação vegetativa são variáveis em função da espécie, variedade e/ou cultivar, época de coleta, tipo de explante utilizado e condições de cultivo. Portanto, cabe ao técnico descobrir qual a época mais adequada para coleta dos explantes e as condições que devem ser oferecidas a estes, para que expressem seu potencial para a micropropagação (WENDLING et al., 2006).

A embriogênese somática in vitro é uma técnica importante tanto para a conservação de recursos genéticos vegetais quanto para propagação clonal de plantas. Além disso, é um procedimento de grande aplicabilidade para estudos básicos de fisiologia, genética e bioquímica do desenvolvimento embrionário. Este sistema também tem sido utilizado para a regeneração de plântulas a partir de células geneticamente modificadas (GUERRA et al., 2016).

Partindo do pressuposto de que o sucesso do cultivo in vitro de espécies vegetais depende de fatores associados à indução e ao controle da morfogênese quanto à regeneração de brotos e raízes no processo de organogênese, torna-se imprescindível o controle da composição do meio de cultura. Nesse escopo, diversas classes de reguladores vegetais têm sido empregadas nas técnicas de cultura de tecidos, com ênfase na suplementação do meio com auxinas e citocininas (MORAIS et al., 2014).

Após o período de incubação do material, é realizada o transplante, esta etapa envolve a transferência da planta in vitro para a casa de vegetação, onde é submetida a um período de aclimação até o momento em que apresenta características desejáveis para o plantio definitivo no campo (TORRES et al., 1998). Com isso a escolha da metodologia de micropropagação é de extrema importância para que se tenha a produção em larga escala das espécies nativas do bioma Cerrado.

## 2.3 Ácido indolbutírico

Conforme Alves (2018) o ácido indolbutírico também chamado de pó enraizador AIB é um químico utilizado na formação de raízes de plantas, sua principal função é a indução de enraizamento, ou seja, estimular o crescimento de raízes bem como aumentar a quantidade das mesmas (ALVES, 2018).

Com o uso do AIB, há o alongamento de raízes e aumento na porcentagem deste mesmo enraizamento, há o desenvolvimento e aumento do volume de raízes fazendo com que o tempo de crescimento seja mais curto, com isso o crescimento das mudas, ficam prontas mais rapidamente (SANTOS, 2006)..

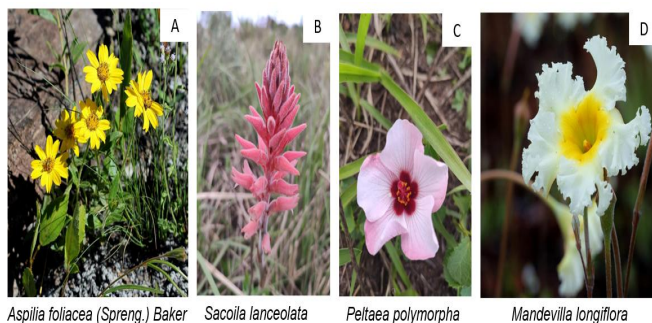
Segundo Grattapaglia & Machado (1998) outro fator importante é o fortalecimento, deixando a planta mais resistente devido à sua baixa fitotoxicidade aos explantes,

proporcionando resultados positivos a rizogênese, o AIB é uma das auxinas mais utilizadas atualmente, tendo um papel importante no pleno desenvolvimento da planta.

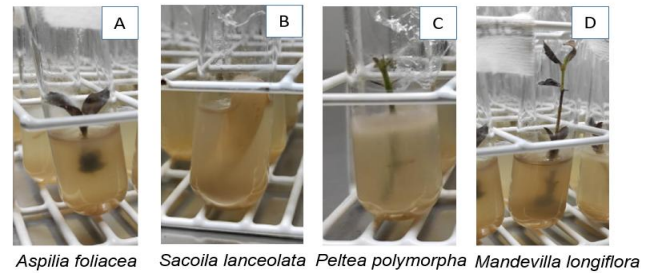
### Metodologia

Este experimento foi conduzido no laboratório de entomologia do Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia de Mato Grosso do Sul, Campus Ponta Porã. Foram estudadas quatro espécies de plantas herbáceas nativas do cerrado: *Pelteia polymorpha*, *Sacoila lanceolata*, *Mandevilla longiflora* e *Aspilia foliacea*. As plantas foram coletadas na primavera de 2022 durante o florescimento. Quatro experimentos foram realizados simultaneamente, cada um com quatro tratamentos e quatro repetições. Os tratamentos foram: T1- Testemunha + MS com AIB, T2- Espécie + MS com AIB, T3- Testemunha + MS sem AIB e T4- Espécie + MS com AIB. Considerou-se como testemunha de sementes de melão conforme Batista & Mendes (2000), a fim de verificar se uma possível ocorrência de contaminação estaria associada à espécie ou a ineficiência do protocolo. O meio de cultura MS foi preparado com sacarose e ágar, ajustando o pH para 5,8. O regulador de crescimento AIB foi adicionado a uma parte do meio de cultura. Os explantes foram escolhidos aleatoriamente para cada espécie. Após a coleta, os explantes passaram por um processo de descontaminação que envolveu pré-limpeza e desinfecção.

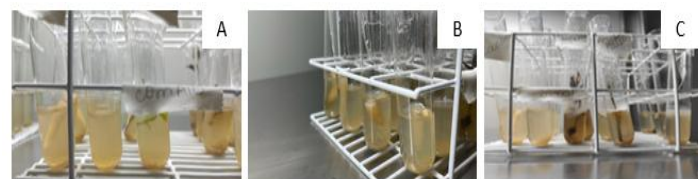
Os explantes foram avaliados quanto à taxa de sobrevivência do primeiro ao oitavo dia após a inoculação. Os dados foram analisados estatisticamente usando o teste de Shapiro-Wilk para verificar a normalidade e, em seguida, a análise de variância e o teste de médias Scott-Knott foram aplicados quando necessário.



**Figura 1.** Flores das espécies, *Mandevilla longiflora*, *Pelteia polymorpha*, *Sacoila lanceolata* e *Aspilia foliacea*, estudadas na pesquisa e coletadas no início da primavera em região de vegetação cerrado.



**Figura 2.** Explantes utilizados para a inoculação ao meio de cultura.



**Figura 3.** Explantes das espécies, *Mandevilla longiflora*, *Pelteia polymorpha*, *Sacoila lanceolata* e *Aspilia foliacea*, inoculados com AIB.

### Resultados e Discussão

Os resultados do experimento indicam que as taxas de mortalidade nos explantes foram causadas principalmente por infestações microbianas, como fungos e bactérias. Essas infecções competiram com os explantes por nutrientes e liberaram metabólitos tóxicos que levaram à morte das plantas. Para *Aspilia* spp., não houve diferença significativa entre os tratamentos até o 3º DAI. A partir do 4º DAI, ocorreu uma alta mortalidade nos explantes, com maior número de mortes no tratamento sem AIB. No entanto, o efeito do AIB não foi significativo após o 5º DAI, e todos os explantes de *Aspilia* não sobreviveram a partir dessa data. Isso sugere que o AIB teve um efeito temporário na sobrevivência.

Para *Sacoila lanceolata*, não houve diferença significativa entre os tratamentos, indicando que o protocolo de desinfecção foi eficiente para essa espécie, com baixa taxa de mortalidade. No caso de *Pelteia*, após o 3º DAI, ocorreram diferenças significativas devido às mortalidades nos tratamentos com e sem AIB. A partir do 4º DAI, ambos os tratamentos apresentaram altas taxas de mortalidade, tornando o protocolo inviável para esta espécie. As testemunhas (com e sem AIB) não mostraram mortalidade até o 8º DAI. Para *Mandevilla*, a partir do 4º DAI, os tratamentos com e sem AIB apresentaram altas taxas de mortalidade, tornando o protocolo de desinfecção ineficaz.

para essa espécie. As testemunhas não mostraram variações significativas entre os DAI. Em resumo, os resultados indicam que a eficácia do protocolo de desinfecção variou entre as espécies, com algumas espécies sendo mais sensíveis às infecções microbianas do que outras. O uso de AIB teve efeitos temporários em algumas espécies, mas não conseguiu garantir a sobrevivência a longo prazo dos explantes em todas as situações.

### Considerações Finais

Os resultados deste experimento indicam que a micropropagação *in vitro* de plantas nativas do Cerrado, como *Aspilia foliacea*, *Sacoila lanceolata*, *Pelteia polymorpha* e *Mandevilla longiflora*, enfrentou desafios significativos devido à contaminação por patógenos a partir do 4º dia após a inoculação (DAI), resultando em altas taxas de mortalidade nos explantes. O uso do ácido indolbútrico (AIB) teve um efeito positivo até certo ponto, aumentando a sobrevivência dos explantes em algumas espécies, mas não foi suficiente para evitar a contaminação em estágios posteriores.

Esses resultados ressaltam a importância de protocolos rigorosos de desinfecção e a necessidade de adaptação desses protocolos para diferentes espécies. Além disso, destacam os desafios enfrentados na micropropagação de espécies do Cerrado, o que pode dificultar os esforços de conservação e restauração dessa biodiversidade única.

Embora o estudo tenha apresentado limitações em relação à sobrevivência dos explantes, ele fornece informações valiosas sobre os desafios da micropropagação *in vitro* de espécies do Cerrado, destacando a importância de continuar a pesquisa e aprimorar os protocolos para apoiar a conservação e a restauração desse bioma ameaçado.

### Agradecimentos

Agradeço a Deus primeiramente a Deus por ter permitido chegar até aqui, a minha família que sempre me apoiou em estar fazendo esta graduação, a orientadora Professora Priscila Gonzales Figueiredo, pelo tempo dedicado a este trabalho.

### Referências

ALVES, R. U. **Germinação e micropropagação** de *Myrcia macrocalyx* Faria & Soares-Silva (Myrtaceae), espécie rara do Cerrado com potencial ornamental. 2018.

APARICIO, A.; PASTORINO, M.; MARTINEZZ-MEIER, A.; GALLO, L. **Vegetative propagation of patagonian cypress, a vulnerable species from the subantarctic**

**forest of South America**. *Bosque*, v. 30, n. 1, p. 18-26, 2009.

BARBOSA, E. G.; PIVELLO, V. R.; RISSI, M. N.; FIDELIS, A. 2016. **A importância da consideração de espécies invasoras no manejo integrado do fogo**. *Biodiversidade Brasileira*, 6(2): 27–40+. Disponível em: <<http://www.bdta.ufra.edu.br/jspui/bitstream/123456789/1921/1/Caracteriza%20a%20a%20da%20comercializa%20a%20consumo.pdf>> Acesso em :19 de junho de 2022.

BARRETO, F. B. **As atividades práticas na 8ª série do Ensino Fundamental: luz numa abordagem regionalizada**, 2011. In: ANDRADE, M. L. F; MASSABNI, V. G. O desenvolvimento de atividades práticas na escola: um desafio para os professores de ciências. *Ciência e Educação*, v.17, 2011.

BARTZIK, F.; ZANDER, L.D. **A importância das aulas práticas de ciências no ensino fundamental**. *Revista @rquivo Brasileiro de Educação*, Belo Horizonte, v.4, 2016.

BATISTA, A. C.; MENDES, R. A. **Micropropagação de vanilla fragrans** (Orchidaceae). 2000.

BOSA, N. et al. **Enraizamento e aclimatização de plantas micropropagadas de gipsofila**. *Horticultura Brasileira*, v. 21, p. 207-210, 2003.

CARVALHO, M. P.; SANTANA, D. G.; RANAL, N. A. 2005. **Emergência de plântulas de *Anacardium humile* A. St.-Hil. (Anacardiaceae) avaliada por meio de amostras pequenas**. *Revista Brasileira de Botânica* 28(3): 627-633. Disponível em: <[scielo.br/j/rbb/a/QTfh4h4gBpXw7k6ZYsFPLpR/?lang=pt](https://scielo.br/j/rbb/a/QTfh4h4gBpXw7k6ZYsFPLpR/?lang=pt)> Acesso em :19 de junho de 2022.

CAVALCANTI, R. e C. JOLY. 2002. **The conservation of the Cerrados**. In: P.S. OLIVEIRA e R. J. MARQUIS (eds.). *The Cerrado of Brazil. Ecology and natural history of a neotropical savanna*. pp. 351-367. Columbia University Press, New York.

DA SILVA, L. F. et al. **Impactos das ações antrópicas aos Biomas do Brasil**: Artigo de revisão. *Meio Ambiente (Brasil)*, v. 4, n. 1, 2021.

ENCINA, C. L.; PADILLA, I. G. **A propósito de semillas**. (1996). Disponível em: <http://www.ciencias.uma.es/publicaciones/encuentros/ENC UENTROS33/semilla33.html> em 06/09/09. Acesso em: 19 de junho de 2022.

FRANÇOSO, R. D.; BRANDÃO, R.; NOGUEIRA, C. C.; SALMONA, Y. B.; MACHADO, R. B.; COLLI, G. R.

**Habitat loss and the effectiveness of protected áreas in the Cerrado Biodiversity Hotspot.** *Natureza e conservação*, v. 13, n. 1, p. 35-40, 2015.

GRATTAPAGLIA, D; Machado M. A (1998) **Micropropagação.** In: Torres AC, Caldas LS & Buso JA (eds.) *Cultura de tecidos e transformação genética de plantas.* Embrapa-SPI/Embrapa CNPH, Brasília. Pp. 183- 260.

GUEDES, W. et al. **Ocorrência de queimadas no parque estadual do lajeado.** *União Brasileira de Educação e Cultura*, 2010.

GUERRA, M.; NODARI, R. FRANGA, H.; VIEIRA, L.; FRITSCHÉ, Yohan. **Biotechnology I** Apostila V2016.1./- Santa Catarina, 2016.

LEITE, N. S. et al. **Determinação da condição ótima para obtenção da bromelaína de plantas de abacaxizeiro produzidas por micropropagação.** *Arquivos Brasileiros de Biologia e Tecnologia*, v. 55, p. 647-652, 2012.

MALDONADO, F. D.; SESTINI, M. F.; VALLES, G. F.; SANTOS, C. P. F. **Detecção de mudanças com técnica de Rotação Radiométrica, RCEN, inovações para uma abordagem prática usando SPRING.** In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE SENSORIAMENTO REMOTO, 14., 2009, Natal. *Proceedings...* São José dos Campos:INPE, 2009. p. 1433-1440.

MENDONÇA, R., J. FELFILI, B. WALTER, J.C. SILVA JR., A. REZENDE, T. FILGUEIRAS e P. NOGUEIRA. 1998. **Flora vascular do Cerrado.** In: S. SANO e S. ALMEIDA (eds.). *Cerrado. Ambiente e flora.* pp. 288-556. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária Embrapa - Cerrados, Planaltina, Brasil.

MORAIS, T. P.; ASMAR, S. A.; LUZ, J. M. Q. **Reguladores de crescimento vegetal no cultivo in vitro de Mentha x Piperita L.** *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, v. 16, p. 350-355, 2014.

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

NICOLOSO, F. T. et al. **Micropropagação do ginseng brasileiro [Pfaffia glomerata (Spreng.) Pedersen].** *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, v. 3, n. 2, p. 11-18, 2001.

DE OLIVEIRA, A. M. E. et al. **Métodos de propagação e fatores que interferem na germinação das principais**

**gramíneas nativas de Cerrado.** *Caderno de Ciências Agrárias*, v. 12, p. 1-8, 2020.

PEREIRA, J. E. S; MATTOS, M. L. T. & Fortes G. R. D. L (2003) **Identificação e controle com antibióticos de bactérias endofíticas contaminantes em explantes de batata micropropagados.** *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 38: 827-834.

POLESI, N. P. E. **Contaminação versus manifestação endofítica: implicações no cultivo in vitro de plantas.** *SciElo Brasil*, 1. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/rod/a/KRFnLTP6V8br3fRRfQKGVKf/?format=pdf&lang=pt>> Acesso em: 19 de junho de 2022.

QUISEN, R. C.; ÂNGELO, P. D.S. **Manual de procedimentos do Laboratório de Cultura de Tecidos da Embrapa Amazônia Ocidental.** Embrapa Amazônia Ocidental-Documents (INFOTECA-E), 2008.

RABONI, P. C. A. **Atividades práticas de ciências naturais na formação de professores para as séries iniciais**, 2011. In: Andrade, M. L. F; Massabni, V. G. O desenvolvimento de atividades práticas na escola: um desafio para os professores de ciências. *Ciência e Educação*. v.17, 2011.

SANTOS, B. R. et al. **Micropropagação de pequizeiro (Caryocar brasiliense Camb.).** *Revista Brasileira de Fruticultura*, v. 28, p. 293-296, 2006.

SOUZA, J. L. C. **Brazilian Journal of Development Braz. J. of Develop.**, Curitiba, v. 6, n. 3, p.15531-15544 mar.. 2020. ISSN 2525-8761 15531 Estaquia em frutíferas do Cerrado.

VASCONCELLOS, C. D. S. **Planejamento: plano de ensino: aprendizagem e projeto educativo.** 4.ed. São Paulo: Libertad, 1995.

WENDLING, I.; DUTRA, L. F.; GROSSI, F. **Produção de mudas de espécies lenhosas.** Embrapa Florestas-Documents (INFOTECA-E), 2006.