

# PRODUÇÃO DE MUDAS DE *Myracrodruon urundeuva* Allemão VIA MICROPROPAGAÇÃO: UMA ALTERNATIVA PARA CONSERVAÇÃO DA ESPÉCIE

Lindomar Maria de Souza<sup>1</sup>  
Marta Ribeiro Barbosa<sup>2</sup>  
Luiz Palhares Neto<sup>3</sup>  
Cláudia Ulisses<sup>4</sup>

## RESUMO

Alternativas para o uso sustentável dos recursos vegetais são importantes para a conservação e nesse sentido, o cultivo *in vitro* de plantas é uma ferramenta imprescindível para ações de conservação, possibilitando a produção de mudas para reflorestamento e recuperação de áreas degradadas. Diásporos de aroeira foram inoculados em meio MS e WPM com 100% e 50% da força iônica durante 45 dias. Na etapa de multiplicação, foi avaliada a influência das citocininas: 6-benzilaminopurina, thidiazuron e cinetina nas concentrações de 4,5 e 9  $\mu\text{mol.L}^{-1}$ . Em outro experimento de multiplicação foi avaliada a influência do tipo de explante (apical, mediano e cotiledonar) e a vedação (total e parcial). Ao final dos experimentos avaliou-se o crescimento e o desenvolvimento das brotações. Os dados foram submetidos à ANOVA e comparados pelo teste de Tukey ( $P \leq 0,05$ ). Maior percentual de germinação, número de folhas, gemas, altura da parte aérea e comprimento radicular foram observados nas plântulas cultivadas no meio WPM com 50% da força iônica. As concentrações das citocininas testadas não favoreceram a produção de mudas de aroeira *in vitro*, proporcionando apenas calogênese e oxidação dos explantes. Os explantes responderam de maneira diferente, sendo os explantes das regiões apical e mediana os mais promissores para a produção de mudas. A vedação parcial favoreceu o aumento do número de folhas e gemas. Diante dos resultados conclui-se que o meio  $\frac{1}{2}$  WPM é indicado para o estabelecimento de diásporos de *Myracrodruon urundeuva* e os segmentos apicais e medianos são mais responsivos na multiplicação *in vitro*.

**Palavras-chave:** Caatinga, cultivo *in vitro*, aroeira, citocininas, vedação.

## INTRODUÇÃO

As mudanças climáticas têm gerado impactos negativos sobre a estabilidade das florestas no Brasil, e neste cenário, a Caatinga, floresta tropical sazonalmente seca, corre sérios riscos de perda da biodiversidade. O alto grau de degradação na região semiárida brasileira sinaliza que a Caatinga está entre as florestas mais vulneráveis, devido ao cenário de

<sup>1</sup>Doutora em Botânica da Universidade Federal Rural de Pernambuco - UFRPE, [lindomarsouza.ufrpe@gmail.com](mailto:lindomarsouza.ufrpe@gmail.com);

<sup>2</sup>Doutora em Melhoramento Genético de Plantas da Universidade Federal Rural de Pernambuco - UFRPE, [martaribeiro21@hotmail.com](mailto:martaribeiro21@hotmail.com);

<sup>3</sup>Doutorando no Curso de Botânica da Universidade Federal Rural de Pernambuco - UFRPE, [netopalhares1@gmail.com](mailto:netopalhares1@gmail.com);

<sup>4</sup>Professora Doutora em Botânica da Universidade Federal Rural de Pernambuco - UFRPE, [claulisses@gmail.com](mailto:claulisses@gmail.com)

aumento das temperaturas globais, o que coloca a região nordeste do Brasil em situação de alerta (Tavares et al. 2019; Nobre, 2011). Muitas espécies de plantas da Caatinga são amplamente conhecidas e utilizadas na medicina popular, bem como na produção comercial de produtos fitoterápicos, as quais são utilizadas pelas populações de maneira exploratória e não renovável (Gomes et al. 2018; Silva et al. 2012).

As comunidades da zona rural, ao contrário das pessoas das grandes cidades, dependem diretamente dos recursos naturais oferecidos pelo meio ambiente, com as mais diversificadas finalidades, por exemplo, na alimentação, construção de casas e cercas, tratamento de doenças, entre outras. E este é um dos aspectos mais positivos da riqueza natural local (Albuquerque et al. 2012). Entretanto, as atividades extrativistas não conservacionistas têm resultado em perda de espécies únicas, eliminação de processos ecológicos e formação de extensas áreas de desertificação (Alvarez e Kiill, 2014; Leal et al. 2003).

Alternativas para o uso sustentável dos recursos vegetais da Caatinga são de grande importância para conservação desta floresta e permite garantir qualidade de vida para as populações que utilizam esses recursos. O uso dos recursos naturais de maneira consciente tem como aliados o acesso à informação e a orientação do cultivo com manejo sustentável.

Entre as espécies utilizadas por comunidades na região semiárida brasileira, destaca-se a *Myracrodruon urundeuva* Allemão. Esta espécie pertence à família Anacardiaceae sendo popularmente conhecida como aroeira, aroeira-do-sertão, aroeira-do-campo, aroeira-da-serra, urundeúva, urindeúva e arindeúva (Machado e Oliveira, 2014).

*M. urundeuva* é uma espécie arbórea que apresenta grande valor econômico e se destaca devido aos múltiplos usos pelas comunidades, justificado pelas propriedades químicas da casca com elevado teor de taninos, sendo muito utilizada na medicina popular. O extrato de suas cascas é usado no tratamento de ferimentos, gastrites entre outras doenças, devido as suas propriedades antiinflamatória e cicatrizante, sendo a ação antimicrobiana a propriedade mais bem estudada até o momento. Além disso, o tronco é muito empregado na indústria da construção civil, devido à madeira apresentar grande resistência mecânica aos decompositores, sendo praticamente imputrescível (Souza et al. 2018; Machado e Oliveira, 2014; Lucena et al. 2011).

Devido aos múltiplos usos, a aroeira vem sofrendo um intenso processo de exploração, o que contribui com a destruição de suas populações naturais (Andrade et al. 2013; Nunes et al. 2008). Além da exploração desordenada, outros fatores podem interferir na manutenção de populações naturais da aroeira, por exemplo, a redução na frequência de visitantes florais,

justificado pela competição por polinizadores em comum com outras espécies, bem como a diminuição populacional de polinizadores. A *M. urundeuva* é uma espécie dióica e a redução no número de indivíduos em uma população consiste em riscos para a conservação da espécie (Kiil et al., 2010). Apesar de ser uma espécie que tolera bem a restrição hídrica, estudo recente indica que em cenários climáticos futuros, a falta de chuva afetará a germinação das sementes e o desenvolvimento inicial da aroeira, independentemente do aumento de temperatura (Oliveira et al. 2019).

Portanto, ações que venham promover a propagação e conservação desta espécie, são importantes para a evitar o risco de extinção e assegurar que esse recurso natural esteja disponível para o uso sustentável pelas comunidades locais.

Nesse sentido, o cultivo *in vitro* de plantas é uma ferramenta imprescindível para ações de conservação, pois além da produção de mudas para reflorestamento e recuperação de áreas degradadas (Souza et al. 2019), possibilita a conservação *in vitro* de médio a longo prazo, além do estabelecimento de bancos de germoplasma *in vitro* (Agrawal et al. 2019; Souza et al. 2017). O cultivo *in vitro* de plantas engloba várias técnicas que possibilitam manipular células, tecidos, órgãos e como resultado obtém-se a formação de plantas inteiras a partir de um único segmento, o explante (Watt, 2012). A micropropagação é uma das técnicas do cultivo *in vitro* de plantas que possibilita a rápida produção de mudas em um ambiente asséptico, sob condições nutricionais e ambientais controladas (Cruz et al. 2009; Jalaja et al. 2008; Watt, 2012).

No cultivo *in vitro*, os meios nutritivos fornecem ao tecido vegetal as substâncias essenciais para o crescimento e desenvolvimento dos explantes. A regeneração e a multiplicação de brotos na micropropagação é afetada pelo tipo e concentração de reguladores de crescimento, especialmente as citocininas, devido à sua importância no processo de divisão celular e organogênese (Aremu et al. 2012). As citocininas são indispensáveis para a quebra da dominância apical e estão relacionadas com a diferenciação celular, sobretudo no processo de formação de gemas caulinares, das quais surgirão novos brotos (Machado et al. 2011). Portanto, a adequação das condições de cultivo e dos indutores da morfogênese é fundamental para garantir as taxas de multiplicação sem comprometer a qualidade fisiológica das plantas micropropagadas o que irá assegurar a aclimatização. Mesmo estimulando a multiplicação, o excesso ou a escolha inadequada da citocinina pode provocar a oxidação e por consequência a morte dos tecidos, bem como o surgimento de variações morfofisiológicas durante a fase de multiplicação, podendo comprometer o desenvolvimento normal das plantas (Fachinello et al. 1995). Dessa forma, objetivou-se estabelecer um protocolo de micropropagação para *M.*

*urundeuva* Allemão, uma espécie de importância ecológica e socioeconômica para comunidades do semiárido brasileiro.

## **METODOLOGIA**

### *Local do estudo e material vegetal*

Os experimentos e as avaliações foram realizados no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais (LCVT) da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE) em Recife, Pernambuco.

### *Experimento I - Introdução e estabelecimento do cultivo “in vitro”*

No experimento de estabelecimento foram utilizados diásporos de *Myracrodruon urundeuva* Allemão coletados na Estação Experimental José Nilson de Melo do Instituto Agrônômico de Pernambuco (IPA), localizado no município de Caruaru (PE) sob as coordenadas geográficas 8° 14' e 35° 55'. Os diásporos foram desinfestados em água corrente por 10 minutos, em seguida foram imersos em álcool (70%) por um minuto, seguido de hipoclorito de sódio (2,5%) por 15 minutos. Posteriormente, as unidades propagativas foram enxaguadas três vezes em água deionizada autoclavada e inoculadas em tubos de ensaio contendo 10ml de meio de cultura.

Foram testados dois tipos de meio de cultura: MS (Murashige & Skoog, 1962) e WPM (Wood Plant Medium, Lloyd & McCown, 1981), com 100% e 50% da força iônica. Os meios de cultura com 100% da força iônica foram suplementados com 30 g.L<sup>-1</sup> de sacarose, 0,1 g.L<sup>-1</sup> de inositol e vitaminas, enquanto que os meios com 50% da força iônica foram suplementados com metade dos valores supracitados de sacarose, inositol e vitaminas. O pH dos meios de cultura foram ajustados para 5,8 e gelificados com 6 g.L<sup>-1</sup> de ágar antes da autoclavagem.

Os tubos de ensaio contendo os diásporos foram mantidos em sala de crescimento a 25 ± 2 °C, sob luz branca fria (40 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>) e fotoperíodo de 16 horas, durante um período de 45 dias. Após esse período foi avaliado o percentual de germinação, o número médio de folhas/planta, número médio de gemas/planta, altura da parte aérea e o comprimento radicular.



### *Experimento II - Multiplicação “in vitro”*

Com base nos resultados do experimento anterior, foi realizado o experimento de multiplicação, avaliando o efeito de diferentes tipos e concentrações das seguintes citocininas: 6-benzilaminopurina (BAP), thidiazuron (TDZ) e cinetina (KIN) nas concentrações de 4,5 e 9,0  $\mu\text{mol.L}^{-1}$ , tendo como tratamento controle o meio sem adição de citocininas.

Foram utilizados como explantes, segmentos nodais de plântulas de *M. urundeuva* germinadas *in vitro* em meio WPM como 50% da força iônica. Os segmentos foram inoculados em tubos de ensaio contendo 10 ml de meio WPM completo com diferentes tipos e concentrações de citocininas para indução da multiplicação *in vitro*. Os tubos de ensaio contendo os explantes permaneceram em sala de crescimento nas mesmas condições descritas no experimento I, e ao término dos 45 dias foram realizadas as avaliações de percentual de explantes responsivos (regeneração), altura dos brotos, número médio de folhas/ broto, percentual de formação de calo e de oxidação dos explantes.

### *Experimento III - Efeito do tipo de explante e da vedação na micropropagação*

Referenciando o melhor resultado obtido no experimento de multiplicação com diferentes tipos e concentrações de citocininas, foi estabelecido outro experimento onde foi avaliada a influência do tipo de vedação e do tipo de explante nas respostas morfogênicas de *M. urundeuva* no cultivo *in vitro*.

Diásporos de *M. urundeuva* foram inoculados em meio  $\frac{1}{2}$ WPM para a germinação e obtenção de plântulas. Após 45 dias, as plântulas foram seccionadas e foram obtidos três tipos de explante: segmento nodal contendo a gema apical (A), segmento mediano, abaixo do segmento apical região mediana (M) e segmento cotiledonar onde se inserem os cotilédones (C). Os segmentos foram inoculados em tubos de ensaio contendo 10 ml de meio WPM completo semissólido, suplementado com 30  $\text{g.L}^{-1}$  de sacarose e 0,1  $\text{g.L}^{-1}$  de inositol. Os tubos de ensaio foram vedados com tampa de polipropileno, vedação total (VT) ou com vedação parcial (VP), que consiste em uma tampa de papel alumínio com uma abertura central (6 mm) e nessa abertura continha papel de filtro quantitativo (faixa branca C40, porosidade entre 4 e 7  $\mu\text{m}$ ) para promover as trocas gasosas. Os tubos foram mantidos em sala de crescimento a  $25 \pm 2$  °C, sob luz branca fria ( $40 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) e fotoperíodo de 16 horas durante um período de 45 dias.

### Análise estatística

Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo Teste de Tukey ( $P \leq 0,05$ ) através do software SISVAR 5.6 (Ferreira et al. 2014). Os dados de porcentagem de explantes responsivos, formação de calo e de oxidação foram analisados pelo Teste Qui-quadrado ( $X^2$ ) ( $P \leq 0,01$ ).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Introdução e estabelecimento do cultivo *in vitro*

A escolha do meio de nutritivo é um dos principais fatores que influenciam no processo de estabelecimento de plantas *in vitro*, visto que ele fornece as substâncias essenciais para o crescimento, sendo responsável, em grande parte, pelo padrão de desenvolvimento *in vitro*. Essas respostas morfogênicas dependem diretamente da interação dos tecidos com a composição do meio de cultura (Miranda et al. 2016; Grattapaglia e Machado 1988). No presente estudo foi observado que o meio WPM com a  $\frac{1}{2}$  da força iônica foi o meio que influenciou positivamente na germinação *in vitro* de *M. urundeuva* (Figura 1).

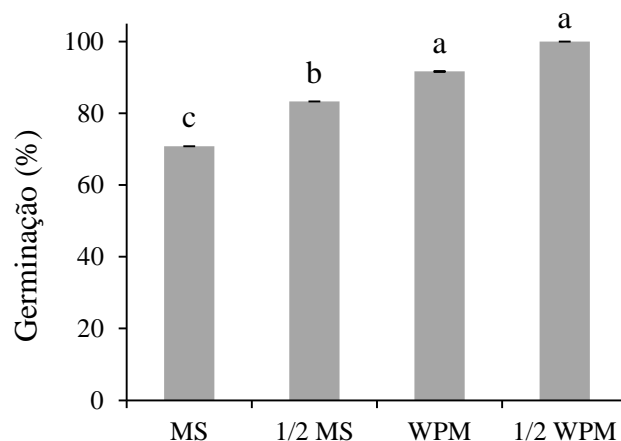


Figura 1. Percentual de germinação de *Myracrodruon urundeuva* Allemão aos 45 dias de cultivo *in vitro* sob diferentes tipos e concentrações de meios de cultivo (Dados transformados por arco seno  $\sqrt{x/100^{0,5}}$ ). Letras iguais não diferem entre si de acordo com o teste de Tukey ( $P \leq 0,05$ ).

O meio WPM apresenta uma redução de 45% da força iônica quando comparado ao meio MS (Golle et al. 2012). Segundo Araruna et al. (2017), a redução da força iônica dos sais do meio WPM resultam em melhor taxa de crescimento e desenvolvimento dos explantes. Isso pode ser justificado porque a concentração dos sais no meio de cultivo não exerce apenas um efeito nutricional, mas também um efeito osmorregulatório, podendo influenciar no crescimento e desenvolvimento das plantas, provavelmente devido a maior disponibilidade hídrica em consequência de menor concentração de sais no meio de cultivo, justificando assim a maior taxa de germinação no meio WPM seja com a força iônica completa, ou reduzida à metade (Figura 1).

No presente estudo, as plântulas germinadas em meio  $\frac{1}{2}$  WPM apresentaram o melhor comprimento da parte aérea e do sistema radicular (Figuras 2 C, D; 3 C, D).

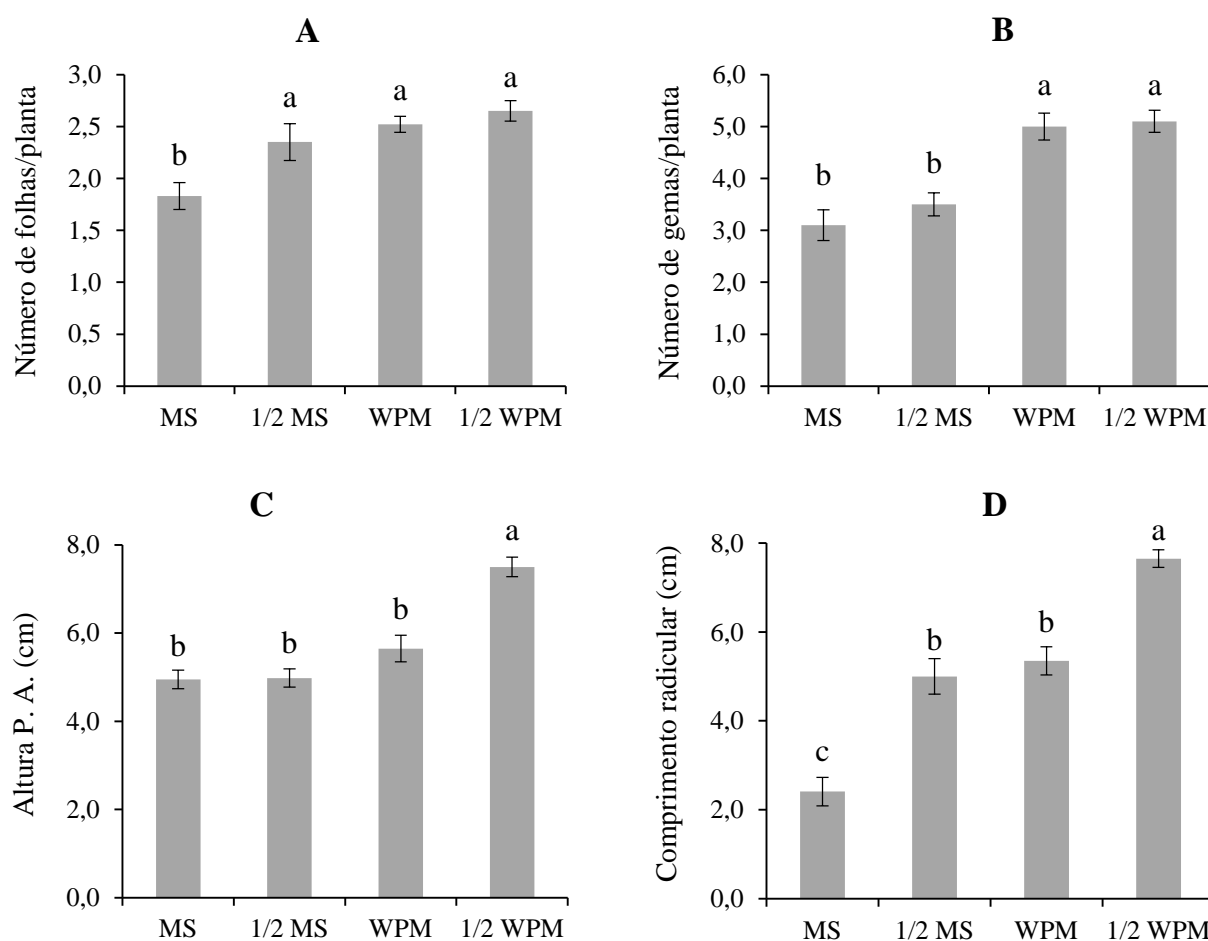


Figura 2. Parâmetros de crescimento e desenvolvimento em *Myracrodruon urundeuva* Allemão aos 45 dias de cultivo *in vitro* sob diferentes tipos e concentrações de meios de cultivo: A) Número de folhas; B) Número de gemas; C) Altura da parte aérea e D) Comprimento radicular.

Comprimento radicular. Letras iguais não diferem entre si de acordo com o teste de Tukey ( $P \leq 0,05$ ).

O meio  $\frac{1}{2}$  WPM promoveu o melhor desenvolvimento da parte aérea das plântulas propiciando o maior número médio de folhas e gemas por plântula (Figuras 2 A, B; 3 D). Resultados semelhantes foram obtidos por Araruna et al. (2017) na germinação *in vitro* de *Dipteryx alata*, onde os melhores resultados obtidos para a parte aérea das plântulas e para o sistema radicular foram obtidos em meio WPM.

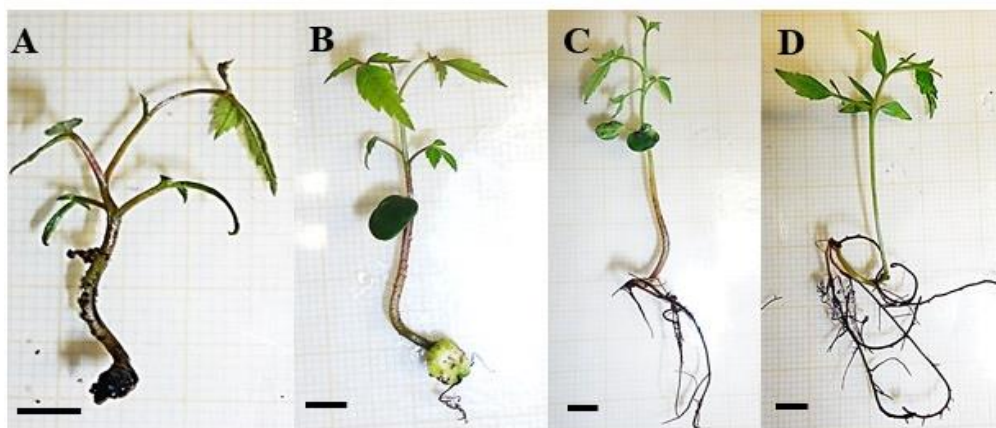


Figura 3. Plântulas de *Myracrodruon urundeuva* Allemão aos 45 dias de cultivo *in vitro* em diferentes tipos e concentrações de meio de cultura: A) MS completo; B) MS com metade da força iônica; C) WPM completo e D) WPM com metade da força iônica (Barra = 0,5 cm).

Variações na composição do meio de cultivo, tais como a fonte de nitrogênio, o balanço entre os íons nitrato/amônio e o aumento na concentração da piridoxina, são aspectos importantes, que podem favorecer respostas morfogênicas em plantas cultivadas *in vitro* (Grattapaglia e Machado 1988). Na formulação do meio WPM a piridoxina está em maior concentração quando comparado ao meio MS (Quisen et al. 2008). Chen e Xiong (2005) constataram que a piridoxina é necessária para o desenvolvimento radicular pós-embriônico e na tolerância das plantas a estresses osmóticos e oxidativos, o que pode justificar a resposta rizogênica das plântulas do presente trabalho.



*Efeito de diferentes tipos e concentrações de citocininas na multiplicação “in vitro”*

Na etapa de multiplicação, os maiores percentuais de explantes responsivos foram vistos nos meios de cultura sem adição de citocininas e na menor concentração de BAP (Figura 4 A).

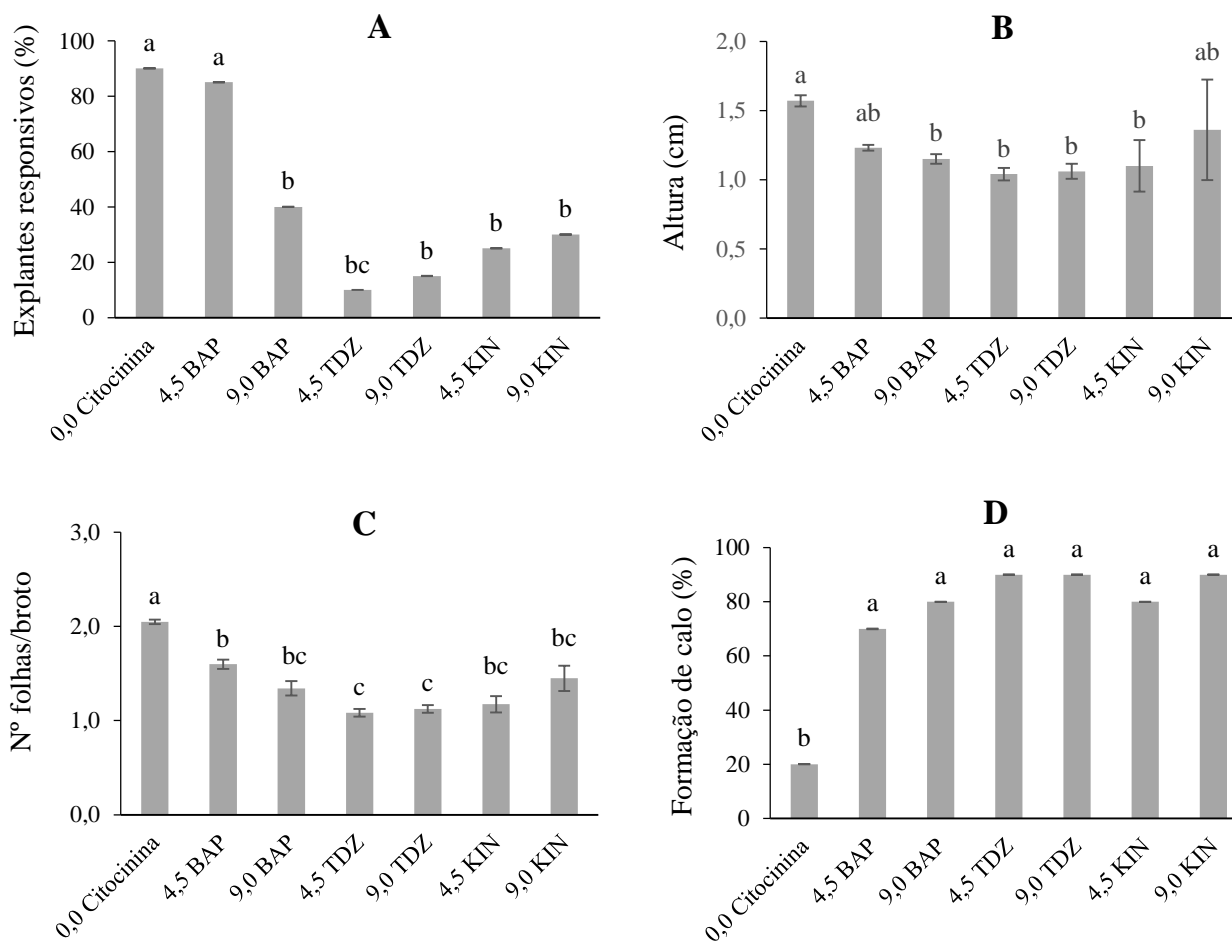


Figura 4. Parâmetros de crescimento e desenvolvimento em *Myracrodruon urundeuva* Allemão aos 45 dias de cultivo *in vitro* sob diferentes tipos e concentrações de citocininas ( $\mu\text{mol.L}^{-1}$ ): A) Percentual de explantes responsivos; B) Altura de brotação; C) Número de folhas por broto e D) Percentual de formação de calo.

As taxas de crescimento e de multiplicação, bem como a qualidade dos brotos, dependem da espécie e da composição do meio de cultura, em especial, dos reguladores de crescimento, os quais têm influência sobre a morfogênese dos tecidos que crescem a partir do

explante inicial (Akin-Idowu et al. 2009). Nesse sentido, as citocininas desempenham importante papel na organogênese, como a formação de brotos, uma vez que estão relacionados com o processo de divisão celular (Chen et al. 2018; Aremu et al. 2016). Assim, o tipo e a concentração de citocininas na etapa de multiplicação, constitui um passo importante na micropropagação de plantas (Csabai et al. 2011).

Todavia, no presente estudo, a presença de citocininas no meio de cultivo não induziu o crescimento de brotações (Figura 5). Esses resultados podem estar atrelados às concentrações endógenas de fitorreguladores dessa espécie, em especial a relação citocininas/auxina.

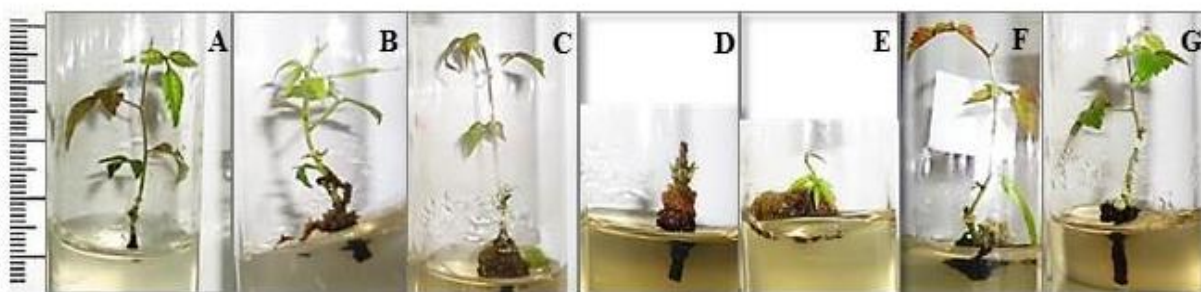


Figura 5. Explantes de *Myracrodruon urundeuva* Allemão aos 45 dias de cultivo *in vitro* sob diferentes tipos e concentrações de citocininas: A) 0  $\mu\text{mol.L}^{-1}$  de citocinina; B) 4,5  $\mu\text{mol.L}^{-1}$  de BAP; C) 9  $\mu\text{mol.L}^{-1}$  de BAP; D) 4,5  $\mu\text{mol.L}^{-1}$  de TDZ; E) 9  $\mu\text{mol.L}^{-1}$  de TDZ; F) 4,5  $\mu\text{mol.L}^{-1}$  de KIN; E) 9  $\mu\text{mol.L}^{-1}$  de KIN.

Atrelado a essas respostas, esses explantes apresentaram um aumento expressivo na oxidação e na formação de calo na base dos explantes (Figuras 4 D; 5 B-G; 6), especialmente aqueles cultivados com TDZ (Figuras 4 D; 5 F, G).

Chen et al. (2018) reportam que o TDZ é uma das citocininas mais eficiente na indução da organogênese indireta, com formação de calos do tipo nodular, que são diferentes dos calos friáveis. Os autores reforçam que em altas concentrações, o TDZ pode reduzir as taxas de multiplicação e causar fitotoxicidade nos tecidos cultivados. As características relatadas por esses autores corroboram com os resultados encontrados na presente pesquisa com o uso do TDZ em explantes de *M. urundeuva*, onde a porcentagem de explantes

responsivos, a altura e o número de folhas foram menores, especialmente quando comparados ao controle (Figuras 4 A, B e C).

Quando foi avaliada a altura das brotações, os explantes cultivados nos tratamentos: ausência de citocininas, 4,5 de BAP e 9 de KIN, apresentaram brotações com maiores comprimentos em relação aos demais tratamentos. (Figura 4 B). Diante desse resultado seja preferível, principalmente a nível econômico, não fazer o uso das citocininas BAP, TDZ e KIN nas concentrações utilizadas nessa etapa da micropropagação de *M. urundeuva*, visto que na ausência dessas citocininas, observou-se maior crescimento das brotações.

Algumas pesquisas mostram que a necessidade de incorporação de fitorreguladores no protocolo de micropropagação vai depender da resposta morfogênica dos tecidos a esse estímulo externo. Reis et al. (2008) avaliando os efeitos do BAP na micropropagação de *Melissa officinalis* L. verificaram que as melhores respostas morfogênicas foram nos explantes cultivados sem adição dessa citocinina. Saeiahagh et al. (2019) avaliando o efeito do BAP e da auxina IBA no desenvolvimento de *Actinidia chinensis* verificaram melhor resposta morfogênica nas brotações cultivadas no meio sem adição de fitorreguladores. Por isso, a adequação das condições de cultivo e dos indutores da morfogênese é fundamental para garantir a produção de mudas sem comprometer a qualidade morfofisiológica das plantas micropropagadas. Volo et al. (2017) observaram que brotações de *Ficus carica* L cresceram mais na presença de  $0,3\mu\text{molL}^{-1}$  de KIN quando comparados com a mesma concentração de BAP.

Os explantes cultivados no meio com citocininas apresentaram elevados percentuais de oxidação (Figura 6). As oxidações fenólicas constituem uma das principais causas de insucesso na propagação vegetativa *in vitro* em espécies lenhosas (Aragão et al. 2011). O excesso de BAP no cultivo de plantas *in vitro* pode acarretar em acúmulo de espécies reativas de oxigênio (ROS) desencadeando o estresse oxidativo (Souza et al. 2019). Em condições de estresse, compostos fenólicos presentes nos tecidos das plantas podem ser oxidados, originando a formação materiais que podem ser citotóxicos (Debergh & Read, 1991). Os mesmos autores recomendam omitir essa citocinina ao iniciar o cultivo *in vitro* e ressaltam os resultados encontrados por Nitsch & Strain (1969) os quais verificaram que as citocininas aumentavam a oxidação dos explantes.

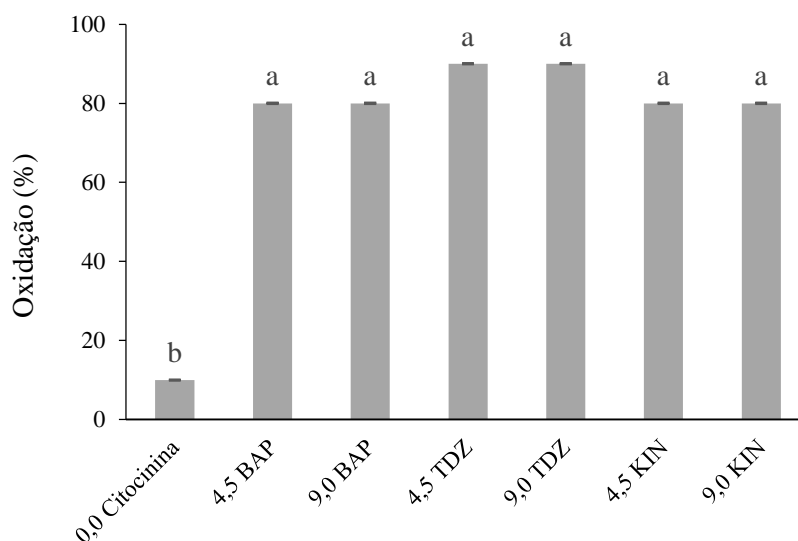


Figura 6. Percentual de oxidação em explantes de *Myracrodruon urundeuva* Allemão aos 45 dias de cultivo *in vitro* sob diferentes tipos e concentrações de citocininas ( $\mu\text{mol.L}^{-1}$ ).

#### *Efeito de diferentes tipos de explantes e do tipo de vedação na multiplicação in vitro*

No geral, os explantes localizados na região mediana (M) apresentaram os melhores resultados para o número de raízes, altura dos brotos e principalmente número médio de folhas, (Figuras 7 B, E; 8 A, E, G).

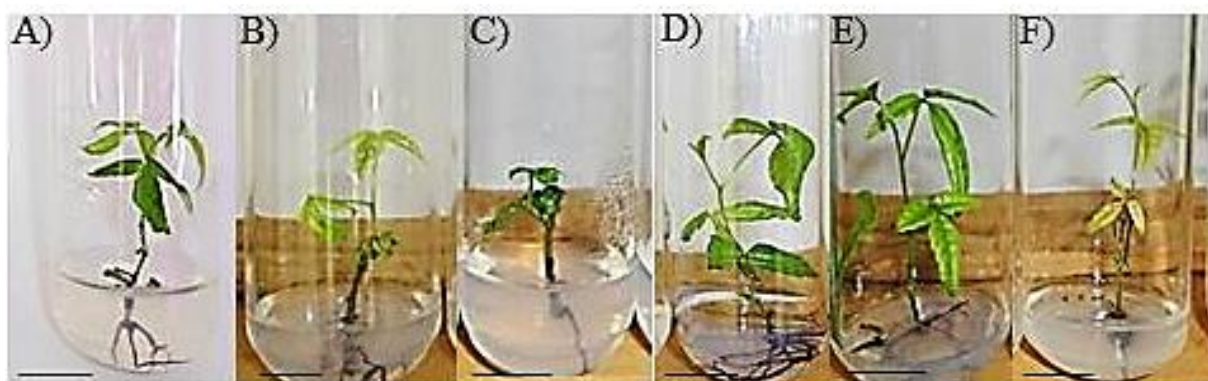


Figura 7. Crescimento e desenvolvimento de brotações de *Myracrodruon urundeuva* Allemão aos 45 dias de cultivo *in vitro*. A) Vedação total + explante da região apical; B) Vedação total + explante da região mediana; C) Vedação total + explante cotiledonar; D) Vedação parcial +



explante da região apical; E) Vedação parcial + explante da região mediana; F) Vedação parcial + explante cotiledonar. (Barra = 1,0cm).

O explante da região apical (A) não diferiu estatisticamente da região mediana quanto ao número médio de raízes e altura dos brotos (Figuras 8 E e G).

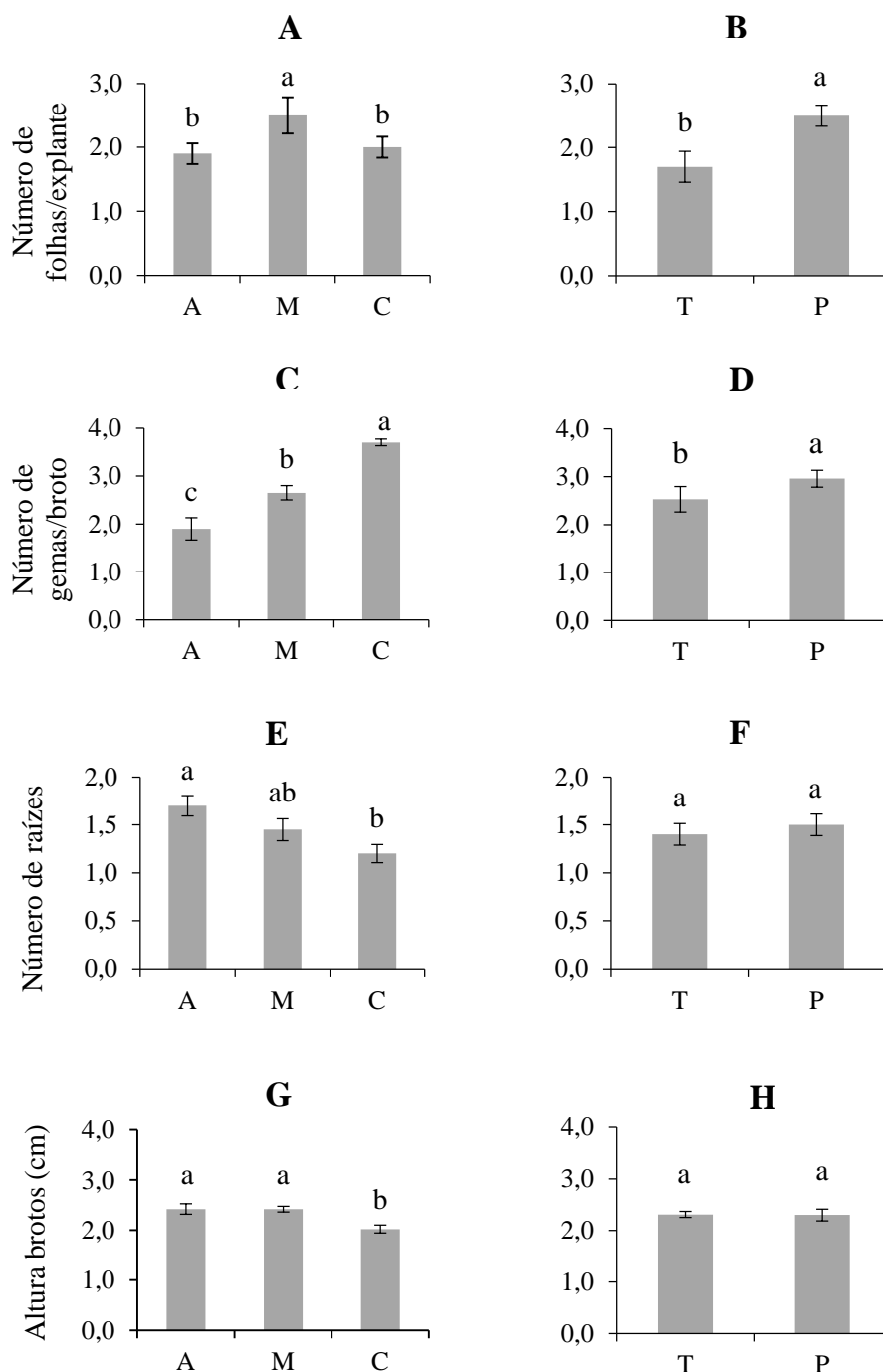


Figura 8. Parâmetros de crescimento e desenvolvimento de brotações de *Myracrodruon urundeuva* Allemão aos 45 dias de cultivo *in vitro* utilizando diferentes explantes (A=

segmento apical; M = segmento mediano; C = segmento cotiledonar) e tipos de vedação (T= total; P= parcial). (A e B) = Número médio de folhas; (C e D) = Número médio de raízes; (E e F) = altura média de brotações *in vitro*. Letras iguais não diferem entre si de acordo com o teste de Tukey ( $P \leq 0,05$ ).

Dentre os fatores que podem determinar o sucesso e a qualidade das mudas micropropagadas, está a escolha do explante (Palhares Neto et al. 2018; Golle et al. 2012). Os resultados obtidos no presente estudo se assemelham a outros estudos (Abdi et al. 2013; Collantes et al. 2004; Vieitez et al. 1993). Ali e Mirza (2006) avaliando a influência de diferentes tipos de explantes na regeneração de *Citrus jambhiri* Lush, observaram que a regeneração direta da parte aérea foi observada apenas em explantes do caule e que poucas brotações foram obtidas a partir de explante cotiledonar. Mukhtar et al. (2012) não observaram nenhuma resposta morfogênica de explantes cotiledonares de *Clitoria ternatea in vitro*. A escolha do explante também depende do sistema a ser utilizado para a micropropagação. O sistema mais utilizado para a micropropagação de plantas é a proliferação de gemas axilares, utilizando como explantes iniciais o meristema ou o ápice caulinar, além das gemas laterais (Junghans e Santos Serejo, 2006).

Em relação aos sistemas de vedação, a vedação parcial (VP) influenciou positivamente o número médio de folhas e de gemas nos brotos de aroeira (Figuras 8 B e D; 7 D, E, F).

O número médio de raízes e a altura dos brotos (Figuras 8 F e H) não apresentaram influência significativa dos tipos de vedação testados. O ambiente *in vitro* é muito diferente do ambiente natural, devido à redução nas trocas gasosas e da alta umidade relativa dentro dos recipientes de cultivo. Além disso, o sistema fechado fornece baixas concentrações de CO<sub>2</sub> (Wiendi, 2018) necessário para a fotossíntese. O uso de filtros nos sistemas de vedação durante a micropropagação de plantas possibilita aumentar as trocas gasosas entre o ambiente de cultivo e o ambiente externo, aumentando a concentração de CO<sub>2</sub> e as taxas fotossintéticas, favorecendo o crescimento e o desenvolvimento das plantas (Lazzarini et al. 2019; Wu et al. 2018).

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Dentre os meios avaliados, o meio ½ WPM favoreceu a germinação *in vitro* de diásporos de *Myracrodruon urundeuva* Allemão.

Na micropropagação de *M. urundeuva* o uso de citocininas não se mostrou eficiente na regeneração, no crescimento e desenvolvimento das brotações.

O uso de vedação com filtros porosos promove o crescimento da parte aérea das plantas de *M. urundeuva in vitro*. Os explantes das regiões apical e região mediana promovem melhor crescimento e desenvolvimento no processo de micropropagação de *M. urundeuva*.

Diante do exposto, faz-se importante o desenvolvimento de pesquisas voltadas à produção de mudas e conservação de *M. urundeuva*, uma espécie com alto valor de uso.

## REFERÊNCIAS

AGRAWAL, A.; SINGH S., MALHOTRA E.V., MEENA D.P.S., TYAGI R.K. *In Vitro* Conservation and Cryopreservation of Clonally Propagated Horticultural Species. In: Rajasekharan P., Rao V. (eds) Conservation and Utilization of Horticultural Genetic Resources. Springer, Singapore. [https://doi.org/10.1007/978-981-13-3669-0\\_18](https://doi.org/10.1007/978-981-13-3669-0_18). 2019

ALBUQUERQUE, U. P.; ARAÚJO, E. L.; EL-DEIR, A. C. A.; LIMA, A. L. A.; SOUTO, A.; BEZERRA, B. M.; FERRAZ, E. M. N.; FREIRE, E. M. X.; SAMPAIO, E. V. S. B.; LAS-CASAS, F. M. G.; MOURA, G. J. B.; PEREIRA, G. A.; MELO, J. G.; RAMOS, M. A.; RODAL, M. J. N.; SCHIEL, N.; LYRA-NEVES, R. M.; ALVES, R. R. N.; AZEVEDO-JÚNIOR, S. M.; TELINO JÚNIOR, W. R.; SEVERI, W. Caatinga Revisited: Ecology and Conservation of an Important Seasonal Dry Forest. **The Scientific World Journal**, doi: 10.1100/2012/205182, p. 1-18. 2012.

ALVAREZ, I. A.; KIIL, L. H. P. Arborização, Floricultura e Paisagismo com Plantas da Caatinga. **Abrates**, v. 24, n. 3, p. 63-67. 2014.

ANDRADE, A. P.; BRITO, C. C.; SILVA JÚNIOR, J.; COCOZZA, F. D. M.; SILVA, M. A. V. Estabelecimento inicial de plântulas de *Myracrodruon urundeuva* Allemão em diferentes substrato. **Revista Árvore**, v. 37, n. 4, p. 737-745, 2013.

ARAGÃO, A. K. O.; ALOUFA, M. A. I.; COSTA, I. A. O efeito do BAP (6-benzilaminopurina) sobre a indução de brotos em explantes de Pau-Brasil. **Cerne**, v. 17, n. 3, p. 339-345, 2011.

AREMU, A. O., PLAČKOVÁ, L., PĚNČÍK, A., NOVÁK, O., DOLEŽAL, K., & VAN STADEN, J. (2016). Auxin-cytokinin interaction and variations in their metabolic products in the regulation of organogenesis in two *Eucomis* species. **New Biotechnology**, v. 33, n. 6, p. 883–890. doi:10.1016/j.nbt.2016.09.001

AREMU, A. O.; BAIRU, M. W.; DOLEŽAL, K.; FINNIE, J. F.; STADEN, J. V. Topolins: A panacea to plant tissue culture challenges? **Plant Cell Tiss Organ Cult**. v.108, p.1–16, 2012.

CHEN, J., WEI, X. Thidiazuron in micropropagation of aroid plants. In: Ahmad, N., Faisal, M. (Eds.), Thidiazuron: From Urea Derivative to Plant Growth Regulator. **Springer**, Singapore, p. 95–113, 2018.

CRUZ, M. A. L.; SILVA, A. D. C.; VEIGA, C. F. M.; SILVEIRA, V. Biofábricas para produção de mudas por micropropagação: estratégia para o aumento da produtividade de cana-de-açúcar no rio de janeiro. **Revista Científica Internacional**, ano 2, n. 05, 2009.

DEBERGH, P.C. AND READ, P.E. Micropropagation. In: DEBERGH, P.C. AND ZIMMERMAN, R.H., Eds., Micropropagation. **Technology and Application, Kluwer Academic Publishers**, Dordrecht, p. 1-14, 1991.

FACHINELLO, J. C.; HOFFMANN, A.; NACHTIGAL, J. C.; KERSTEN, E.; FORTES, G. R. L. Propagação de plantas frutíferas de clima temperado. **Pelotas: Editora e Gráfica Universitária da UFPel**, p. 178, 1995.

HUMA FATIMA<sup>1</sup> , ANJUM PERVEEN<sup>2</sup> AND MUHAMMAD QAISER. Micropropagation to rescue endangered plant moringa *Concanensis nimmo* (moringaceae). **Pakistan Journal of Botany**, v. 48, n. 1, p. 291-294, 2016.

GOMES, D. L.; SILVA, A. P. L.; ARAUJO, K. D.; LIRA, E. S.; SANTOS, E. M. C.; COSTA, J. G. Exploração da Caatinga em assentamentos rurais do semiárido alagoano. **Revista Ra'eGa**, DOI: 10.5380/raega, v.45, p. 142 -152, 2018.

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-CNPq**, v. 1, p. 183-260, 1998.

JALAJA, N.C.; NEELAMATHI, D.; SREENIVASAN, T.V. Micropropagation for quality seed production in sugarcane in Asia and the Pacific. – **FAO -Food and Agricultural Organization of United States of America**. Bangkok. 46p, 2008.

KIILL, L. H. P.; MARTINS, C. T. V. D.; SILVA, P. R. Biologia reprodutiva de duas espécies de Anacardiaceae da caatinga ameaçadas de extinção. In: ALBUQUERQUE, U. P.; MOURA, A. N.; ARAÚJO, E. L. Biodiversidade, potencial econômico e processos ecofisiológicos em ecossistemas nordestinos. Bauru, **Canal 6**, v. 2, 538p. 2010.

LEAL, I.R.; TABARELLI, M.; SILVA, J.M.C. Ecologia e conservação da caatinga: uma introdução ao desafio. In: LEAL, I.R.; TABARELLI, M.; SILVA, J. M. C. Ecologia e conservação da Caatinga. **Ed. Universitária da UFPE**, 822p. 2003.

LLOYD, G. & MCCOWN, B. Woody Plant Medium: A mineral nutrient formulation for microculture of woody plant species. **HortScience**, v. 16, n. 453, 1981.

LUCENA, R. F. P; FARIAS, D. C.; CARVALHO, T. K. N.; LUCENA, C. M.; VASCONCELOS NETO, C. F. A.; ALBUQUERQUE, U. P. Uso e conhecimento da aroeira (*Myracrodruon urundeuva*) por comunidades tradicionais no Semiárido brasileiro. **Sitientibus série Ciências Biológicas**, v.11, n. 2, p. 255-264, 2011

MACHADO e OLIVEIRA, Medicamentos Fitoterápicos na odontologia: evidências e perspectivas sobre o uso da aroeira-do-sertão (*Myracrodruon urundeuva* Allemão). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.16, n.2, p. 283 – 289, 2014.

MACHADO, M. P.; SILVA, A. L. L.; BIASI, L. A. Effect of plant growth regulators on *in vitro* regeneration of *lavandula dentata* L. Shoot tips. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**. v. 2, n. 3, p. 28-31, 2011.

NITSCH, J. P; STRAIN, G. C. Effet de diverses cytokinines sur le brunissement d'explants de canne il sucre, **C R Acad Sci Paris**, v. 268, p. 806-809, 1969.

NOBRE, P. Mudanças climáticas e desertificação: os desafios para o Estado Brasileiro. In: LIMA, R. C. C.; CAVALCANTE, A. M. B.; MARIN, A. M. P. Desertificação e mudanças climáticas no semiárido brasileiro. **Instituto Nacional do Semiárido (INSA)**, Campina Grande - PB, p. 25-35, 2011.



NUNES, Y. R. F.; FAGUNDES, M.; ALMEIDA, H. S.; VELOSO, M. D. M. Aspectos ecológicos da aroeira (*Myracrodruon urundeuva* Allemão - Anacardiaceae): fenologia e germinação de sementes. **Revista Árvore**, v. 32, n. 2, p. 233-243, 2008.

OLIVEIRA, G. M.; SILVA, F. F. S.; ARAUJO, M. N.; COSTA, D. C. C.; GOMES, S. E. V.; MATIAS, J. R.; ANGELOTTI, F.; CRUZ, C. R. P.; SEAL, C. E.; DANTAS, B. F. Environmental stress, future climate, and germination of *Myracrodruon urundeuva* seeds. **Journal of Seed Science**, v.41, n.1, p.032-043, 2019.

SAEIAHAGH, H., MOUSAVI, M., WIEDOW, C., BASSETT, H. B., & PATHIRANA, R. Effect of cytokinins and sucrose concentration on the efficiency of micropropagation of “Zes006” *Actinidia chinensis* var. *chinensis*, a red-fleshed kiwifruit cultivar. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)**. doi:10.1007/s11240-019-01597-4. 2019.

SILVA, M. I. G.; MELO, C. T. V.; VASCONCELOS, L. F.; CARVALHO, A. M. R.; SOUSA, F. C. F. Bioactivity and potential therapeutic benefits of some medicinal plants from the Caatinga (semi-arid) vegetation of Northeast Brazil: a review of the literature. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 22, n. 1, p. 193-207, 2012.

SOUZA, A. P.; COSTA, F. C. P.; ALENCAR, R. F.; LIMA, S. F. B. Exploração e utilização do potencial madeireiro da Caatinga no município de Aurora –Estado do Ceará. **Pesquisa e Ensino em Ciências Exatas e da Natureza**, v. 2, n.2, p. 158–168. 2018.

SOUZA, L. M.; HOULLOU, L. M. Micropropagação de espécies arbóreas: Alternativa biotecnológica na recuperação de ambientes degradados. In: Giovanni Seabra; Mical de Melo Marcelino; Anderson Pereira Potuguez; Antônio de Oliveira Junior; Claudia Neu; Giovanni de Farias Seabra; Hélio Carlos Miranda de Oliveira; Leonor Franco de Araújo; Maria Izabel de Carvalho Pereira. (Org.). TERRA Mudanças Climáticas e Biodiversidade. **Editora Ituiutaba: Barvalento**, ISBN: 978-85-68066-56-0, v. 1, p. 837-847, 2019.

SOUZA, L. M.; SILVA, M. M. A. ; CAMARA, T. R. ; ULISSES, C. Cultivo *in vitro* de plantas: Alternativa para a conservação de espécies ameaçadas de extinção. In: Giovanni Seabra. (Org.). Educação ambiental: a sustentabilidade dos ambientes rurais e urbanos. **Editora Ituiutaba: Barvalento**, eISSN 2074-8647, RNPS: 2154. v. 1, p. 11-1255, 2017.

SOUZA, L. M.; BARBOSA, M. R.; ZÁRATE-SALAZAR, J. R.; LOZANO-ISLA, F.; CAMARA, T. R. Use of *meta*-Topolin, an unconventional cytokinin in the *in vitro* multiplication of *Opuntia stricta* Haw. **Biotechnología Vegetal**, v. 19, n. 2, p. 85 - 96, 2019.

WATT, M. P. The status of temporary immersion system (TIS) technology for plant micropropagation. **African Journal of Biotechnology**, v. 11, n76, p. 14025-14035, 2012.

TAVARES, V. C.; ARRUDA, I. R. P.; SILVA, D. G. Desertificação, mudanças climáticas e secas no semiárido brasileiro: uma revisão bibliográfica. **Geosul**, v. 34, n. 70, p. 385-405, 2019.

VOLO, P., PREECE, J. E., & CARUSO, T. The effect of explant cut and cytokinin type on micropropagation of fig (*Ficus carica* L.) “Brown Turkey.” **Acta Horticulturae**, (1173), 227-230. doi:10.17660/actahortic.2017.1173.3. 2017.