

Germinação *in vitro* de sementes de nim utilizando diferentes concentrações de GA₃.

Rodrigues, Marcelo¹, Renato Paiva²; Rezende, Rodrigo Kelson Silva³; Silva, Diogo Pedrosa Corrêa da⁴; Figueiredo, Milene Alves de⁵.

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

INTRODUÇÃO

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

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

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

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

O presente trabalho tem como objetivo estudar o efeito de diferentes concentrações de GA₃ no processo e taxa de germinação de sementes de nim, desse modo, estabelecendo posteriormente condições controladas adequadas para possível propagação *in vitro* da espécie.

MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Cultura de Tecidos de Plantas, no Setor de Fisiologia Vegetal, do Departamento de Biologia, da Universidade Federal de Lavras (UFLA). As sementes utilizadas nesse trabalho foram coletadas na cidade de São

José do Rio Preto, estado de São Paulo, as mesmas foram coletadas de cinco árvores diferentes e posteriormente transportadas para a cidade de Lavras-MG. Os frutos estavam ainda verdes, porém prontos para o amadurecimento, cada fruto contém apenas uma semente, no qual foram submetidas aos métodos de assepsia, logo depois, para o cultivo *in vitro*. Os procedimentos de assepsia foram: desinfestação das sementes em álcool 70% durante 60 segundos e em hipoclorito de sódio (NaOCl) com 2,0% de cloro ativo durante 10 minutos. Ao final desse processo, as sementes foram levadas para câmara de fluxo para repetir esse procedimento, porém com imersão no hipoclorito durante 20 minutos, ao final desse período, foram lavadas 3 vezes em água destilada e autoclavada, banhadas no fungicida Derosal e inoculadas em tubos de ensaio contendo o meio de cultivo previamente autoclavado a 120 °C durante 20 minutos. O meio de cultivo utilizado foi WPM (Lloyd & McCown, 1981), 1% de sacarose, 0,6% de ágar e pH = 5,8, o mesmo foi suplementado com diferentes concentrações do regulador de crescimento GA₃, totalizando 5 tratamentos como descrito: T0 = 0 mg L⁻¹; T1 = 3 mg L⁻¹; T2 = 6 mg L⁻¹; T3 = 9 mg L⁻¹ e T4 = 12 mg L⁻¹.

Após a inoculação, as sementes serão mantidas em sala de crescimento a 27 ± 2 °C, sob fotoperíodo de 16 horas e irradiância de fótons de 25 μmol m⁻² s⁻¹. Aos 30 dias de cultivo, a percentagem de sementes germinadas foi analisada. O aspecto do fruto e da semente, bem como das plantas germinadas *in vitro* de nim após 30 dias de cultivo em meio WPM com diferentes concentrações de GA₃, são apresentados na Figura 1.

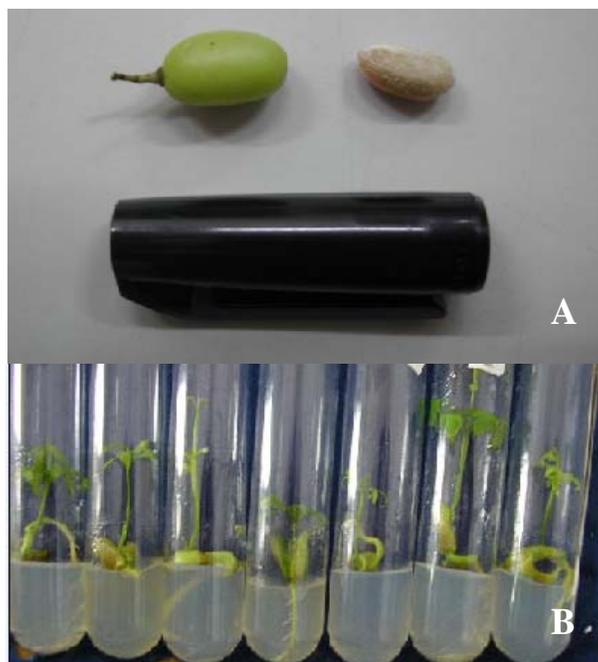


Figura 1. Aspecto do fruto e da semente (A) e das plantas germinadas *in vitro* (B) de nim (*Azadirachta indica* A.Juss) após 30 dias de cultivo em meio WPM, com diferentes concentrações de GA₃.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ao final das análises, verificou-se que com o aumento da concentração de GA₃, a taxa de germinação diminuiu de modo diretamente proporcional, ou seja, as sementes de

nim são inibidas de germinarem quanto maior foi a concentração do regulador de crescimento aplicado.

A maior porcentagem de germinação foi apresentada no meio WPM na ausência de regulador de crescimento, aproximadamente 90%. Na maior concentração de GA₃ utilizada, houve a menor porcentagem de germinação, cerca de 20% (Figura 2).

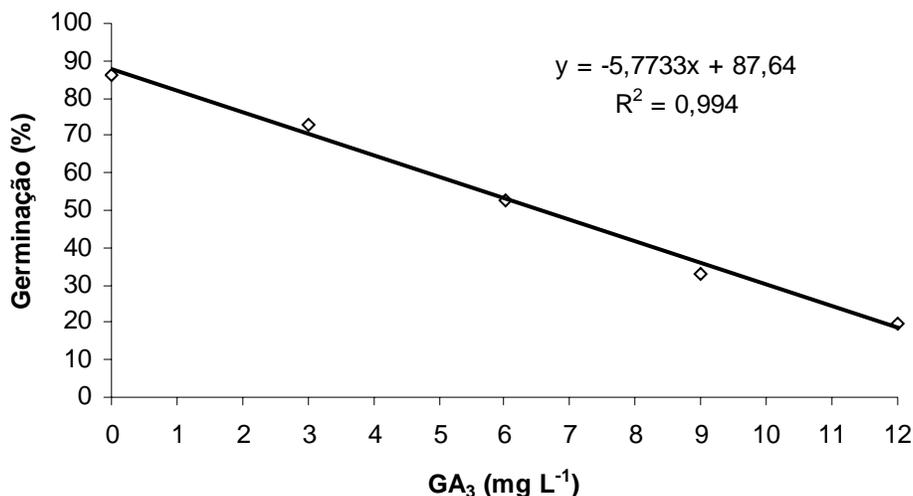


Figura 2. Porcentagem de germinação de sementes de nim (*Azadirachta indica* A.Juss), de acordo com o aumento da concentração de GA₃.

Uma das explicações para esse fato seria o desbalanço hormonal causado pelo GA₃. As sementes de nim já possuíam uma concentração hormonal ótima para germinação, portanto, com o aumento da aplicação de GA₃, o mesmo tornou-se tóxico para as sementes.

Sousa et al. (2002) também verificou que o ácido giberélico não influenciou a germinação de sementes dos porta-enxertos cítricos estudados.

CONCLUSÃO

Para as condições experimentais utilizadas, conclui-se que o meio de cultura apropriado para germinação *in vitro* de nim é o meio WPM na ausência de GA₃.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

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

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

MARTINEZ, S.S.; LIMA, J. de; BOIÇA JUNIOR, A.L. Avaliação agrônômica e fitoquímica de neem, *Azadirachta indica*, de diferentes procedências em vários locais da região sul e

sedeste do Brasil. **XVII Congresso Brasileiro de Entomologia. Sociedade Entomológica do Brasil**, Resumo, p.831, agosto 1998.

NEVES, B.P.; NOGUEIRA, J.C.M. **Cultivo e utilização do nim indiano (Azadirachta indica A .Juss)** Goiânia:Embrapa, CNPAF; APA,1996.32p. (Circular Técnica,28).

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

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

SOUSA, H. U. de; RAMOS, J. D.; PASQUAL, M.; FERREIRA, E. A.. Efeito do ácido giberélico sobre a germinação de sementes de porta-enxertos de cítricos. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal - SP, v. 24, n. 2, p. 496-499, agosto 2002.

TORRES, A.C.; CALDAS, L.S. **Técnicas e aplicações da cultura de tecidos de plantas**. Brasília: ABCTP/EMBRAPA – NCPH, 1990.433 p .

PALAVRAS-CHAVE:

Azadirachta indica, giberelina, cultivo *in vitro*.