

CONSERVAÇÃO E ENRAIZAMENTO *in vitro* DE *Bauhinia monandra* Kurz(pata-de-vaca)

Jaqueline Pereira Almeida¹; José Raniere Ferreira de Santana²; Flávia Pereira de Sousa³

1. Bolsista PIBIC/CNPq, Graduanda em Licenciatura em Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: jaquelinepereiraalmeida@gmail.com
2. Orientador, Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: jose.raniere@gmail.com
3. Doutoranda em Recursos Genéticos Vegetais, Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: flavia.sousa.ufba@gmail.com

PALAVRAS-CHAVE: conservação; enraizamento; pata -de- vaca

INTRODUÇÃO

Bauhinia monandra Kurz (pata-de-vaca) é uma planta de hábito arbóreo ou arbustivo da família Fabaceae. Sua importância farmacêutica advém da presença de diversos constituintes químicos, tais como esteroides, lectinas e flavonoides (ARGÔLO et al., 2004), sendo este último, o princípio ativo responsável pela atividade hipoglicemiante, já comprovada (MENEZES et al., 2007). Embora a espécie apresente grande potencial medicinal, não se tem relatos da propagação *in vitro* dessa espécie. Nesse sentido, a Cultura de Tecidos Vegetais, aliada às técnicas de micropropagação e conservação, são de extrema importância para a espécie em questão, uma vez que proporciona êxito, decorrente principalmente de uma ampla produção de metabolitos secundários. A formação de raízes adventícias nas partes aéreas obtidas, no estágio de multiplicação, permite a constituição de plantas completas, para posterior transferência a condições *ex vitro* (RADMANN et al., 2002). Já a conservação *in vitro* é uma estratégia que possibilita a manutenção de grande número de acessos em um pequeno espaço físico, livre das intempéries e riscos que existem no campo, a manutenção da fidelidade genética e facilita a disponibilidade de material para o melhoramento genético e para o intercâmbio de germoplasma (NEPOMUCENO, 2012). Contudo, é importante ressaltar, que o sucesso da aplicabilidade das técnicas que envolvem o cultivo *in vitro*, está intimamente ligada à definição de uma metodologia eficiente, visto que as respostas dependem das características intrínsecas de cada espécie. Portanto, o objetivo desse trabalho foi estabelecer um protocolo para conservação e enraizamento *in vitro* de *B. monandra*.

METODOLOGIA

EXPERIMENTO 1 – Efeito da auxina ácido indolbutírico (AIB), e do carvão ativado no enraizamento *in vitro* de brotos de *B. monandra*.

Broto foram transferidos para tubos de ensaio contendo 10 ml de meio de cultura WPM/2 suplementado com diferentes concentrações de ácido indolbutírico (AIB) (0,0; 2,0; 4,0; 8,0; 16,0 μ M) e acrescido de carvão ativado (0,0; 1,0 g L⁻¹).

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado em esquema fatorial 5 x 2 (5 concentrações de auxinas x 2 concentrações de carvão ativado) totalizando 10 tratamentos. Cada tratamento foi constituído de cinco repetições, sendo cada repetição composta por cinco tubos contendo um broto cada.

Decorrido 30 dias após a instalação do experimento foram avaliadas as seguintes variáveis: Porcentagem de enraizamento, e número de raízes.

EXPERIMENTO 2-Efeito das concentrações de sacarose na conservação *in vitro* de *B. monandra*.

Plântulas com quinze dias de idade oriundas da germinação de sementes em meio de cultura foram inoculadas em tubos de ensaio contendo 15 mL de meio suplementados com diferentes potenciais osmóticos ($\Psi_o = -0,2170; -0,3255; -0,4340; -0,651; -0,434; -0,5425$ e $-0,868$ MPa) obtidos através da utilização do agente osmótico sacarose nas seguintes concentrações (87,64; 131,46; 175,28, 219,10 e 262,92mM).

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, com 4 repetições e dez tubos por repetição. A porcentagem de sobrevivência foi avaliada mensalmente, constituindo o fatorial “tempo de cultivo x concentração de sacarose” e ao final de 120 dias foram analisadas: o número de folhas verdes e porcentagem de enraizamento.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

EXPERIMENTO 1-Efeito da auxina ácido indolbutírico (AIB), e do carvão ativado no enraizamento *in vitro* de brotos de *B. monandra*.

Os resultados obtidos para as variáveis de enraizamento demonstraram interação dupla (concentração de AIB e concentração de carvão ativado) altamente significativa ($p < 0,01$) para a variável porcentagem de enraizamento e para a variável número de raízes, não houve interação significativa ($p > 0,01$).

Foi observado apenas a porcentagem de enraizamento (20%) e número de raízes (0,35) em meio de cultura na ausência de AIB e de carvão ativado, resultados similares foram observados por Iapichino e Airò (2008), para culturas de *Metrosideros excelsa* Sol. ex Gaertn, no qual também observaram a formação de raízes em meio isento de regulador vegetal (33%).

A baixa taxa de enraizamento observada pode ser devido a dificuldade de enraizamento que geralmente é verificada em plantas lenhosas, além disso, diversas culturas a citocinina utilizada na indução das brotações mostra-se como um entrave a formação de raízes adventícias, como foi confirmado em estudos com as espécies *Pfaffia glomerata* (Flores et al., 2009) e *Juniperus naviculares* (Castro et al., 2011).

Tabela 1- Medias para a porcentagem de enraizamento e número de raízes de *B.monandra* submetidos a diferentes concentrações de AIB. Feira de Santana, 2017.

CARVAO ATIVO (g/L)	CONCENTRAÇÕES DE AIB (μ M)				
	0	2	4	8	16
	Enraizamento (%)				
0	20 aA	0 bB	0 bB	0 bB	0 bB
1	0 bB	0 bB	0 bB	0bB	0 bB
	Número de raízes				
	0	2	4	8	16
0	0.35a	0b	0b	0b	0b
1	0b	0b	0b	0b	0b

*Medias seguidas pelas mesmas letras minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas não diferem entre si estatisticamente ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

EXPERIMENTO 2 -Efeito das concentrações de sacarose na conservação *in vitro* de *B. monandra*.

De acordo com a análise de variância, a interação “tempo de cultivo x concentração de sacarose” não foi significativa ($p>0,05$) apresentando apenas efeito isolado para o tempo de cultivo.

Ao analisar as demais variáveis, observou-se efeito significativo ($p<0,05$) para a porcentagem de enraizamento e para o número de folhas verdes não foi verificado efeito significativo ($p>0,05$).

Para a porcentagem de sobrevivência, a maior taxa (100%) foi verificada aos 30, 60 e 90 dias na presença de 131,41 mM de sacarose, a menor taxa (52%) foi registrada aos 120 dias na presença de 262, 92 mM de sacarose, diferindo estatisticamente dos demais tratamentos. Assim, é possível que o aumento da concentração de sacarose no meio de cultura causou um efeito depressivo no metabolismo das plântulas, o que possivelmente levou a redução da taxa de sobrevivência (Ledo et al. 2007).

Tabela 1- Médias da porcentagem de sobrevivência das plantas de *B.monandra* submetidas a diferentes concentrações de sacarose aos 30,60, 90 e 120 dias, Feira de Santana, Bahia.

Tempo de cultivo (dias)	Concentrações de sacarose (mM)				
	87,64	131,41	175,28	219,10	262,92
30	96 a	100 a	96 a	96 a	92 a
60	96 a	100 a	96 a	92 a	92 a
90	96 a	100 a	96 a	92 a	92 a
120	76 a	92 a	80 a	80 a	52 b

*Médias com a mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade.

Em relação à variável número de folhas verdes, não foi observado diferença estatística significativa entre os tratamentos suplementados com sacarose (Tabela 2), no entanto para a porcentagem de enraizamento (Tabela 2), a maior taxa observada (55%) foi verificada na menor concentração de sacarose utilizada 87,64mM, diferindo estatisticamente dos demais tratamentos.

Tabela 2- Médias do número de folhas verdes (NFV) e da porcentagem de enraizamento das plantas (%ENR) de *B.monandra* cultivadas em diferentes concentrações de sacarose, Feira de Santana, Bahia.

Concentrações de Sacarose (mM)	NFV	%ENR
87,64	0,55 a	55,0 a
131,41	0,18 a	20,0 ab

175,28	0,18 a	10,0 b
219,10	0,40 a	25,0 ab
262,92	0,27 a	12,50 ab

*Médias com a mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade.

CONCLUSÕES

De acordo com os resultados obtidos, o enraizamento *in vitro* de *B. monandra* é possível em meio de cultura isento de AIB e Carvão ativo, no entanto sugere-se a aplicação de novas metodologias visando o aumento da baixa taxa de enraizamento encontrada.

A conservação *in vitro* de *B. monandra* é possível até os 120 dias em todas as concentrações de sacarose testadas.

REFERÊNCIAS

- ARGÔLO, A.C; SANTA'ANA, A.E; PLETSCH, M; COELHO, L.C. Antioxidant activity of leaf extracts from *Bauhinia*. **Bioresource Technology** v.95: 229-233, 2004.
- CASTRO, M.R.; BELO, A.F.; AFONSO, A.; ZAVATTIERI, M.A. 2011. Micropropagation of *Juniperus navicularis*, an endemic and rare species from Portugal SW coast. **Plant Growth Regulation**. 65:223-230.
- FLORES, R.; NICOLOSO, F.T.; MALDANER, J.; GARLET, T.M.B. 2009. Benzilaminopurina (BAP) e thidiazuron (TDZ) na propagação *in vitro* de *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**. 11(3):292-299.
- IAPICHINO, G.; AIRÔ, M. Micropropagation of *Metrosideros excelsa*. **In Vitro Cellular and Developmental Biology- Plant**, Wallingford, UK, v. 44, p. 330-337, 2008.
- LÉDO, A. S. et al. Efeito da sacarose e do manitol na conservação *in vitro* por crescimento lento do coqueiro anão. **Magistra**, Cruz das Almas, v.19, n.4 p.346-351, out./dez. 2007.
- MENEZES, F.S; MINTO, A. B. M; KUSTER, H. S. R. R. M; SHERIDAN, H; FRANKISH. N. Hypoglycemic activity of two Brazilian *Bauhinia* species: *Bauhinia forficata* L. and *Bauhinia monandra* Kurz. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, Curitiba, v. 17, n. 1.p. 08-13, 2007.
- NEPOMUCENO, C. Propagação e Conservação *in vitro* de *Martianthus leucocephalus* (MART. Ex BENTH.) J.F.B. PASTORE. 2012.180f. **Tese** (Doutorado em Botânica). Universidade Estadual de Feira de Santana, Bahia, 2012.
- RADMANN, E.B;FACHINELLO,J.C;PETERS,J.A.Efeito de auxinas e condições de cultivo no enraizamento *in vitro* de Porta-enxertos de Macieira.**Rev Bras.Frutic**,Jaboticabal-S.P,v.24,n3,p.624-628,Dezembro 2002.

