

**DESCRIÇÃO MORFO-ANATÔMICA E
GERMINAÇÃO DE *Merremia tomentosa* (Choisy)
Hall.**

AGDA RABELO CENTOFANTE

2008

AGDA RABELO CENTOFANTE

**DESCRIÇÃO MORFO-ANATÔMICA E
GERMINAÇÃO DE *Merremia tomentosa* (Choisy) Hall.**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, área de concentração em Fisiologia Vegetal, para a obtenção do título de "Mestre".

Orientador

Prof. Dr. Evaristo Mauro de Castro

LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL
2008

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da
Biblioteca Central da UFLA**

Centofante, Agda Rabelo.

Descrição morfo-anatômica e germinação de *Merremia tomentosa* (Choisy)
Hall. / Agda Rabelo Centofante. -- Lavras : UFLA, 2008.
p.80 : il.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Lavras, 2008.

Orientador: Evaristo Mauro de Castro

Bibliografia.

1. Descrição morfológica. 2. Anatomia. 3. Velame-do-campo. 4. Propagação.
5. Substrato. 6. Luz. 7. Temperatura. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD- 633.88

AGDA RABELO CENTOFANTE

**DESCRIÇÃO MORFO-ANATÔMICA E
GERMINAÇÃO DE *Merremia tomentosa* (Choisy) Hall.**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, área de concentração em Fisiologia Vegetal, para a obtenção do título de "Mestre".

APROVADA em 16 de julho de 2008

Profª. Dra. Valéria Evangelista Gomes Rodrigues UFLA

Prof. Dr. Renato Mendes Guimarães UFLA

Profª. Dra. Patrícia de Fátima Pereira Goulart UNILAVRAS

Prof. Dr. Evaristo Mauro de Castro

UFLA

(Orientador)

LAVRAS

MINAS GERAIS – BRASIL

Aos meus pais, Joaquim (*in memoriam*) e Sebastiana

Ao meu esposo, Elias Centofante

Aos meus filhos, Henrique e Christopher

Às minhas irmãs, Magda, Dagma e Marcia

Aos meus sobrinhos, Fábio, Vinicius, Lucas e Mateus

Aos meus sogros, Sylvio e Aládia

Aos meus cunhados, Lônia, Vilson, Liano , Nivaldo, Fábio e Xangai.

Pelo amor e dedicação que todos demonstraram no decorrer desses anos, dando-me coragem e força para realizar meus ideais.

DEDICO

“Os que semeiam com lágrimas ceifam em meio de canções. Vão andando e chorando ao levar a semente. Ao regressar, voltam cantando, trazendo seus feixes ”.

(Salmo, 126)

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, pela sua bondade, pela força e amor, sempre presentes nos momentos mais difíceis, como nos momentos de alegria, mostrando-me o valor da vida.

A minha família pelo apoio, amor e cumplicidade nas minhas decisões, o que me fortaleceu todos os dias.

Ao meu esposo, que sempre esteve comigo, mesmo a distância, apoiando e acreditando no sucesso desse projeto.

À Universidade Federal de Lavras, pela oportunidade de realização do mestrado.

À Fapemig, pela concessão da bolsa de estudos durante o curso.

Ao professor orientador Evaristo, pela sua amizade, simplicidade, honestidade, pela oportunidade, confiança e pelos seus ensinamentos demonstrados e repassados, meus agradecimentos.

Ao professor, Renato Mendes, pela atenção e conhecimentos na área de fisiologia de sementes.

À professora Valéria Evangelista, pela elaboração das pranchas e suas orientações.

Aos professores da Universidade Federal de Lavras, pelos conhecimentos repassados.

Aos amigos: Simei, Rodolfo, Ângela, Piedade, Isabel, Camila, Emanuelle, Letícia, Sara, Jessé, Humberto, Cleilton, Marcelo, Alessandro, Eloisa, Cinthia, Giulan e Grazielle, meus sinceros agradecimentos;

Aos funcionários técnico-administrativo do Setor de Fisiologia Vegetal: Joel, Lena, Evaristo, Izonel, Celen, Dartangan, Barrinha e Odorêncio, pela ajuda e amizade.

Aos funcionários do Laboratório de Cultura de Tecidos, em especial Tina, Marcelo Padovani, Diogo, Daiane e Stephania, pela colaboração e amizade.

E, finalmente, a todos aqueles que, diretamente ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho e pela amizade e carinho, meus sinceros agradecimentos.

SUMÁRIO

RESUMO GERAL.....	i
ABSTRACT.....	iii

CAPÍTULO I Introdução geral

1 Introdução.....	02
2 Referencial teórico.....	04
2.1 A importância do Cerrado e sua vegetação.....	04
2.2 A família Convolvulaceae.....	05
2.3 Plantas úteis nativas do Brasil.....	07
2.4 Substâncias de origem vegetal e sua importância.....	09
2.5 A importância dos estudos morfo-anatômicos	11
2.6 Propagação sexuada.....	12
2.6.1 Germinação de sementes.....	14
2.7 Cultura de tecidos	15
3 Referências bibliográficas	17

CAPÍTULO II Descrição morfo-anatômica de *Merremia tomentosa* (Choisy) Hall.

1 Resumo.....	23
2 Abstract.....	25
3 Introdução.....	27
4 Material e métodos	29
4.1 Local da coleta	29
4.2 Material para descrição morfológica	30
4.3 Material para descrição anatômica	30
5 Resultados	31
5.1 Descrição morfológica de <i>M. tomentosa</i>	31
5.1.2 Aspecto morfológico da germinação.....	36
5.1.3 Aspecto morfológico da plântula	38
5.2 Descrição anatômica da plântula	39
6 Considerações finais	42
7 Referências bibliográficas.....	43

**CAPÍTULO III Germinação *ex vitro* de sementes de *Merremia tomentosa*
(Choisy) Hall.: influência da luz, da temperatura e do substrato**

1	Resumo	46
2	Abstract.....	47
3	Introdução	48
4.	Material e métodos	50
4.1	Teor de umidade das sementes	50
4.2	Influência da luminosidade	50
4.3	Influência da temperatura e substrato	51
5.	Resultados e discussão	53
5.1	Teor de umidade das sementes	53
5.2	Influência da luminosidade	53
5.3	Influência da temperatura e substrato	54
6	Conclusão	60
7	Referências bibliográficas	61

**CAPÍTULO IV Germinação *in vitro* de sementes de *Merremia tomentosa*
(Choisy) Hall.**

1	Resumo	64
2	Abstract	65
3	Introdução	66
4	Material e métodos	68
4.1	Material vegetal	68
4.2	Germinação <i>in vitro</i>	68
4.2.1	Efeito de diferentes meios de cultura na germinação	68
4.2.2	Efeito do GA ₃ em diferentes concentrações na germinação	69
5	Resultados e discussão	70
5.1	Germinação <i>in vitro</i>	70
5.1.1	Efeito de diferentes meios de cultura na germinação	71
5.1.2	Efeito do GA ₃ em diferentes concentrações na germinação	71
5.1.3	Índice de velocidade de germinação e porcentagem de germinação	73
6	Conclusão	74
7	Referências bibliográficas	75

ANEXOS	77
Anexo A – Tabelas	78
Anexo B - Composição dos meios de cultura	79

RESUMO GERAL

CENTOFANTE, Agda Rabelo. **Descrição morfo-anatômica e germinação de *Merremia tomentosa* (Choisy) Hall.** 2008. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Fisiologia Vegetal) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

Merremia tomentosa é uma planta medicinal, nativa dos cerrados e campos rupestres, pertencente à família Convolvulaceae, do gênero *Merremia*, utilizada na medicina popular como depurativo do sangue. O presente estudo foi realizado com o objetivo de fazer a descrição morfo-anatômica e a germinação de *M. tomentosa*. O material botânico foi coletado na Serra do Macaia, município de Lavras, MG, no período de fevereiro de 2007 a abril de 2008. Foram estudadas as características morfo-anatômicas, por meio de pranchas morfológicas e fotos da planta e cortes transversais da folha, caule e raiz da plântula. Foram avaliados o teor de umidade das sementes, a influência da luz, da temperatura e do substrato na germinação. Foi ainda avaliada a germinação de sementes *in vitro* em diferentes meios de cultura e no meio MS com redução de 50% de concentração de sais, acrescido de diferentes concentrações de GA₃. Para germinação *in vitro* foi realizada a assepsia das sementes em água corrente por 20 minutos, que, depois, foram imersas em álcool 70% (v/v), por 60 segundos e, em seguida, na solução de hipoclorito de sódio (NaOCl) com 50% (v/v), por 20 minutos. Posteriormente, foram lavadas, por 3 vezes, em água destilada e autoclavada e, após a inoculação, as sementes foram mantidas em sala de crescimento sob irradiância de fótons de 36 mmol m⁻² s⁻¹, fotoperíodo de 16 horas e temperatura de 25±2°C. A avaliação foi realizada diariamente, durante 30 dias, após inoculação. Utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado para todos os tratamentos. Os dados do teste de germinação foram transformados em arco seno $(x/100)^{0.5}$ e o índice de velocidade de germinação, em $(x + 0,5)^{0.5}$. As médias foram comparadas pelo teste de F ou pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade ($p \leq 0,05$), de acordo com o experimento realizado. Realizou-se a análise de variância e as médias foram comparadas utilizando-se o programa estatístico Sisvar. Nos dados da germinação *in vitro* com concentração de GA₃, os resultados foram submetidos à análise de variância, sendo analisados pelo teste de regressão no Sisvar. Pelos resultados obtidos, concluiu-se, que *M. tomentosa* é um subarbusto de caule ereto, cilíndrico; folhas simples, penínérveas, tricomas tectores pluricelulares de filotaxia alternada, flores solitárias, axilares, pentâmeras; bráctea reduzida com protuberâncias em que há a presença de tricomas estrelares; cálice dialissépalo, pentâmero, sépalas pequenas, desiguais entre si, sendo duas menores e três maiores; corola gamopétala, pentâmera de coloração branca; androceu com

* Orientador: Evaristo Mauro de Castro, DBI – UFLA

cinco estames; gineceu bicarpelar, de ovário súpero, bilocular, de estilete terminal, com dois estigmas fundidos subglobosos; fruto tipo cápsula normalmente regular com 4 valvas, às vezes irregular, com 2 ou 3 valvas de coloração que varia de castanho-pardo a castanho-avermelhado quando maduros de deiscência tardia e irregular; sementes de coloração preta, recoberta por tricomas tectores pluricelulares, embrião com dois cotilédones foliáceos, verdes e dobrados em labirinto. Pelos estudos anatômicos da plântula, observou-se que as epidermes da face abaxial e adaxial são unisseriadas, ambas com tricomas tectores pluricelulares estrelares, e o mesofilo possui organização dorsiventral, hipostomática, apresenta uma ou duas camadas de células no parênquima paliádico e duas ou três camadas de células no parênquima esponjoso e há presença de cavidades secretoras entre eles, não sendo possível estabelecer a origem dessas cavidades, possivelmente lisígenas. Para a germinação, verificou-se que as sementes têm comportamento fotoblástico positivo. O teor de umidade foi de 56%, para a avaliação da qualidade fisiológica. Considerando a protrusão radicular e o surgimento de plântulas normais, deve-se proceder a análise entre areia a 25°C ou sob papel a 30°C. Na germinação *in vitro*, recomenda-se utilizar o meio MS com redução 50% de concentração de sais acrescidos de 1 mgL⁻¹ de GA₃.

ABSTRACT

CENTOFANTE, Agda Rabelo. **Morphoanatomical description and germination of *Merremia tomentosa* (Choisy) Hall.** 2008. Dissertation (Master in Agronomy/Plant Physiology) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG. *

Merremia tomentosa is a medicinal plant native from the cerrados and rupestrian fields, belonging to the family Convolvulaceae, of the genus *Merremia*, utilized in folk medicine as a blood depurative. The present work was conducted with the purpose of doing a morphoanatomical description and the germination of *M. tomentosa*. The botanical material was collected on the Serra do Macaia (Macaia Range), Lavras town, MG, in the period of February 2007 to April 2008. The morphoanatomical characteristics were studied by means of morphological boards and photos of the plant and cross sections of the leaf, stem and root of the seedling. The moisture content of the seeds, influence of light, of temperature and of substrate on germination were evaluated. The *in vitro* seed germination in different culture media and in the MS medium with a reduction of 50% of salt concentration, added of different concentrations of GA₃ was, further, evaluated. For *in vitro* germination, seed asepsis was performed in running water for 20 minutes, which, afterwards, they were immersed in 70% alcohol (v/v), for 60 seconds and, next, in the solution of 50% sodium hypochlorite (NaOCl) (v/v) for 20 minutes. Later, they were washed three times in distilled and autoclaved water and after inoculation; the seeds were kept in a growth room under irradiance of photons of 36 mmol m⁻² s⁻¹, 16-hour photoperiod and temperature of 25±2°C. The evaluation was conducted daily, for 30 days, after inoculation. The completely randomized design was utilized for all the treatments. The data of the germination test were transformed into arcsin (x/100)^{0.5} and germination velocity rate into (x + 0.5)^{0.5}. The means were compared by the F test or by the Tukey test at 5% of probability (p≤0.05), according to the experiment conducted. The analysis of variance was carried out and the means were compared by utilizing the Sisvar statistical program. In the data of *in vitro* germination with a concentration of GA₃, the results were submitted to the analysis of variance, their being analyzed by the regression test in the Sisvar. From the results obtained, it follows that *M. tomentosa* is a subshrub of upright, cylindrical stem, penninervate simple leaves, pluricelular tector trichomes of alternate phylotaxy, single, axillary, pentamerous flowers; reduced bract with protuberances in which there is the presence of dialysepalous stellar trichomes; pentamer calyx, small sepals, unequal among one another,

* Adviser : Evaristo Mauro de Castro, DBI – UFLA

two being smaller and three being larger; gamopetalous, pentamer corolla of white coloration; androecium with stamens; bicarpelar gynoecium, with a bilocular supero ovary, with a terminal style, with two fused subglobose stigmas; fruit type capsule normally regular with 4 valves, sometimes irregular, with 2 or 3 valves of coloration ranging from dummy brown to reddish brown when ripe of late and late irregular dehiscence and; black colored seeds, covered by pluricelular tector trichomes, embryo with two leafy cotyledons, green and folded into labyrinth. From the anatomical studies of the seedling, it was found that the epidermis of the abaxial and adaxial face are uniseriate, both with stellar pluricelular tector trichomes, and the mesophyll possesses an hypostomatal dorsiventral arrangement, it presents one or two layers of cells in the palisade parenchyma and two or three layers of cells in the spongy parenchyma and there is the presence of secretory cavities between them, origin of those cavities not being possible to settle, possibly lysigen. For germination, it was found that the seeds have a positive photoblastic behavior. The content of moisture was of 56%, for evaluation of physiological quality. Considering the root protrusion and the appearance of normal seedlings, one should proceed the analysis between sand at 25°C or under paper at 30°C. In *in vitro* germination, it is advised to utilize the MS medium with a 50% reduction of concentration of salts added of 1 mgL⁻¹ de GA₃.

CAPITULO I

INTRODUÇÃO GERAL

1 INTRODUÇÃO GERAL

O primeiro trabalho palinotaxonômico sobre as Convolvulaceae foi o de Hallier (1893), no qual a família foi dividida em dois grandes grupos (*Echinoconieae* e *Psiloconiae*), com base no padrão apertural da exina e do tipo apertural do grão de pólen.

A família Convolvulaceae é uma família de plantas fanerógamas, ou seja, vegetais com órgão de reprodução visíveis, as flores, e angiospérmicas, ou seja, cujas sementes estão abrigadas dentro do pericarpo do fruto (Rodrigues, 2001). A família possui distribuição cosmopolita e compreende cerca de 2.000 espécies distribuídas em 50 gêneros (Souza & Lorenzi, 2005). No Brasil, Meissner (1869) reconheceu cerca de 312 espécies que ocorrem nas mais diversas formações vegetais. *Merremia tomentosa* (Choisy) Hall foi descrita primeiramente por Choisy, em 1838, como *Ipomoea tomentosa*.

O grupo compreende desde de flores ornamentais a ervas daninhas. Segundo Souza & Lorenzi (2005), entre as Convolvulaceae de interesse econômico estão a batata-doce (*Ipomoea batatas*) e as ornamentais, a azulzinha (*Evolvulus glomeratus*) e a gota-de-orvalho (*Evolvulus pusillus*). Espécies de *Ipomoea*, principalmente *I. cairica*, conhecidas por corda-de-viola, são freqüentes invasoras de culturas. *Merremia tomentosa* (Choisy) Hall., planta pertencente à família Convolvulaceae, conhecida popularmente como velame-do-campo, é utilizada na medicina popular como depurativo do sangue na forma de infusão de seus ramos contendo folhas e flores (Souza & Lorenzi, 2005).

Estudos recentes buscaram isolar compostos das folhas de *M. tomentosa* com vistas a contribuir para o melhor entendimento das propriedades farmacológicas de tal planta. O estudo do extrato metanólico das folhas de *M. tomentosa* permitiu, até o presente momento, a identificação do triterpeno ácido ursólico, bem como dos flavonóides trans-tilirosídeo e cis-tilirosídeo, sendo

estes pela primeira vez citados na espécie (Santos, 2007). O ácido ursólico é um triterpenóide pentacíclico. Atualmente, essa substância é obtida para uso comercial a partir da extração e da purificação de espécies vegetais (Saravann & Pugalendi, 2006; Ovesná, 2006; Peschel et al., 2007). A baixa toxicidade deste composto para células eucariotas tem estimulado os estudos para a elucidação dos seus mecanismos de ação como hepatoprotetor, antineoplásico, antiinflamatório e antimicrobiano (Liu, 2005; Ovesná, 2006).

Este trabalho foi realizado com o objetivo de realizar a descrição morfo-anatômica e da germinação *Merremia tomentosa* (Choisy) Hall., planta nativa do Brasil e encontrada no cerrado e em campo rupestre, no município de Lavras, MG, no intuito de obter maior conhecimento de suas estruturas, tais como folha, caule, raiz e semente. Além disso, buscou fornecer informações sobre germinação e viabilidade, as quais auxiliam a análise do seu ciclo vegetativo, fornecendo informações valiosas relativas à identificação e à propagação da espécie.

Não foram encontrados, na literatura, trabalhos sobre *Merremia tomentosa*, sendo este trabalho pioneiro para esta espécie.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 A importância do cerrado e sua vegetação

O bioma cerrado é apontado como grande detentor de diversidade biológica e é considerado como sendo a cobertura vegetal que apresenta a maior diversidade do planeta, em especial quando se consideram as espécies lenhosas. Mendonça et al. (2000) fizeram extensa compilação referente à diversidade do cerrado brasileiro, apontando, no total, 6.671 espécies nativas, distribuídas em 170 famílias e 1.140 gêneros. Porém, os mesmos autores ressaltam que a flora deste bioma ainda é pouco conhecida.

O desconhecimento de sua riqueza e de suas possibilidades se agrava quando Ratter et al. (1997) estimam que cerca de 40% deste bioma já tenha sido devastado; e quando Kaplan et al. (1994) afirmam que o Cerrado possui somente 1,5% de sua extensão protegida por lei e que, atualmente, é a vegetação com maior risco de devastação no país.

A maior parte do estado de Minas Gerais é coberta pelo bioma Cerrado, encontrado em todas as suas fisionomias. Ele ocorre em regiões com estação seca bem definida, que geralmente se prolonga por quatro ou cinco meses. Recobre o Triângulo Mineiro e grande faixa no sentido centro-noroeste, a partir de Sete Lagoas. Com grande riqueza de flora, o Cerrado não é homogêneo ao longo de sua distribuição latitudinal. No entanto, suas fisionomias florísticas apresentam-se com forração graminóide e, comumente, com espécies lenhosas de várias famílias. Podem ser citados, entre outras: o pequi (*Caryocar brasiliense*), os muricis (*Byrsonima* spp.), o barbatimão (*Stryphnodendron* spp), o pau-terra (*Qualea* spp.), o pau-de-tucano (*Vochysia tucanurum*), a colher-de-vaqueiro (*Salvertia convallariodora*), o jatobá (*Hymenaea* sp.) e várias espécies de araticum (*Annona* spp). Nos locais onde lençóis freáticos provêm o encharcamento do solo, surgem as veredas, com forração graminóide e

agrupamento de palmeiras típicas, os buritis. Onde o solo é menos pedregoso, assentam-se os cerradões (Biodiversitas, 2007).

2.2 A família Convolvulaceae

As Convolvulaceae são mais freqüentemente trepadeiras volúveis, sinistrorsas ou ervas ou, ocasionalmente, subarbustos prostrados, suberetos ou erretos, raramente procumbentes; raramente holoparasitas áfilas (*Cuscuta*) ou árvores ou arbustos, às vezes latescentes (Barroso, 1991; Souza & Lorenzi, 2005). Gavinhas só têm sido mencionadas para algumas espécies de *Maripa*. Caule cilíndrico ou levemente anguloso, liso, estriado, lenticeloso, glabro ou piloso. Folhas alternadas, simples, inteiras ou sectas, sem estípulas, ou em séries homoblásticas, isto é, todas as folhas de formas semelhantes, embora as superiores sejam menores do que as inferiores ou em séries heteroblásticas, isto é, as folhas jovens ovais, elípticas ou ovado-elípticas e as superiores, nos ramos floríferos, oblongas (Barroso, 1991). Tricomas malpighiáceos são encontrados em espécies com características relativamente primitivas e parece razoável admitir-se que, na família, eles sejam o protótipo para outros tipos de tricomas. É comum, na família, o tricoma com um dos braços muito maior do que o outro. O tipo simples ocorre esporadicamente.

Muitas espécies de Convolvulaceae têm indumento constituído de escamas glandulares peltadas. Certas espécies apresentam um tipo mais complexo de escamas e várias formas podem ser encontradas na mesma flor (Barroso, 1991). As flores são axilares, solitárias ou ordenadas em cimeiras simples ou compostas, ou em panículas terminais, às vezes aglomeradas em cacho denso, terminal ou axiliar. Flores geralmente vistosas, actinomorfas, andróginas, diclamídeas, simpétalas, sésseis ou pediceladas, com brácteas e bractéolas pequenas, escamiformes ou foliáceas, ou mais ou menos desenvolvidas. Cálice (tri-)pentâmero, de prefloração imbricada, dialissépalo ou

raramente gamossépalo, acrescentes ou não, de textura coriácea, subcoriácea, escariosa ou herbácea, de formas e tamanhos variáveis, com sépalas iguais ou desiguais entre si. Corola infundibuliforme, campanulada ou hipocrateriforme, plicadas no botão floral, de bodo inteiro ou com lobos de pouco a muito pronunciados. Durante o estado de botão floral, os ângulos laterais de cada pétala ficam escondidas pelo dobramento ao longo da linha de fusão entre as pétalas. Essa áreas dobradas são chamadas plicas. Entre as plicas, as porções centrais das pétalas ou faixas mesopetalinas, denominadas interplicas ou áreas epissepálicas, formam a superfície exposta do botão floral. Cada interplica é mais ou menos triangular, estreitada em direção ao ápice da pétala. As dimensões da corola variam bastante, havendo gêneros, como *Dicranostyles*, *Lysostyles* e *Dichondra*, nos quais a corola diminuta é sempre menor do que 1 cm de comprimento. Em outros, como *Ipomoea* e *Calystegia*, ela é vistosa e com mais de 1 cm de comprimento. As cores variam também, de branca, azul, purpúrea, atropurpúrea, violácea ou vermelha, raramente amarela. Os estames são cinco, alternados com as pétalas, inclusos ou exsertos, com filetes epipétalos, pilosos ou não na base e anteras rimosas. Ovário súpero, composto de dois carpelos, com dois lóculos pauciovulados; óvulos, geralmente, alojados na porção basal do ovário, dois estiletos, livres ou fundidos em um inteiro ou partidos em dois ramos curtos ou longos, estigmas globosos, subglobosos, cônicos, reniformes ou peltados, com superfície lisa, verrucosa ou rugosa. Disco anular, geralmente saliente. Os estigmas das *Convolvulaceae*, provavelmente, originaram-se de tipos filiformes, com superfície estigmática restrita (Barroso, 1991; Souza & Lorenzi, 2005).

O tipo de estilete mais primitivo na família é o de dois ramos livres desde a base, ocorrendo fusão progressiva desses ramos, nos tipos mais evoluídos (Austin, 1979). Fruto de pericarpo fino, com deiscência 4-valvar irregular, às vezes, tardiamente deiscente ou indeiscente, alado por acrescência do cálice, ou fruto de parede espessada, lenhosa ou carnosa, indeiscente.

Semente angulosa, com hilo circular, basal, testa glabra ou pilosa; embrião com cotilédones foliáceos, repetidamente dobrados, embebido em endosperma de consistência cartilaginosa, que se torna gelatinoso quando umedecido; eixo radícula-hipocótilo longo ou curto (Barroso, 1991; Souza & Lorenzi, 2005).

2.3 Plantas úteis nativas do Brasil

O Brasil é o país com a maior diversidade genética vegetal do mundo, existindo com mais de 55.000 espécies catalogadas de um total estimado entre 350.000 e 550.000. Aproximadamente 22% das angiospermas ou plantas floríferas ocorrem no país, distribuídas na Amazônia, no Cerrado e na Mata Atlântica. Os dois últimos, devido à devastação sistemática, têm colocado considerável número de espécies em risco de extinção (Guerra & Nodari, 2003).

Com a expansão da fronteira agrícola, muitas espécies vegetais de uso medicinal e, em decorrência, também o conhecimento a elas associado, vêm desaparecendo. Segundo Fachim & Guarim (1995), o verga-teso (*Anemopaegma arvense* (Vell.) Stelf.), o barbatimão (*Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville) e a mangava-brava (*Lafoensia pacari* St. Hil.) estão na categoria de vulneráveis, devido à forma de utilização. Como são utilizadas raízes, xilopódios e entrecasca destas espécies, a planta inteira pode ser destruída, se não forem aplicadas técnicas adequadas de extração. Silva et al. (2001), analisando o comércio de plantas medicinais brasileiras, relatam que a fava-de-anta (*Dimorphandra mollis*), a ipecacuanha ou poaia (*Cephaelis ipecacuanha*), o jatobá (*Hymenaea courbaril* L.) e o barbatimão (*Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville) encontram-se em risco de extinção.

Muitos trabalhos já foram realizados e pode-se dizer que o estado de Minas Gerais se destaca pela sua riqueza em recursos vegetais, possuindo várias espécies com diversas atividades farmacológicas e, portanto, grande potencial na área de produtos para usos medicinais. Especificamente na região onde se

localiza o município de Lavras, Sul de Minas Gerais, Rodrigues & Carvalho (2001) realizaram um levantamento etnofarmacobotânico, buscando informações das espécies nativas e colonizadoras ali utilizadas na medicina popular. Algumas destas espécies estão listadas na Tabela 1. Dentre os dados coletados, observou-se que, apesar do considerável potencial, há várias espécies que ainda não foram submetidas a qualquer estudo objetivando aproveitar suas qualidades.

TABELA 1: Levantamento das plantas medicinais no Sul de Minas Gerais

Usos	Plantas utilizadas
Diurético e na diabetes	carqueja (<i>Baccharis trimera</i>) unha-de-vaca (<i>Bauhinia holophylla</i>) jurubeba (<i>Solanum paniculatum</i>)
Anti-hemorroidal	melão-de-são-caetano (<i>Momordica charantia</i>) verbasco (<i>Buddleja brasiliensis</i>)
Depurativo, anti-inflamatório e anti-sifilítico	canela-de-perdiz (<i>Croton atisyphiliticus</i>) japécanga (<i>Smilax campestris</i>) cipó-prata (<i>Banisteriopsis argyrophylla</i>) bolsa-de-pastor (<i>Zeyheria digitalis</i>) quina-mineira (<i>Strychnos brasiliensis</i>)
Estomáquica Asma, bronquite, tosse, pneumonia, expectorante	assa-peixe, (<i>Vernonia polyanthes</i>) cambará-vermelho (<i>Lantana camara</i>) hortelã-do-campo (<i>Peltodon tomentosus</i>) pequi (<i>Caryocar brasiliense</i>)
Vermífugo	carqueja (<i>Baccharis trimera</i>) raiz-preta (<i>Senna rugosa</i>) hortelã-do-campo (<i>Peltodon tomentosus</i>)

Rodrigues & Carvalho, 2001.

Vários trabalhos etnobiológicos vêm sendo desenvolvidos sobre o aproveitamento dos recursos biológicos, pelos povos de diferentes regiões e etnias, em especial enfocando o aspecto medicinal (Almeida & Albuquerque, 2002). Esses mesmos autores assinalam ainda que dentre diversas abordagens, um dos campos mais avançados é o da etnobotânica.

Para Guarim-Neto et al. (2000), é por meio da etnobotânica que se buscam o conhecimento e o resgate do saber botânico tradicional, particularmente relacionado ao uso dos recursos da flora. Albuquerque (2002) assinala que todas as ciências que se ocupam de investigar a relação pessoas/plantas estão preocupadas em registrar e conhecer as estratégias e os conhecimentos dos povos locais, procurando também usar essa informação em benefício dessas próprias pessoas.

2.4 Substâncias de origem vegetal e sua importância

Pode-se considerar como planta medicinal aquela planta administrada sob qualquer forma e por alguma via ao homem, exercendo algum tipo de ação farmacológica. As plantas medicinais têm sido utilizadas, tradicionalmente, para o tratamento de várias enfermidades. Sua aplicação é vasta e abrange desde o combate ao câncer até a microrganismos patogênicos (Silva, M. C.& Carvalho, 2004; Calixto, 2000).

No emprego medicinal, alguns são clássicos exemplos, como é o caso da *Papaver somniferum* L. (Papaveraceae), vulgarmente conhecida por papoula, planta usada para a extração do ópio, cujo componente majoritário é a morfina - isolada por Setürner, princípio ativo empregado para combater a dor desde 1803. Passado mais de um século, isolou-se, dessa mesma planta, a codeína (Robiquet) e, mais tarde, a papaverina (Merck). Índícios arqueológicos indicam seu uso desde 4000 anos a.C. Outros exemplos marcantes são os da *Digitalis purpurea* L. e a *Digitalis lanata* Ehr., plantas originaram a descoberta de medicamentos

para o coração. Delas extraem-se glicosídeos cardiotônicos chamados cardenolídeos, sendo os mais utilizados a digitoxina e a digoxina. Estas plantas também têm uma longa história, pois egípcios e romanos já faziam uso delas pelas propriedades diuréticas e tóxicas. Foi durante a antiguidade egípcia, grega e romana que se acumularam conhecimentos empíricos transmitidos, principalmente pelos árabes, aos herdeiros destas civilizações. Isto prova que, desde as mais antigas civilizações, as plantas são utilizadas como fitoterápicos (Silva & Carvalho, 2004; Hostettmann, 2003, Yunes & Cechinel Filho, 2001; Fellows, 1992).

Nota-se que, nos últimos anos, o interesse em trabalhar com fitoterapia tem ressurgido. Na última década, registrou-se um aumento expressivo do interesse em substâncias derivadas de espécies vegetais, evidenciado pelo crescimento de publicações dessa linha de pesquisa nas principais revistas científicas das áreas de química e farmacologia (Calixto, 2000). Alguns fatores têm contribuído para este aumento de interesse. Entre eles está a grande eficácia de algumas substâncias antitumorais obtidas de plantas, como os alcalóides extraídos da espécie vegetal *Catharanthus roseus* G. Don (Apocynaceae), originário do Madagascar, descobertos no final dos anos 1960, ainda considerados indispensáveis para o tratamento de leucemia, assim como os taxóides extraídos das espécies *Taxus brevifolia* Nutt. (Taxaceae) (teixo do pacífico) e *T. baccata* L., para cânceres ginecológicos (Hostettmann, 2003; Cragg, G. M. et al, 1993).

O panorama para a fitoquímica é muito mais importante e decisivo para o Brasil, ao considerar sua grande riqueza vegetal ainda sem estudo e as possibilidades para o desenvolvimento de novos medicamentos. Torna-se, portanto, necessária a implantação de um programa comprometido, contínuo e eficiente, como o requerido para qualquer conquista de valor na área científico-tecnológica (Yunes & Cechinel Filho, 2001).

2.5 A importância dos estudos morfo-anatômicos

O conhecimento das estruturas morfológicas de órgãos vegetais e plântulas é importante para análises em laboratório, identificação e diferenciação de espécies, taxonomia e silvicultura (Amorim, 1996).

Vários estudos sobre a morfologia de espécies nativas do Brasil têm sido Desenvolvidos. Barroso (1978) analisou e descreveu as estruturas morfológicas externas e internas das sementes de várias famílias de dicotiledôneas e monocotiledôneas, definindo tipos de reserva do endosperma e classificando os embriões de acordo com as formas que ocupam no interior da semente.

O tamanho, a forma e o tipo de deiscência dos frutos são caracteres imprescindíveis para a classificação deles. Assim, os estudos morfológicos de frutos contribuem para a identificação das espécies, bem como para a sua distribuição geográfica e interação com a fauna (Barroso, 1999).

Os estudos morfo-anatômicos em sementes são importantes na paleobotânica, na arqueologia, na fitopatologia, no estudo de comunidades vegetais, na identificação de plantas e, mais recentemente, na análise de sementes para agricultura e horticultura, cujos processos envolvem conhecimentos de fisiologia vegetal. Estes estudos iniciaram-se no século XVII, simultaneamente com os primeiros estudos microscópicos em plantas, por Grew, em 1671 e por Malpighi, em 1675, citados por Beltrati (1994).

O conhecimento da morfologia dos diásporos de dispersão é igualmente eficaz na identificação e na certificação do material empregado nas análises de sementes, uma vez que, por meio dele, pode-se promover a conservação da fauna e da flora, subsidiar estudos sobre sucessão ecológica, bem como sobre a regeneração dos ecossistemas florestais (Beltrati, 1994).

Para Beltrati (1990), estudos anatômicos e morfológicos da germinação de sementes de espécies florestais tropicais são fundamentais e urgentes, à medida que cresce a demanda por seus produtos, bem como são reduzidas

drasticamente as populações naturais em face das alterações ambientais provocadas, principalmente, pelo desmatamento continuado.

Os trabalhos de morfologia têm merecido atenção há algum tempo, seja como parte de estudos morfo-anatômicos, objetivando ampliar o conhecimento de determinada espécie ou grupamento sistemático de plantas, quer visando o reconhecimento e a identificação de plântulas de certa região, dentro de um enfoque ecológico. Contudo, a morfologia de plântulas não tem sido empregada na taxonomia, sendo utilizados somente caracteres da planta adulta de acordo com Oliveira (1993).

Segundo Oliveira (1993), a identificação morfológica de plântulas também permite caracterizar famílias, gêneros e até espécies, tendo sido aplicada nos estudos de inventário florestal em regiões de clima temperado e tropical.

Segundo Ferreira et al. (2001), o acompanhamento do desenvolvimento da plântula em viveiro permite a identificação de espécies muito semelhantes, podendo também auxiliar em estudos de regeneração.

O conhecimento das estruturas morfológicas do fruto, da semente e das plântulas é importante para diversos fins: nos laboratórios de análise de sementes, na identificação e na diferenciação de espécies, no reconhecimento da plântula no campo e na taxonomia, havendo a necessidade de estímulo a essas informações básicas (Amorim, 1996). Todavia, estudos morfo-anatômicos não têm sido relatados para a espécie *M. tomentosa*.

2.6 Propagação sexuada

Antes de 1964, acreditava-se que a propagação vegetativa era a única responsável pela perpetuação das espécies do cerrado. Em 1963, Laboriau relatou a viabilidade e a germinação de sementes de espécies nativas do cerrado brasileiro em condições naturais. Posteriormente, os conhecimentos sobre a

germinação de muitas dessas espécies foram ampliados e realizadas algumas compilações (Laboriau et al., 1963; Souza-Silva et al., 2001).

A multiplicação sexuada ocorre desde os vegetais primários até os mais evoluídos e, nessa trajetória, surgiram modificações nas estruturas relacionadas com o mecanismo reprodutivo, atingindo máxima diferenciação nas angiospermas, em que as diversas estruturas envolvidas com a reprodução aparecem da maneira mais distinta e característica (Marcos Filho, 2005).

Segundo Marcos Filho (2005), o processo completo, envolvendo a gametogênese, a fertilização, o posterior desenvolvimento e dispersão da semente e, finalmente, o complexo latência/germinação, representa a seqüência geral dos eventos que governam os mecanismos básicos para a preservação das espécies vegetais. Ressalte-se que, na maioria das plantas cultivadas, a semente assume a responsabilidade de garantir a sobrevivência da espécie e a continuidade de gerações. Além disso, contribui para o estabelecimento dos genes que poderão ser bem sucedidos em determinado ambiente, ou seja, transfere os avanços da genética para o setor produtivo. Por esse motivo, o desenvolvimento de procedimentos eficientes para a produção, o processamento e a avaliação da qualidade das sementes somente pode ser concretizado se estiver apoiado em volume suficiente de conhecimento sobre a formação e os processos vitais das sementes, os fatores que os afetam e suas relações com o desempenho após a semeadura e durante o armazenamento.

Segundo Manica et al. (2003), propagação sexuada também apresenta alguns inconvenientes, como grande variabilidade nas plantas e nos frutos; árvores com vigor excessivo e maior altura demoram mais para florescer e frutificar, dificultando os tratos culturais; produtividade irregular, colheita difícil, cara e demorada, e os frutos podem não ter boa qualidade.

2.6.1 Germinação de sementes

Para que as sementes se tornem indivíduos representantes de uma determinada espécie, é preciso que ocorra um processo chamado germinação. Segundo Carvalho & Nakagawa (2000), a germinação é um processo variável e complexo, difícil de definir de forma sucinta e objetiva.

A germinação envolve processos seqüenciados e sincronizados, de tal maneira que as reações catabólicas e anabólicas ocorrem simultaneamente. Primeiramente, o processo é controlado por uma interação de sinais ambientais e endógenos, ocorrendo, assim, alterações dos estados fisiológicos da semente que resultam na retomada do desenvolvimento do embrião (Moraes et al., 2001).

Para Custódio et al. (2002), o processo germinativo é dependente de vários fatores, podendo ser controlado por fatores externos que podem bloquear ou ativar a germinação (por exemplo, umidade, temperatura, luz e oxigênio) e fatores internos, como a imaturidade do embrião e a presença de inibidores, entre outros. Dentre estes, a água é um dos fatores ambientais que mais influenciam a germinação, uma vez que contribui para amolecer o tegumento, intensificar a velocidade respiratória, favorecer as trocas gasosas, induzir a síntese e a atividade de enzimas e hormônios e contribuir, significativamente, para a translocação e a assimilação das reservas, bem como para o crescimento subsequente.

De acordo com Marcos Filho (2005), após a entrada de água ocorre o aumento do volume do embrião e dos tecidos de reserva, resultando na ruptura do tegumento, facilitando a protrusão da raiz primária. Segundo Carvalho & Nakagawa (2000) e Cardoso (2004), para que este processo ocorra, é necessário que a disponibilidade de água, a temperatura e a concentração de oxigênio no meio não limitem o metabolismo germinativo.

De acordo com Marcos Filho (2005), as informações disponíveis sobre o processo de germinação, embora relativamente volumosas, são insuficientes para

caracterizá-la perfeitamente. Representam a reunião de conhecimentos obtidos para diferentes espécies, muitas das quais com alto valor biológico, mas insignificantes, do ponto de vista econômico.

Não é reconhecido, até o momento, nenhum estudo completo da germinação para qualquer espécie vegetal, mesmo porque o dinamismo dos avanços da pesquisa não permite limitar essa questão.

2.7 Cultura de tecidos

A cultura de tecidos vegetais compreende um conjunto de técnicas nas quais um explante (célula, tecido ou um órgão) é isolado e cultivado sob condições de plena assepsia, em um meio nutritivo artificial. O princípio da cultura é a denominado “totipotencialidade” das células – qualquer célula no organismo vegetal contém toda informação genética necessária à regeneração de uma planta completa. Tais técnicas permitem o cultivo sob condições físicas, químicas e biológicas ótimas e a manipulação dos explantes de formas impossíveis antes do advento da cultura de tecidos (Pascal, 2001).

A tecnologia da cultura de células, protoplastos e tecidos é uma das áreas de maior sucesso, como parte do complexo da biotecnologia e vem sendo ampliada dia a dia. A manipulação de células e componentes celulares, o manejo de tecidos, a produção de mudas em grande escala e com grande rapidez e a adoção de técnicas de melhoramento via cultura de tecido são apenas algumas das muitas áreas da cultura de tecidos que apresentam significativa importância (Pascal, 2001).

Durante o cultivo *in vitro*, as soluções de sais e açúcares que compõem os meios de cultura não exercem efeito puramente nutritivo, mas também influenciam o crescimento celular e a morfogênese por meio de propriedades osmóticas (George, 1996). Diversas formulações de meios básicos têm sido utilizadas no cultivo *in vitro*. Não há uma formulação padrão, mas o meio MS

(Murashige & Skoog, 1962), com suas modificações e diluições, tem sido utilizado com sucesso para diversas espécies. Com espécies lenhosas, entretanto, o meio MS não se mostra satisfatório em alguns casos e composições mais diluídas em macronutrientes apresentam melhor desempenho (Grattapaglia & Machado, 1998). O meio nutritivo WPM (Lloyd & Mccown, 1981) apresenta 25% das concentrações de íons nitrato e amônia do meio MS, além de mais potássio e um alto nível de íons sulfato, tendo sido amplamente utilizado para a micropropagação de espécies lenhosas (Pasqual, 2001).

Segundo Souza (2003), dependendo da espécie, não há necessidade de suplementação do meio com sacarose. Porém, pode ser que, ao se adicionar sacarose ao meio de cultura, consiga-se manter a plântula *in vitro* por um período de tempo maior.

De acordo com George (1996), a cultura de tecidos, além de permitir a propagação de espécies com problemas de propagação convencional, possibilita a obtenção de plantas isentas de viroses e de clones mais produtivos, a preservação e o intercâmbio de germoplasma e a realização de estudos envolvendo biologia molecular.

3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBUQUERQUE, U. P. (Ed.). Etnobotânica para a conservação e uso sustentável da biodiversidade. In: CONGRESSO NACIONAL DE BOTÂNICA, 53., Recife. **Anais...** Recife: UFRPE, 2002 p. 244-246.

ALMEIDA, C. F. C. B.; ALBUQUERQUE, U. P. Uso e conservação de plantas e animais medicinais no estado de Pernambuco: um estudo de caso no Agreste. **Interciência**, Caracas, v. 26, n. 6, p. 276-285, nov./dic. 2002

AMORIM, I. L. **Morfologia de frutos, sementes, germinação, plântulas e mudas de espécies florestais da região de Lavras-MG**. 1996. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.

AUSTIN, D. F. Studies of the Florida Convolvulaceae - II. *Merremia*. **Florida Scientist**, Boca Raton, v. 42, n. 4, p. 216-222, 1979.

BARROSO, D. Q. **Qualidade de mudas de *Eucalyptus camaldulensis* e *E. urophylla* produzidas em tubetes e em blocos prensados com diferentes substratos**. 1999. 79 f. Tese (Doutorado em Produção Vegetal) - Universidade Estadual do Norte Fluminense, Campos dos Goytacazes.

BARROSO, G. M. **Sistemática de angiospermas do Brasil**. Viçosa, MG: UFV, 1991. v. 3, p. 74-87.

BARROSO, G. M. **Sistemática de Angiospermas do Brasil**. São Paulo: EDUSP, 1978. v. 1, 255 p.

BELTRATI, C. M. **Morfologia e anatomia de sementes**. Rio Claro: UNESP, 1994. 108p.

BELTRATI, C. M. **Morfologia e anatomia de sementes**. Rio Claro: UNESP, 1990. 100p.

BIODIVERSITAS: **Áreas prioritárias para conservação da flora de Minas Gerais**. Disponível em: <<http://www.biodiversitas.or.br/noticias/>>. Acesso em: mar. 2007.

CALIXTO J. B. Efficacy, safety, quality control, marketing and regulatory guidelines for herbal medicines (phytotherapeutic agents). **Brazilian Journal and Biological Research**, São Paulo, v. 33, n. 2, p. 179-189, Feb. 2000.

CARDOSO, V. J. M. Dormência: estabelecimento do processo. In: FERREIRA, A. G.; BORGHETTI, F. (Org.). **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, 2004. p. 95-108.

CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. 4. ed. Jaboticabal: Funep, 2000. 588 p.

CRAGG, G. M.; SCHEPARTZ, S. A.; SUFFNESS, M.; GREVER, M. R. The taxol supply crisis: New NCI policies for handling the lager- scale production of novel natural product anticancer and anti – HIV agents. **Journal Natural Products**, Bethesda, v. 56, n; 10, p. 1657-1668, Oct. 1993.

CUSTÓDIO, C. C.; MACHADO NETO, N. B.; ITO, H. M.; VIVAN, M. R. Efeito da submissão em água de sementes de feijão na germinação e no vigor. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 24, n. 2, p. 49-54, 2002.

FACHIM, E.; GUARIM, V. L. M. S. Conservação da biodiversidade: espécie da flora de Mato Grosso. **Acta Botânica Brasileira**, São Carlos, v. 9. n. 2, p.281-287, maio/ago. 1995.

FELLOWS, L. E. Pharmaceuticals from traditional medical plants and other: Future prospects: In: COOMBERS, J. D. (Ed.). **New drugs from natural sources**. London: IBC, 1992.

FERREIRA, R. A.; BOTELHO, S. A.; DAVIDE, A. C.; MALAVASI, M. M. Morfologia de frutos, sementes, plântulas e plantas jovens de *Dimorphandra mollis* Benth. – faveira (Leguminosae – caesalpinioideae). **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 24, n. 3, p.303-309, jul./set. 2001.

FLISCHER F & MONTARI, C. A. Química medicinal: contribuição e perspectiva no desenvolvimento da farmacoterapia. **Química Nova**, São Paulo, v. 18, n. 1, p. 56-64, jan./fev. 1995.

GEORGE, E. F. **Plant propagation by tissue culture: part 1: the technology**. Edington: Exegetics, 1996. 574 p.

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/CNPH, 1998. v. 1, p. 183-260.

GUARIM NETO, G.; SANTANA, S. R.; SILVA, J. V. B. Notas etnobotânicas de espécies de Sapindaceae Jussieu. **Acta Botanica Brasilica**, São Paulo, v. 14, n. 3, p. 167-170, set./dez. 2000.

GUERRA, M. P.; NODARI, R. O. Biodiversidade: Aspectos biológicos, geográficos, legais e éticos. In: SIMÕES, C.M.O. et al.(Org.). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Porto Alegre: UFRGS/UFSC, 2003.

HALLIER, H. J. G. Versuch einer naturlichen gliederung der Convolvulaceae. **Botanische Jahrbucher fur Systematik**, Leipzig, v. 16, p. 479-591, 1893.

HOSTETTMANN, K.; QUEIROZ, E. F.; VIEIRA, P. C. **A importância das plantas medicinais: princípios ativos de plantas superiores**. São Carlos: EdUFSCar, 2003. (Série de textos da Escola de Verão em Química, 4)

LABORIAU, L. G.; MARQUES VÁLIO, I. F.; SALGADO LABORIAU, M. L.; HANDRO, W. Nota sobre a germinação de sementes em plantas de cerrados em condições naturais. **Revista Brasileira de Biologia**, Rio de Janeiro, v.23, n.3, p.227-237, set. 1963.

LIU, J. Oleanolic acid and ursolic: Research perspectives. **Journal of ethnopharmacology**, Clare, v. 100, n.92-94, Aug. 1995.

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.

KAPLAN, M. A. C.; FIGUEIREDO, M. R.; GOTTLIEB, O. R. Chemical diversity of plants from Brazilian Cerrados. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, v. 66, p. 50-55, 1994. Supl. 1 - parte I.

MANICA, I.; ICUMA, I. M.; JUNQUEIRA, K. P.; OLIVEIRA, M. A. S.; CUNHA, M. M. da; OLIVEIRA JR, M. E. de; JUNQUEIRA, N. T. V.; ALVES, R. T. **Frutas anônimas: ata ou pinha, atemóia, cherimóia e graviola**. Tecnologia de produção, pós-colheita e mercado. Porto Alegre: Cinco Continentes, 2003. 596 p.

MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Piracicaba: FEALQ, 2005. 495 p.

MEISSNER, C. F. Convolvulaceae. In: MARTIUS, C. P. F.; EICHLER, A.G. (Ed.). **Flora brasiliensis**. Lipsiae. [S.l.]: Monachii, 1869

MENDONÇA, M. P.; LINS, L. V. (Org.). **Lista vermelha das espécies ameaçadas de extinção da flora de Minas Gerais**. Belo Horizonte: Fundação Biodiversitas/Fundação Zoo-Botânica, 2000

MORAES, C. A.; MÓDOLO, V. A. ; CASTRO, P. R. C. Fisiologia da germinação e dominância apical. In: CASTRO E CAMARGO, P. R. E; SENA, J. O. A.; KLUGE, R. A. (Org.). **Introdução a fisiologia do desenvolvimento vegetal**. Maringá: Eduem, 159-178. 2001.

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

OLIVEIRA, E. C. Morfologia de plântulas florestais. In: AGUIAR, I. B.; PINÃ-RODRIGUES, F. C. M.; FIGLIOLIA, M. B.(Coord.). **Sementes florestais tropicais**. Brasília: ABRATES, 1993. p.175-214.

OVESNÁ, Z; KOZICS, K; SLAMENOVA, D. Protective effects of ursolic acid and oleanolic acid in leukemic cells. **Mutation Research**, Amsterdam, v. 600, n. 1-2, p. 131-137, Aug. 2006.

PASQUAL, M. **Textos acadêmicos: meios de cultura**. Lavras: FAEPE/UFLA, 2001. 127 p.

PESCHEL, S.; FRANKE, R.; SCHEIBER, L.; KNOCHER, M. Composition of the cuticle of developing sweet cherry fruit. **Phytochemistry**, Oxford, v. 68, n. 7, p. 1017-1025, Apr. 2007.

RATTER, J. A.; RIBEIRO, J. F.; BRIDGEWATER, S. The brazilian cerrado vegetation and threats to its biodiversity. **Annals of Botany**, London, v. 80, n. 3, p. 223-230, Sept. 1997.

RODRIGUES, V. E. G.; CARVALHO, D. A. **Plantas medicinais no domínio dos cerrados**. Lavras: UFLA, 2001. 180p

SANTOS JÚNIOR, H. M. **Estudos fitoquímicos das folhas de *Merremia tomentosa* (Choisy) Hall.F.(Convolvulacea) *Sabicea brasiliensis* Wern,**

(**Rubiaceae**) e *Heteroptery brysonimifolia*. 2007. 359p. Dissertação (Mestrado em Agroquímica e Agrobioquímica). Universidade Federal de Lavras, Lavras.

SARAVANAN, R.; PUGALENDI, V. Impacto of ursolic acid on chronic ethanol induced oxidative stress in the heart. **Pharmacological Reports**, Krakow, v. 58, n. 1, p. 41-47, Jan./Feb. 2006.

SILVA, M. C.; CARVALHO, J. C. T. Plantas Medicinais: In: CARVALHO, J. C. T. **Fitoterápicos. Antiinflamatórios. Aspectos químicos, farmacológicos e aplicações terapêuticas**. Ribeirão Preto: Tecmedd, 2004. 480 p.

SILVA, S. R.; BUITRÓN, X.; OLIVEIRA, L. H.; MARTINS, M. V. M. **Plantas Medicinais do Brasil** : aspectos gerais sobre legislação e comércio. Quito: TRAFFIC América do Sul, 2001.

SOUZA, A. V. de. **Propagação in vitro e aspectos anatômicos de arnica [Lychnophora pinaster (Mart.)]**. 2003. 126 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.

SOUZA-SILVA, J. C. S.; RIBEIRO, J. F.; FONSECA, C. E. L. da; ANTUNES, N.B. Germinação de sementes e emergência de plântulas de espécies arbóreas e arbustivas que ocorrem em Matas de Galeria. In: RIBEIRO, J. F.; FONSECA, C. E. L. da; SOUZA-SILVA, J.C. (Ed.). **Cerrado**: caracterização e recuperação de matas de galeria. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2001. Cap. 10, p. 379-422.

SOUZA, V. C.; LORENZI, H. **Botânica sistemática**: guia ilustrado para identificação das famílias Angiospermas da flora brasileira, baseado em APG II/ Nova Odessa: Plantarium, 2005. 640 p.

YUNES R. A.; CECHINEL FILHO, V. Breve análise histórica da Química de Plantas Medicinais: sua importância na atual concepção de fármaco segundo os paradigmas Ocidental e Oriental: In: YUNES, R. A.; CALIXTO, J. B. **Plantas medicinais sob a ótica da química medicinal moderna**. Chapecó: Argus, 2005. 20medium for rapid growth and bioassays with tabaco tissue culture. **Physioly Plant.**, 15: 473-97. 1962.

CAPÍTULO II

DESCRIÇÃO MORFO-ANATÔMICA DE *Merremia*

***tomentosa* (Choisy) Hall.**

1 RESUMO

CENTOFANTE, Agda Rabelo. Descrição morfo-anatômica de *Merremia tomentosa* (Choisy) Hall. In: _____ **Descrição morfo-anatômica e germinação de *Merremia tomentosa* (Choisy) Hall.** 2008. Cap.2, p. 22-44. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Fisiologia Vegetal) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG. *

Descreveram-se os aspectos morfo-anatômicos de *Merremia tomentosa* (Choisy) Hall., planta nativa dos cerrados e campos rupestres, a qual é utilizada, na medicina popular, como depurativo do sangue. Os frutos foram coletados na Serra do Macaia, município de Lavras, MG, de fevereiro de 2007 a abril de 2008 e foram conduzidos ao Laboratório de Crescimento e Desenvolvimento de Plantas do Departamento de Biologia da Universidade Federal de Lavras (UFLA), em Lavras, MG. As sementes foram retiradas dos frutos manualmente e colocadas para germinar utilizando uma câmara de germinação tipo BOD com temperatura de 25°C, 100% de UR e fotoperíodo de 12 horas. Para os estudos anatômicos, as plântulas foram coletadas com 35 dias de idade, oriundas da germinação e fixadas em FAA₇₀, por 72 horas, transferidas para álcool 70 GL°. As lâminas foram preparadas e coradas com azul de astra-safranina. Foram observadas e documentadas com auxílio de câmara digital Canon A630 acoplada a um fotomicroscópio Olympus modelo BX 60. Foram descritos os aspectos morfológicos da germinação da semente, da plântula com 16 e 30 dias, e da planta na fase adulta. Da planta adulta descreveram-se, morfológicamente, o hábito, o caule, as folhas, a flor, a bráctea, a corola, as pétalas, o cálice, as sépalas, o androceu, os estames, o gineceu, os carpelos, o fruto e as sementes. Na anatomia, foram realizados cortes transversais da folha, caule e raiz da plântula de *M. tomentosa*. Pelos resultados obtidos, concluiu-se que, pelos estudos morfo-anatômicos, é um subarbusto de caule ereto, cilíndrico; folhas simples, peninérveas, tricomas tectores pluricelulares de filotaxia alternada, flores solitárias, axilares, pentâmeras; bráctea reduzida com protuberâncias nas quais há a presença de tricomas estrelares; cálice dialissépalo, pentâmero, sépalas pequenas, desiguais entre si, sendo duas menores e três maiores; corola gamopétala, pentâmera de coloração branca; androceu com cinco estames; gineceu bicarpelar, de ovário súpero, bilocular, de estilete terminal, com dois estigmas fundidos subglobosos; fruto tipo cápsula normalmente regular com quatro valvas, às vezes irregular com duas ou três valvas, de coloração que varia de castanho-pardo a castanho-avermelhado, quando maduros de deiscência

* Comitê Orientador: Evaristo Mauro de Castro (Orientador), Valéria Evangelista Gomes Rodrigues (Co-orientadora).

tardia e irregular; sementes de coloração preta, recobertas por tricomas tectores pluricelulares, embrião com dois cotilédones foliáceos, verdes e dobrados em labirinto e sua germinação é epígea. Observou-se que as epidermes da face abaxial e adaxial são unisseriadas, ambas com tricomas tectores pluricelulares estrelares, e o mesofilo possui uma organização dorsiventral, hipoestomática, com uma ou duas camadas de células no parênquima paliçádico e duas ou três camadas de células no parênquima esponjoso e a presença de cavidades secretoras entre eles. Não foi possível estabelecer a origem dessas cavidades, sendo possivelmente lisígenas.

2 ABSTRACT

CENTOFANTE, Agda Rabelo. Morpho-anatomical description of *Merremia tomentosa* (Choisy) Hall. **In:_____Morpho-anatomical description and germination of *Merremia tomentosa* (Choisy) Hall.** 2008. Chap.2, p. 22-44. Dissertation (Master in Agronomy/Plant Physiology) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG. *

The morpho-anatomical aspects of *Merremia tomentosa* (Choisy) Hall., a plant native of the cerrados and rupestrian fields, which is utilized, in folk medicine as a blood depurative, were reported. The fruits were collected on the Serra do Macaia (macaia Range), Lavras town, MG, from February of 2007 to April of 2008 and were led into the Plant Growth and Development Laboratory of the Biology Department at the Universidade Federal de Lavras (UFLA), in Lavras, MG. The seeds were taken manually out of fruits and placed to germinate by utilizing a type BOD germination room at the temperature of 25°C, 100% of RH and 12-hour photoperiod. For the anatomical studies, the seedlings were collected 35 days old, coming from germination and fixed in FAA for 72 hours, transferred to 70 GL ° alcohols. The slides were prepared and stained with astra-safranine blue. They were observed and documented with the aid of a Canon A630 digital camera coupled to an Olympus model BX 60 photomicroscope. The morphologic aspects of germination of the seed of the seedling 16 and 30 days old and of the plant in the adult phase were reported. From the adult plant, the habit, the stem, the leaves, the flower, the bract, the corolla, the petals, the calyx the sepals, the androecium, the stamens, the o gynoecium, the carpels, the fruit and the seeds were reported morphologically. In the anatomy, cross sections of the leaf, stem, and of the root of the seedling of *M. tomentosa* were performed. From the results obtained, it follows that, by the anatomical studies, it is a subbrush of upright, cylindrical stem, simple penninerveous leaves, pluricelular tector trichomes of alternate phylotaxia, axillary, pentamerous single flowers; reduced bract with protuberances in which there is the presence of stellar trichomes; pentamerous dyalisedalous calyx, small sepals, unequal between each other, two being smaller and three being larger; pentamerous gamopetalous corolla of white coloration; androecium with five stamens; bicarpelar gynoecium of bilocular supero ovary, of terminal style, with two subglobous fused stigmas; fruit type capsule normally regular with four

* Guidance Committee: Evaristo Mauro de Castro (Adviser), Valéria Evangelista Gomes Rodrigues (Co-adviser).

valves, sometimes irregular with two or three valves, of coloration ranging from dull brown to reddish brown, when ripe of late and irregular dehiscence; black-colored seeds, covered with pluricellular tector trichomes, embryo with two green and folded into labyrinth leafy cotyledons and its germination is epigeous. It was found that the epidermises of the abaxial and adaxial face are uniseriate, both with stellar pluricellular tector trichomes, and the mesophyll possesses a hypostomatal dorsiventral arrangement with one or two layers of cells in the palisade parenchyma and two or three layers of cells in the spongy parenchyma and the presence of secreting cavities among them. It was not possible to establish the origin of those cavities, their being possibly lysigen.

3 INTRODUÇÃO

Além das espécies vegetais amplamente cultivadas em diversas regiões do planeta, há, ainda, muitas silvestres, e mesmo cultivadas, que se restringem a determinadas regiões, mas que podem também trazer importantes contribuições, em especial, à saúde e à economia local.

Segundo Barreto & Hiruma-Lima (2002), as plantas medicinais são forte componente social e cultural, especialmente em países em desenvolvimento e subdesenvolvidos, onde elas são importante alternativa para a solução de problemas de saúde.

A família Convolvulaceae tem distribuição principalmente tropical com representantes em climas subtropicais e temperados (Barroso et al., 1986).

No Brasil, Meissner (1869) reconheceu 312 espécies da família Convolvulaceae, que ocorrem nas mais diversas formações vegetais. O gênero *Merremia* Dennst., de acordo com Austin (1979), tem distribuição tropical e subtropical com mais de 60 espécies no planeta e pelo menos 30 delas são encontradas no Novo Mundo. Um dos trabalhos taxonômicos mais completos do gênero é a revisão feita por O'Donell (1959) para as espécies americanas, tratando de 28 espécies.

O gênero *Merremia*, no Brasil, possui 15 espécies de acordo com levantamentos realizados em herbários e literaturas específicas. No estado da Bahia, foram encontrados os seguintes táxons: *Merremia aegyptia* (L.) Urban, *M. cissoides* (Lam.) Hall. f., *M. digitata* (Spreng.) Hall. f. var. *digitata*, *M. digitata* var. *ericoides* (Meissn.) Austin & Staples, *M. dissecta* (Jacq.) Hall. f. var. *edentata* (Meisn.) O'Donell, *M. flagellaris* (Choisy) O'Donell, *M. macrocalyx* (Ruiz et Pav.) O'Donell, *M. tomentosa* (Choisy) Hall. f. e *M. umbellata* (L.) Hall. f.

Merremia tomentosa (Choisy) Hall., planta pertencente à família Convolvulaceae, conhecida popularmente como velame-do-campo, é utilizada na medicina popular como depurativo do sangue na forma de infusão de seus ramos contendo folhas e flores (Rodrigues, 2001; Souza & Lorenzi, 2005).

Segundo Beltrati (1992), as estruturas morfológicas e anatômicas são muito importantes para a identificação de sementes na agricultura, na horticultura como também na paleobotânica, na arqueologia e na fitopatologia.

Os trabalhos relativos à descrição da morfologia de plântulas têm recebido atenção já há algum tempo, seja como parte de estudos morfo-anatômicos ou com a finalidade de ampliar o conhecimento sobre determinada espécie ou grupo sistemático, visando ao reconhecimento e à identificação de plantas de uma determinada região, sob o aspecto ecológico (Oliveira, 1993).

Dentro deste contexto e, ainda, sabendo-se do pouco conhecimento em relação à descrição morfológica e anatômica da maioria de espécies nativas do Brasil, este estudo foi realizado com o objetivo de obter conhecimentos sobre a morfo-anatomia de *Merremia tomentosa* (Choisy) Hall. Esta espécie é utilizada na medicina popular como depurativo do sangue (Rodrigues, 1998; Carvalho & Rodrigues, 2005) e promissora por sua atividade antimicrobiana, por meio do ácido ursólico (Santos Júnior, 2007), para que futuros procedimentos de manejo da semente, visando viabilizar a propagação desta espécie, possam ser desenvolvidos.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Local de coleta

O material botânico foi coletados ao Sul do estado de Minas Gerais, na microrregião do Alto Rio Grande, município de Lavras (573 km²), na Serra do Macaia, à altitude aproximada de 1.000m.

A região apresenta vegetação bem diversificada, com formações florestais constituídas por prolongamentos da Floresta Atlântica através do Planalto Central; formações campestres (cerrado propriamente dito, campo sujo, campo limpo, campo rupestre e campo de várzea) e formações antrópicas (capoeirões, capoeiras e campos antrópicos), formando um mosaico vegetacional muitas vezes devastado ou com pouca conservação. Os campos cerrados constituem a fisionomia predominante na região nas cotas de 900m de altitude, dando lugar aos campos rupestres e de altitude nas cotas mais elevadas. As florestas semidecíduas ocorrem em fragmentos localizados nas margens dos cursos d'água, nas depressões entre elevações, em ondulações com solo de melhor qualidade e em topos de morros (Rodrigues, 2001).

O clima na região é tropical de altitude, com temperaturas médias anuais variando de 19° a 21°C e precipitação média anual entre 1.200-1.500mm (Queiroz et al., 1980).

Dentre os solos que ocorrem na região, no município de Lavras predominam (das partes mais elevadas em direção aos rios): Solos Litólicos, Cambissolos, Podzólicos Vermelho-Amarelos, Latossolos Vermelho-Amarelos, Solos Hidromórficos e Solos Aluviais (Curi, 1990).

A coleta de material botânico teve início em fevereiro de 2007 e finalizou em abril de 2008, por meio de visitas quinzenais, de acordo com a disponibilidade de frutos da espécie *Merremia tomentosa*.

4.2 Material para descrição morfológica

Os frutos coletados foram conduzidos ao Laboratório de Crescimento e Desenvolvimento de Plantas, no Departamento de Biologia (DBI) da UFLA. As sementes foram retiradas dos frutos manualmente e colocadas para germinar em caixas plásticas “gerbox”, distribuídas sobre duas folhas de papel toalha (Germitest®), previamente umedecido em água destilada na razão de 2,5 vezes a massa do papel seco e em caixa “gerbox” contendo areia autoclavada, com 1 cm de profundidade. Utilizou-se uma câmara de germinação tipo BOD, com temperatura de 25°C, 100% de UR e fotoperíodo de 12 horas.

Para as fotos ilustrativas utilizou-se a câmara digital Canon A630.

4.3 Material para descrição anatômica

Microscopia de luz (ML)

As amostras utilizadas para a descrição anatômica foram oriundas da germinação realizada no Laboratório de Crescimento e Desenvolvimento de Plantas e levadas para o Laboratório de Anatomia Vegetal, ambos no DBI/UFLA.

As plântulas foram coletas com 35 dias de idade, fixadas em FAA₇₀ por 72 horas, transferidas para álcool 70 GL° (Jonhansen, 1940) para a conservação. Para a confecção das lâminas, secções transversais foram realizadas à mão livre; as secções na raiz foram realizadas a 4 cm da ponta; no caule, as secções foram realizadas entre o primeiro e o segundo nós e a folha foi seccionada na porção mediana. As secções foram clarificadas em solução a 50% de hipoclorito de sódio por 15 minutos, sendo, em seguida, lavadas em água destilada por 15 minutos. Depois, foram coradas com azul de astra-safranina, por 5 segundos, lavadas em água destilada e montadas em glicerina 50%. As lâminas foram observadas e documentadas com auxílio de câmara digital Canon A630 acoplada a um fotomicroscópio Olympus modelo BX 60.

5 RESULTADOS

5.1 Descrição morfológica de *Merremia tomentosa* (Choisy) Hall.

Subarbusto pequeno, medindo de 40-90cm, densíssimo tomentoso, de coloração prata-esbranquiçada, denso folioso (figura 1); de caule ereto ou, mais raramente, subereto, cilíndrico, densíssimo-tomentoso, pubescência diminuta, de coloração prata-esbranquiçada na base dos ramos e suavemente mais amarelada no ápice (Figura 2); folhas simples, brevíssimo pecioladas, de base obtusa, oblonga ou oblonga-lanceoladas, de ápice agudo ou, mais raramente, levemente mucronado, bordo do limbo inteiro, penínérveas, com nervuras discretas na face ventral e salientes na dorsal, levemente rugosas, densíssima-tomentosas nas duas faces, tricomas tectores pluricelulares, de coloração prata-esbranquiçado, de filotaxia alterna (Figura 3); flores solitárias, axilares, vistosas, curto-pedunculadas, pentâmeras, actinomorfas, diclamídeas, metaclamídeas, andróginas (Figura 4); bráctea reduzida, com protuberâncias; em cada protuberância há tricomas estrelares; cálice dialissépalo, pentâmero, de pré-floração imbricada, sépalas pequenas, entre 0,8-1,1cm de comprimento, desiguais entre si, sendo duas menores e três maiores, levemente obovadas, de ápice retuso ou mais raramente obtuso, herbáceas quando jovens, membranáceas ou mais raramente subcoriáceas quando adultas, acrescentes, de coloração verde pálido (Figura 5); corola gamopétala, pentâmera, de pré-floração valvar, plicada, infundibuliforme, de coloração branca, entre 2,3-2,7cm de comprimento por 1,7-2,1cm de diâmetro (Figura 5 e 6); androceu com cinco estames, isostêmone, com estames heterodínamos, epipétalos, exsertos, com anteras rimosas, dorsifixas (Figura 7 e 8); gineceu bicarpelar, de óvário súpero, bilocular, com 1 óvulo por lóculo, de estilete terminal, com dois estigmas fundidos subglobosos, com superfície verrucosa; com disco anular nectarífero saliente (Figura 9 e 10); fruto tipo cápsula septífraga, normalmente regular, com quatro valvas, às vezes

irregular com duas ou três valvas, pequenos, variando em média 1,2-1,5cm de comprimento por 1,3-1,5cm de largura, de coloração que varia de castanho-pardo a castanho-avermelhado quando maduros, de deiscência tardia e irregular, de pericarpo fino, algo que papiráceo (Figura 11, 12 e 13); sementes escuras, de coloração variando de castanho muito escuro a preto, recobertas tricomas tectores pluricelulares, não-aladas, sem arilo ou arilóide, angulosas, pequenas, variando, em média, de 0,5-0,7mm de comprimento por 0,2-0,3mm de largura, em número reduzido, de 2-4 sementes por fruto, com o dorso convexo e face ventral carenada, de hilo bem estruturado e circular (Figura 14); embrião com dois cotilédones foliáceos, amplos, verdes, dobrados em labirinto.

Na área de estudo, a espécie *M. tomentosa* foi encontrada, principalmente, nas fisionomias de cerrado propriamente dito e de campo rupestre de altitude.



FIGURA 1: Subarbusto de *M. tomentosa* com 80cm de altura. UFLA, Lavras, MG, 2008.



FIGURA 2: Ramos de *M. tomentosa*. UFLA, Lavras, MG, 2008.



FIGURA 3: Folhas de *M. tomentosa*. UFLA, Lavras, MG, 2008.



FIGURA 4: Flor de *M. tomentosa*. UFLA, Lavras, MG, 2008.



FIGURA 5: Vista lateral do cálice e da corola da flor de *M. tomentosa*. UFLA, Lavras, MG, 2008.



FIGURA 6: Vista frontal da corola da flor de *M. tomentosa*. UFLA, Lavras, MG, 2008.



FIGURA 7: Estames heterodínamos da flor de *M. tomentosus*. UFLA, Lavras, MG, 2008

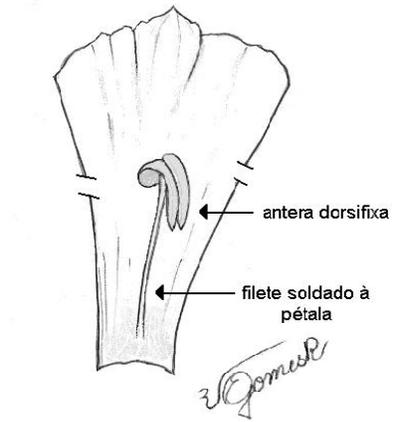


FIGURA 8: Esquema morfológico de um estame da flor de *M. tomentosus*. UFLA, Lavras, MG, 2008



FIGURA 9: Estigmas fundidos subglobosos da flor de *M. tomentosus*. UFLA, Lavras, MG, 2008

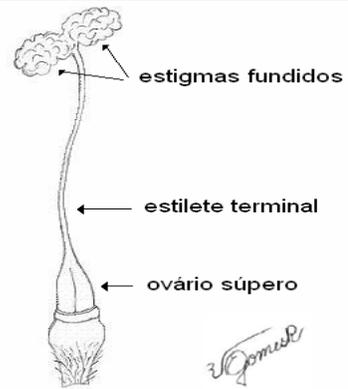


FIGURA 10: Esquema morfológico do gineceu da flor de *M. tomentosus*. UFLA, Lavras, MG, 2008



FIGURA 11: Vista lateral de um fruto jovem de *M. tomentosa*. UFLA, Lavras, MG, 2008

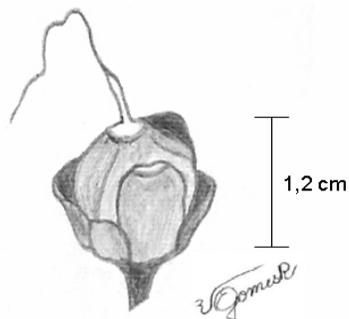


FIGURA 12: Prancha morfológica de um fruto jovem, ainda com vestígios carpelares, de *M. tomentosa*. UFLA, Lavras, MG, 2008



FIGURA 13: Vista basal do fruto maduro de *M. tomentosa*, com o cálice retirado. UFLA, Lavras, MG, 2008



FIGURA 14: Sementes jovens e amadurecidas de *M. tomentosa*. UFLA, Lavras, MG, 2008.

5.1.2 Aspectos morfológicos da germinação

A germinação (Figura 15-A) tem início com a protrusão da raiz primária, a partir do 3º dia da sementeira, na base da semente, próximo ao hilo e de coloração esbranquiçada. Alonga-se rapidamente, sendo sinuosa, cilíndrica, espessa, glabra e tenra; raízes secundárias curtas e finas, sinuosas, tenras e esbranquiçadas. Raízes com pelos simples, curtos e translúcidos. Cotilédones soldados, forçando o rompimento do tegumento até a completa remoção, passam à coloração verde, foliáceos, amplos, dobrados em labirinto, com ápice arredondado, base auriculada e bordo inteiro; quando completamente abertos, apresentam-se opostos. Tegumento com profundas rachaduras em função da hidratação permanece aderido aos cotilédones até libertarem-se completamente (Figura 16). Hipocótilo apresenta rápido alongamento, inicialmente curvado, posteriormente reto, cilíndrico, longo, espesso, de consistência herbácea, de coloração esverdeada na região apical próximo à inserção dos cotilédones e esbranquiçada na região basal, com presença de pêlos simples, curtos e finos (Figura 17). A germinação é epígea.



FIGURA 15. Aspectos da germinação de *M. tomentosa*: A - protrusão da radícula; B e C - tegumento aderido aos cotilédones. UFLA, Lavras, MG, 2008.

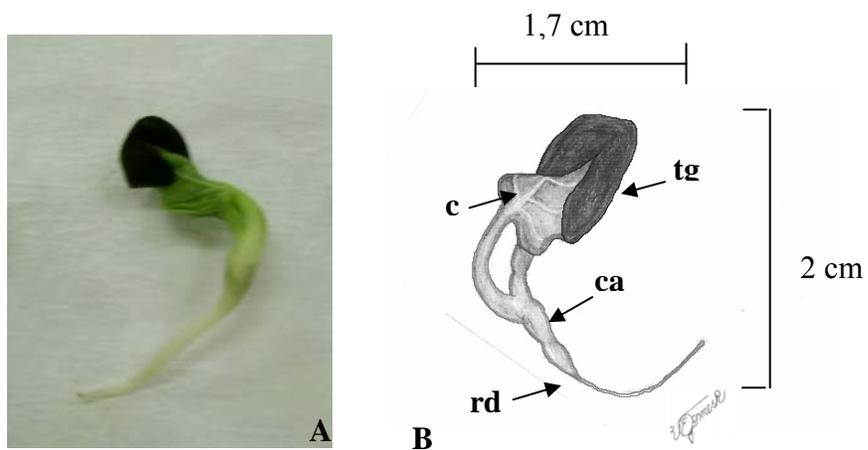


FIGURA 16: Aspectos morfológicos da germinação de *M. tomentosa*, aos 10 dias, sendo: **A** - foto ilustrativa e **B** - prancha morfológica, sendo **c** = cotilédone, **ca** = caulículo, **rd** = radícula e **tg** = tegumento. UFLA, Lavras, MG, 2008.

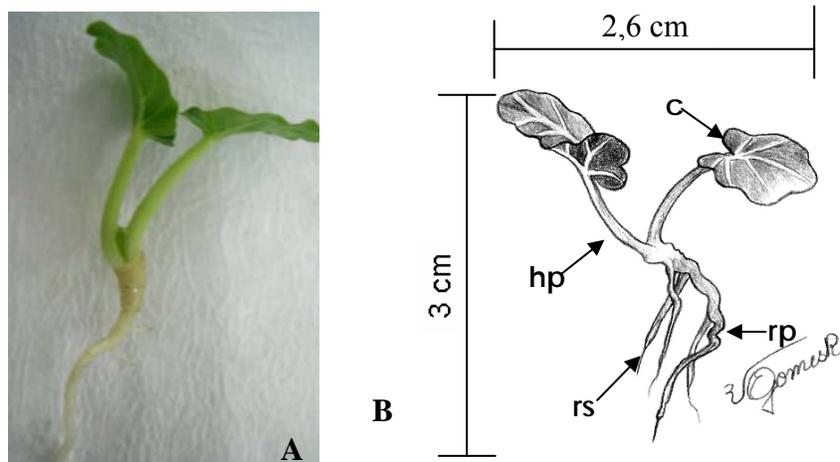


FIGURA 17: Aspectos morfológicos da plântula de *M. tomentosa*, aos 16 dias, sendo: A - foto ilustrativa e B - prancha morfológica, sendo **c** = cotilédone, **hp** = hipocótilo, **rp** = raiz primária, **rs** = raiz secundária. UFLA, Lavras, MG, 2008.

5.1.3 Aspectos morfológicos das plântulas

A plântula (Figura 18) apresenta raiz principal axial, longa, sinuosa, cilíndrica, de coloração branca, de consistência tenra, tornando-se lenhosa. As raízes secundárias são finas, tenras, cilíndricas, da mesma coloração da raiz principal. As raízes apresentam tricomas simples, translúcidos, somente perceptíveis quando vistos no microscópio óptico. Hipocótilos longos, retos, fino, cilíndricos, lisos, de consistência herbácea e de cor verde-clara, com uma camada de tricomas simples, muito pequenos, brancos. Cotilédones opostos, foliáceos, amplos, com ápice arredondado, base auriculada e bordo inteiro. Folhas simples, brevíssimo pecioladas, de base obtusa, oblonga ou oblonga-lanceoladas, de ápice agudo ou, mais raramente, levemente mucronado, bordo do limbo inteiro, peninérveas, com nervuras discretas na face ventral e salientes

na dorsal, levemente rugosas, densíssima-tomentosas nas duas faces, tricomas estrelares, de coloração prata-esbranquiçado, de filotaxia alterna.

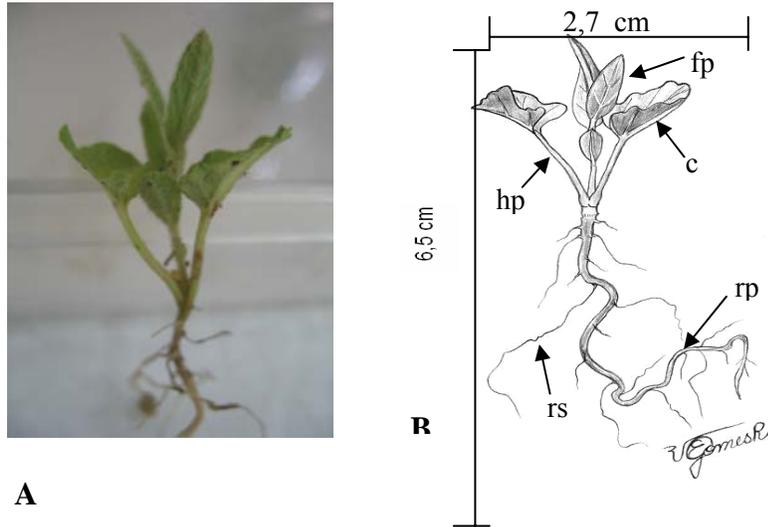


FIGURA 18: Aspectos morfológicos da plântula *M. tomentosa* 30 dias após germinação. A - foto ilustrativa e B - prancha morfológica, sendo fp = folhas permanentes, c = cotilédone, hp = hipocótilo, rp = raiz principal, rs = raiz secundária. UFLA, Lavras, MG, 2008.

5.2 Descrição anatômica da plântula

1 Raiz

Na raiz em estrutura primária, observa-se epiderme unisseriada. O córtex apresenta exoderme, cavidade secretora e endoderme apresentando estrias de caspary. Em relação ao cilindro vascular, apresenta periciclo unisseriado, quatro pólos de protoxilema e quatro pólos de protofloema.

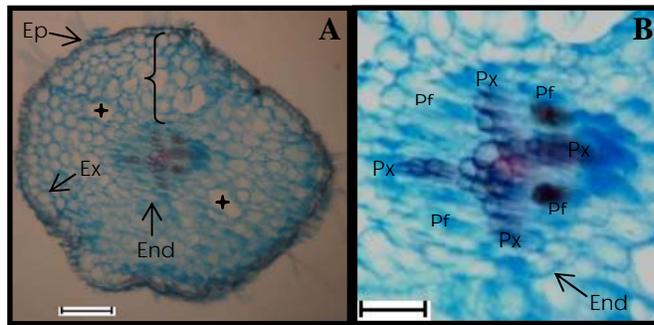


FIGURA 19 – Secções transversais da raiz de *M. tomentosa*. A: visão geral, B: detalhe do cilindro central. Legenda: Ep = epiderme; Chave = córtex; Estrela = cavidade secretora; Ex = exoderme; End = endoderme; C.C = cilindro central; Pf = protofloema; Px = protoxilema. Barra = 50 µm. UFLA, Lavras, MG, 2008.

2 Caule

O caule apresenta estrutura de eustelo típico, epiderme unisseriada com tricomas tectores pluricelulares estrelares, o córtex apresenta colênquima angular, cavidades secretoras. O feixe vascular é colateral aberto, em que se observou a formação do primeiro anel anual, caracterizando o início da estrutura secundária.

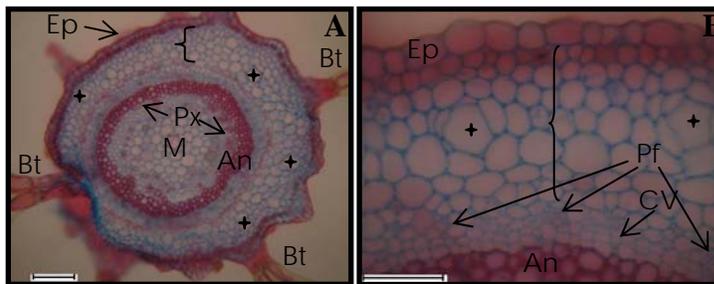


FIGURA 20 – Secções transversais do caule de *M. tomentosa*. A: visão geral, B: detalhe do córtex. Legenda: Ep = epiderme; Chave = córtex; Estrela = cavidade secretora; M = medula; Pf = protofloema; Px = protoxilema; CV= câmbio vascular; An = 1º anel anual; Bt = base de tricoma. Barra = 50 µm. UFLA, Lavras, MG, 2008.

3. Folha

A lâmina foliar apresenta organização dorsiventral com estômatos dispostos apenas na epiderme da face abaxial (hipoestomática). As epidermes da face abaxial e adaxial são unisseriadas e ambas apresentam tricomas tectores pluricelulares estrelares, como observado no caule. O mesofilo apresenta de uma a duas camadas de células no parênquima paliçádico e de duas a três camadas de células no parênquima esponjoso. Observou-se a presença de cavidades secretoras entre o parênquima paliçádico e o esponjoso, semelhante à cavidade observada no córtex da raiz e no córtex do caule. Como não foram realizados estudos ontogênicos, não é possível estabelecer a origem dessas cavidades, possivelmente lisígena.

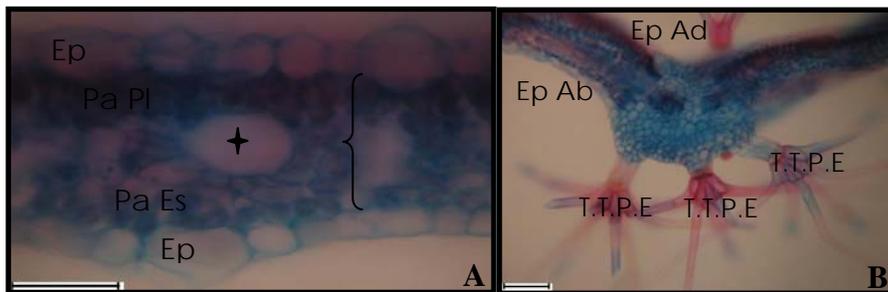


FIGURA 21 – Secções transversais da folha de *M. tomentosa*. A: detalhe do mesofilo, B: detalhe da Medula central. Legenda: Ep Ad = epiderme da face adaxial; Pa Pl = parênquima paliçádico; Pa Es = parênquima esponjoso; Ep Ab = epiderme da face abaxial; Chave = mesofilo; Estrela = cavidade secretora; T. T. P.E = tricomas tectores pluricelulares estrelares. Barra = 50 μ m. UFLA, Lavras, MG, 2008.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

As descrições de aspectos morfo-anatômicas podem ser utilizadas em estudos taxonômicos para auxiliar na interpretação de testes de germinação realizados em laboratório, contribuir para ampliar o conhecimento sobre os métodos de produção de mudas, como também para a identificação da espécie no campo, facilitando o seu reconhecimento nos estádios iniciais do desenvolvimento.

Há a presença de tricoma tectores pluricelulares estrelares na folha e no caule, sendo esta uma característica evolutiva dessa espécie para adaptar-se ao cerrado e a campos rupestres de altitude.

Não foram encontrados, na literatura, trabalhos descritivos de morfo-anatomia de *Merremia tomentosa*. Apesar da relevância desse trabalho, ainda são poucas espécies medicinais do cerrado que apresentam sua morfo-anatomia descrita, sendo uma ferramenta indispensável para a classificação e a fisiologia de cada espécie.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AUSTIN, D. F. Studies of the Florida Convolvulaceae - II. *Merremia*. **Florida Scientist**, Boca Raton, v. 42, n. 4, p. 216-222, 1979.
- BARRETO, T.E.; HIRUMA-LIMA, C.A.. **Potencial farmacológico de um Fragmento de Mata de Galeria, Fisionomia do Bioma Cerrado, denominado Mata do Butignoli – Botucatu – SP**. Estudo monográfico – Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2002
- BARROSO, G. M.; PEIXOTO, A. L.; ICHASO, C. L. F.; COSTA, C. G.; GUIMARÃES, E. F.; LIMA, H. C. **Sistemática de angiospermas do Brasil**. v.3. Viçosa, MG: UFV, 1986.
- BELTRATI, C.M. **Morfologia e anatomia de sementes**. Rio Claro: UNESP, 1992. 108 p.
- CARVALHO, L. C.; RODRIGUES, V. E. G. Levantamento florístico de plantas medicinais nativas no domínio do campo rupestre na Reserva Florestal do Boqueirão, município de Ingaí, MG. **Pro HOMINE**, Lavras, v. 4, p. 15-25, jan./dez. 2005.
- CURI, N.; LIMA, J. M.; ANDRADE, ; GUALBERTO, V. Geomorfologia física, química e mineralogia dos principais solos da região de Lavras (MG). **Ciência e Prática**, Lavras, v.14, n.3, p.297-307, set./dez.1990.
- FLISCHER F.;MONTARI, C. A. Química medicinal: contribuição e perspectiva no desenvolvimento da farmacoterapia. **Química Nova**, São Paulo, v. 18, n. 1, p. 56-64, jan./fev. 1995.
- JONHANSEN, D. A. **Plant microtechnique**. 2. ed. New York: Mc Graw-Hill, 1940. 523p.
- MEISSNER, C. F. Convolvulaceae. In: MARTIUS, C. P. F.; EICHLER, A.G. (Ed.). **Flora brasiliensis**. Lipsiae. [S.l.]: Monachii, 1869
- O'DONELL, C.A. Las espécies americanas de *Ipomoea* L. sect. *Quamoclit* (Moench) Griseb. **Lilloa**, Tucumán. v.29, p.19-86. 1959.
- OLIVEIRA, E. C. Morfologia de plântulas florestais. In: AGUIAR, I. B.; PIÑA-RODRIGUES, F. C. M.; FIGLIOLA, M. B. (Ed.). **Sementes florestais tropicais**. Brasília: ABRATES, 1993. p.175-214

QUEIROZ, R.; SOUZA, A. G.; SANTANA, P.; ANTUNES, F. Z.; FONTES, M. **Zoneamento agroclimatológico do Estado de Minas Gerais**. Belo Horizonte: [S.l.], 1980. 114 p.

RODRIGUES, V. E. G.; CARVALHO, D. A. **Plantas medicinais no domínio dos cerrados**. Lavras: UFLA, 2001. 180 p.

RODRIGUES, V.E.G. **Levantamento florístico e etnobotânico de plantas medicinais dos cerrados na região do Alto Rio Grande, Minas Gerais**. 1998. 235 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal)-Universidade Federal de Lavras, Lavras.

SANTOS JÚNIOR, H. M. **Estudos fitoquímicos das folhas de *Merremia tomentosa* (Choisy) Hall. F.(Convolvulacea) *Sabicea brasiliensis* Werner, (Rubiaceae) e *Heteroptery brysonimifolia***. 2007. 359 p. Dissertação (Mestrado em Agroquímica e Agrobioquímica). Universidade Federal de Lavras, Lavras.

SOUZA, V. C.; LORENZI, H. **Botânica sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias Angiospermas da flora brasileira, baseado em APG II/** Nova Odessa: Plantarium, 2005. 640 p.

CAPÍTULO III

**GERMINAÇÃO *EX VITRO* DE SEMENTES DE *Merremia tomentosa*
(Choisy) Hall.: INFLUÊNCIA DA LUZ, DA TEMPERATURA E DO
SUBSTRATO**

1. RESUMO

CENTOFANTE, Agda Rabelo. Germinação *ex vitro* de sementes de *Merremia tomentosa* (Choisy) Hall.: influência da luz, da temperatura e do substrato. In: _____ **Descrição morfo-anatômica e germinação de *Merremia tomentosa* (Choisy) Hall.** 2008. Cap.3, p. 45-62. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Fisiologia Vegetal) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.*

O presente trabalho foi realizado com o objetivo de determinar a influência da luz, de substratos e de temperaturas adequados para a condução do teste de germinação de *M. tomentosa*, planta nativa do cerrado e campos rupestres, de uso medicinal. Para tanto, o teste de germinação foi realizado com sementes coletadas na Serra da Macaia, município de Lavras, MG, durante o período de dispersão, de janeiro a abril de 2008. Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Crescimento e Desenvolvimento de Plantas, no Setor de Fisiologia Vegetal do Departamento de Biologia da Universidade Federal de Lavras. Para o teor de umidade, calculado com base em massa úmida, utilizou-se uma estufa a $105\pm 3^{\circ}\text{C}$, por 24 horas, com três repetições de 1g. Para o teste de germinação, utilizaram-se dois tipos de substrato (papel mata-borrão e areia) sob diferentes regimes de temperatura (quatro faixas num gradiente de temperatura de 20° a 30°C e alternada de 20° - 30°C , em câmara tipo BOD), com 100% de UR e fotoperíodo de 12 horas. As avaliações foram feitas diariamente, em um período de trinta dias e os resultados foram expressos em porcentagem de germinabilidade, índice de velocidade de germinação, porcentagem de plântula e índice de velocidade de emergência da plântula, calculado segundo Maguire (1962). Foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado. Os dados de germinação foram transformados em arco seno $(x/100)$ 0,5 e o índice de velocidade de germinação em $(x + 0,5)^{0,5}$. Foi realizada a análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade ($p\leq 0,05$), utilizando-se o programa estatístico Sisvar. Pelos resultados obtidos, concluiu-se que as sementes têm um comportamento fotoblástico positivo. O teor de umidade foi de 56%. A temperatura baixa (20°C) compromete a germinação e a formação da plântula, mesmo quando em alternância com 30°C . Para a avaliação da qualidade fisiológica, considerando a protrusão radicular e o surgimento de plântulas normais, deve-se proceder a análise entre areia a 25°C ou sobre papel a 30°C .

* Comitê Orientador: Evaristo Mauro de Castro (Orientador), Renato Mendes Guimarães (Co-orientador).

2 ABSTRACT

CENTOFANTE, Agda Rabelo. Ex vitro germination of seeds of *Merremia tomentosa* (Choisy) Hall.: influence of light, temperature and substrate. In: _____ **Morpho-anatomical report and germination of *Merremia tomentosa* (Choisy) Hall.** 2008. Chap.3, p. 45-62. Dissertation (Master in Agronomy/Plant Physiology) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG. *

The present work was conducted with the objective of determining the influence of light, substrates and temperatures adequate for conducting the germination test of *M. tomentosa*, a plant native to the cerrado and rupestrian fields, of medicinal use. So, the germination test was carried out on seeds collected on the Macaia Range, Lavras town, MG, during the scattering period from January to April of 2008. The experiments were conducted in the Plant Growth and Development Laboratory in the Plant Physiology Sector of the Biology Department at the Universidade Federal de Lavras. For moisture content, calculated on the basis of moistened mass, an oven at $105\pm 3^{\circ}\text{C}$ was utilized for 24 hours, with three replicates of 1g. For the germination test, two sorts of substrates were utilized (blotting paper and sand) under different regimes of temperature (four ranges in a temperature gradient of 20° to 30°C and alternated of 20° - 30°C , in a type BOD cold room), with 100% of RH and 12-hour photoperiod. The evaluations were done daily in a period of thirty days and the results were expressed in percentages of germinability, germination velocity rate, percentage of seedling and seedling emergence velocity rate, calculated according to Maguire (1962). The completely randomized design was utilized. The germination data were transformed into $\arcsin(x/100)^{0.5}$ and the germination velocity rate in $(x + 0.5)^{0.5}$. The analysis of variance was performed and the means were compared by the Tukey test at 5% of probability ($p\leq 0.05$), by utilizing the Sisvar statistical program. From the results obtained, it follows that the seeds have a positive photoblastic behavior. Moisture content was of 56%. Low temperature (20°C) compromises both germination and formation of the seedling, even when in alternation with 30°C . For the evaluation of the physiological quality, considering the root profusion and the appearance of normal seedlings, one should proceed the analysis between sand at 25°C or on paper at 30°C .

* Guidance Committee: Evaristo Mauro de Castro (Adviser), Renato Mendes Guimarães (Co-adviser).

3 INTRODUÇÃO

Existe preocupação, por parte dos pesquisadores e analistas de sementes, em conduzir pesquisas que forneçam informações sobre a qualidade das sementes, semelhante àquelas obtidas por meio das prescrições das Regras para Análise de Sementes (RAS) (Brasil, 1992), referentes à condução do teste de germinação de espécies cultivadas. No entanto, um grande número de espécies nativas medicinais não está incluído nas referidas regras, sendo necessários, portanto, estudos para a avaliação dos efeitos de fatores, como luz, temperatura, água e substrato, no comportamento germinativo dessas espécies.

Merremia tomentosa (Choisy) Hall. f. (Convolvulaceae), conhecida popularmente como velame-do-campo, é utilizada, na medicina popular, como depurativo do sangue (Rodrigues & Carvalho, 2001). O extrato metanólico das folhas possui o triterpeno ácido ursólico e flavonóides *trans*-tilirosídeo e *cis*-tilirosídeo (Santos Júnior et al., 2007).

Outras espécies do mesmo gênero, como *M. cissoides* e *M. aegyptia*, conhecidas popularmente como corda-de-viola, são apreciadas como ornamentais e temidas como plantas daninhas. Ambas as espécies apresentam dormência tegumentar, necessitando de métodos de superação de dormência para superá-la (Azania et al., 2003; Linhares et al., 2007). Entretanto, para a *M. tomentosa*, espécie de interesse medicinal, não foram encontrados estudos sobre a sua propagação, sendo necessário padronizar um protocolo para o teste de germinação, para ser realizado em laboratório, sob condições ideais de temperatura, luz e substrato, para avaliar a qualidade fisiológica das sementes.

De acordo com Marcos Filho, (2005), germinação é o encerramento do período de repouso fisiológico. Há consenso entre os que se dedicam ao estudo da fisiologia vegetal, sob o aspecto botânico, e os tecnologistas de sementes. Ambas as correntes consideram que a germinação tem início com a embebição.

No entanto, para os primeiros, o processo se encerra com a protrusão da raiz primária (originada da radícula do embrião), enquanto, do ponto de vista tecnológico, as informações fornecidas devem oferecer certa garantia aos produtores agrícolas, permitindo avaliar a probabilidade de sucesso após semeadura em campo. O conceito tecnológico inclui o desenvolvimento da estrutura embrionária e a formação de uma plântula em que sejam evidentes as suas partes constituintes.

Os estudos com germinação de sementes são, geralmente, realizados com os objetivos de ampliar os conhecimentos fisiológicos, verificando as respostas de germinação a fatores ambientais, as causas de dormência e os métodos de superação, e os conhecimentos morfológicos, acompanhando o desenvolvimento do embrião e da plântula, para verificar o estágio de maturação das sementes e do efeito do processamento e do armazenamento sobre a qualidade de sementes (Baskin & Baskin, 1998).

Temperatura, umidade do substrato e luz são estão entre os principais fatores que influenciam a germinação de sementes (Mayer, 1989). A temperatura ideal de germinação, geralmente, varia dentro da faixa de temperaturas encontradas no local e na época ideal à emergência e ao estabelecimento das plântulas. Figliolia et al. (1993) mencionam que existe interação significativa entre temperatura e substrato, explicando que a capacidade de retenção de água e a quantidade de luz que o substrato oferece à semente podem proporcionar diferentes respostas, obtidas até para a mesma temperatura.

Dessa forma, são necessárias avaliações para se definir corretamente estratégias de propagação e manejo. Assim, objetivou-se avaliar a influência de diferentes temperaturas, substratos e condições de luminosidade na germinação de sementes de *Merremia tomentosa* (Choisy) Hall.

4 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Crescimento e Desenvolvimento de Plantas, no Setor de Fisiologia Vegetal do Departamento de Biologia (DBI) da Universidade Federal de Lavras (UFLA). Os frutos foram coletados de plantas matrizes localizadas em uma região de cerrado e campos rupestres, à altitude aproximada de 1.000 m, na microrregião do Alto Rio Grande, na Serra do Macaia, no município de Lavras, MG, durante o período de dispersão, de janeiro a abril de 2008.

Após a coleta, os frutos foram mantidos em condições de laboratório por 12 horas, sendo, posteriormente, retiradas as sementes manualmente. Foi realizada uma seleção prévia das sementes, eliminando-se as danificadas e verdes e, posteriormente, desinfestação com hipoclorito de sódio (NaOCl) a 50%, por 5 minutos e tratamento antifúngico, com Captam (500 PM) 0,1% (p/v), por 10 minutos.

Experimento 1: Teor de umidade das sementes

Logo após a retirada das sementes dos frutos, determinou-se o teor de umidade com base em massa úmida, utilizando-se uma estufa a $105\pm 3^{\circ}\text{C}$, por 24 horas (Brasil, 1992), utilizando três repetições de 1g.

Experimento 2: Influência da luminosidade

Foram semeadas 100 sementes entre areia, em caixas gerbox, a 1 cm de profundidade, sendo o comportamento germinativo avaliado em câmara de germinação tipo BOD, a 25°C , 100% de umidade relativa e fotoperíodo de 12 horas. A areia foi peneirada e autoclavada a 120°C e umedecida até a capacidade de campo. A condição de escuro foi obtida envolvendo-se as caixas gerbox em

papel alumínio e sacos de polietileno preto, sendo o comportamento germinativo avaliado sob luz verde.

Foram realizadas avaliações diárias para a contagem da germinação, utilizando como critério a visualização de qualquer estrutura (geralmente o “gancho” hipocotiledonar), na sua superfície da areia. A partir desses dados, obteve-se a porcentagem de germinação (%G) e o índice de velocidade de germinação (IVG), calculado segundo Maguire (1962).

Esse experimento foi constituído de 2 tratamentos (luz e escuro), com 4 repetições de 25 sementes. Este experimento foi instalado no delineamento inteiramente casualizado (DIC). Os dados de germinação foram transformados em arco seno $(x/100)^{0,5}$ e o índice de velocidade de germinação, em $(x + 0,5)^{0,5}$ (Bartlett, 1936; Zar, 1999). As médias transformadas foram comparadas pelo teste de F, da análise de variância realizada no Sisvar (Ferreira, 2000).

Experimento 3: Influência da temperatura e substrato

Foi realizada a semeadura em dois substratos (entre areia e sobre papel mata-borrão), em caixas gerbox submetidas a 4 temperaturas (20°, 25°, 35° e 20°-30°C), em BOD, nas mesmas condições do experimento anterior. O papel foi esterilizado em estufa, a 160°C, por 1 hora e umedecido em água destilada na razão de 2,5 vezes a massa do papel seco. Para a areia, procedeu-se como para o experimento anterior.

Foram calculados porcentagem de germinação (%G) e índice de velocidade de germinação para protrusão radicular (IVGpr), conforme experimento anterior, utilizando como critério para o substrato papel a protrusão de \geq 0,3 mm radícula e, para a areia, a visualização de qualquer estrutura na sua superfície. Para todos os substratos, calcularam-se também a porcentagem de plântulas normais (%PL) e o índice de velocidade de emergência para plântula normal (IVEpl), considerando-se como critério o surgimento de cotilédones que

se libertavam do tegumento, tornando possível a visualização do meristema apical e sistema radicular, sem qualquer dano.

Esse experimento foi instalado no delineamento inteiramente casualizado (DIC), em esquema fatorial 2x4 (2 substratos e 4 temperaturas), com 4 repetições de 25 sementes. Os dados foram transformados conforme para o experimento 2. Foi realizada a análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade ($p \leq 0,05$), utilizando o programa estatístico Sisvar (Ferreira, 2000).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Teor de umidade das sementes

O teor de umidade em sementes de coloração preta e medindo de 4 a 7 mm, foi de 56%.

5.2 Influência da luminosidade

Sementes germinadas na luz apresentaram maiores %G e IVG, em relação àquelas no escuro, caracterizando comportamento fotoblástico positivo (Tabela 1).

TABELA 1 Porcentagem de germinação (%G) e índice de velocidade de germinação (IVG) de sementes de *M. tomentosa*, germinadas no escuro e na luz. UFLA, Lavras, MG, 2008.

Tratamento	%G	IVG
Luz	63 a	1,68 a
Escuro	32 b	1.33 a
CV (%)	21.31	16,05

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, pelo teste de F ($p < 0,05$).

Observa-se, pelos dados da Tabela 1, que a % G foi superior na presença de luz, com 63% de germinação, enquanto, na ausência de luz, foi de 32%. Em relação ao IVG, não houve diferença estatística significativa para os tratamentos.

Em resultados encontrados na literatura, verificou-se que o requerimento à luz para a germinação é variável entre as espécies do gênero. Sharma & Sen (1975) verificaram que sementes de *M. aegyptia* são indiferentes à luz para a germinação, chegando a 100% de germinação nas primeiras 24 horas, enquanto que, em *M. dissecta*, a porcentagem de germinação mais elevada foi encontrada sob luz vermelha, nas primeiras 24 horas, sendo inibida pelo vermelho extremo.

5.3 Influência da temperatura e substrato

Independente do substrato e da temperatura, a protrusão radicular teve início aos 3 dias após semeadura (DAS) e estabilizou aos 30 DAS.

Na Tabela 2 estão expressos os resultados da análise de variância da %G, IVGpr, %PL e IVEpl.

TABELA 2 Análise de variância da porcentagem de germinação (%G), índice de velocidade de germinação para protrusão radicular (IVGpr), porcentagem de plântulas normais (%PL) e índice de velocidade de germinação para plântula normal (IVGpl) de sementes de *M. tomentosa*. UFLA, Lavras, MG, 2008.

Fonte de variação	GL	Quadrados médios			
		%G	IVGpr	%PL	IVEpl
Temperatura (T)	3	784,6146**	0,2921**	636,2083**	0,2565**
Substratos (S)	1	0,7813	0,0162	144,5000	0,0587
T*S	3	462,0313*	0,0927	619,0833**	0,0809*
Resíduo	25	147,5729	0,0480	81,3958	0,0208
CV (%)		26,57	14,55	22,31	12,56

**, * Significativo, respectivamente, a 1% e 5% de probabilidade, pelo teste de F.

Observa-se, pelos dados da Tabela 2, que, para a %G, %PL e IVEpl, a temperatura e a interação entre temperatura*substrato influenciaram nos valores encontrados, enquanto o IVGpr foi influenciado apenas pela temperatura de germinação.

Observa-se, na Figura 1, que a porcentagem de germinação das sementes, independente do substrato, a 20°C, foi mais baixa que nas demais temperaturas, que foram iguais entre si.

Em cada temperatura houve efeito do substrato apenas na germinação a 30°C, em que o papel foi superior à areia.

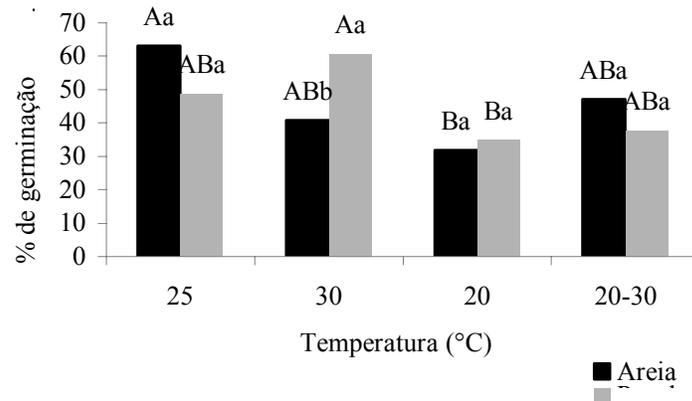


FIGURA 1 Porcentagem de germinação de sementes de *M. tomentosa*, em função de diferentes temperaturas e substratos. Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). Letras maiúsculas comparam temperatura dentro de cada substrato e minúsculas, substratos dentro de cada temperatura. UFLA, Lavras, MG, 2008.

As baixas temperaturas podem não somente reduzir a porcentagem de germinação, como também retardar o processo, devido à redução das atividades enzimáticas envolvidas no metabolismo da semente (Bewley & Black, 1994).

Pesquisas recentes sobre a estrutura de membranas em relação à temperatura da água têm demonstrado que a embebição à baixa temperatura pode levar ao fenômeno denominado “dano de embebição”. Assim, para algumas espécies, quando as sementes estão secas e são postas para embeber, o seu sistema de membranas pode sofrer danos irreparáveis, levando à lixiviação do conteúdo celular e afetando negativamente a germinação. Isso ocorre, pois, quando as sementes estão secas, as suas membranas estão no estado de gel, no qual não apresentam as características semipermeáveis. Se a embebição for muito rápida ou se a temperatura for baixa, muitas espécies não conseguem que

as suas membranas passem do estado gel para o cristalino líquido e ocorre a lixiviação de conteúdo celular (Castro & Hilhorst, 2004).

Por outro lado, sob temperaturas mais altas, a velocidade de absorção de água e as atividades enzimáticas tornam-se mais elevadas, fazendo com as sementes germinem mais rapidamente (Carvalho & Nakagawa, 2000).

A variabilidade de respostas quanto ao requerimento de temperatura é um reflexo da adaptação das espécies ao ambiente de ocorrência (Thompson, 1974). Essa resposta é de origem genética, devido, principalmente, à plasticidade fenotípica que permite que a germinação e o estabelecimento da plântula ocorram sob diversas condições ambientais (Thompson, 1974). As sementes são capazes de germinar sob ampla faixa de temperaturas, sendo definida, para cada espécie, uma temperatura máxima e uma mínima, acima e abaixo das quais a germinação não ocorre.

O substrato sobre papel é amplamente utilizado para o teste de germinação, contudo, pode ser prejudicial para algumas espécies, devido, principalmente, à maior incidência de microrganismos e de plântulas anormais. Além disso, nesse substrato é mais difícil manter constante o teor de umidade, podendo saturar ou ressecar mais facilmente, durante o transcorrer do teste. Para a espécie em questão, estes fatores não foram prejudiciais para a germinação.

Por outro lado, o substrato areia, apesar do bom desempenho, apresenta o inconveniente de drenar excessivamente a água, ficando a parte superior ressecada (Figliolia et al., 1993).

Observa-se, pela Figura 2, que, para o IVGpr, apenas a temperatura influenciou nos valores encontrados, sendo superior a 25° e a 30°C e inferior a 20°C, enquanto que a 20°-30°C não diferiu de nenhum tratamento.

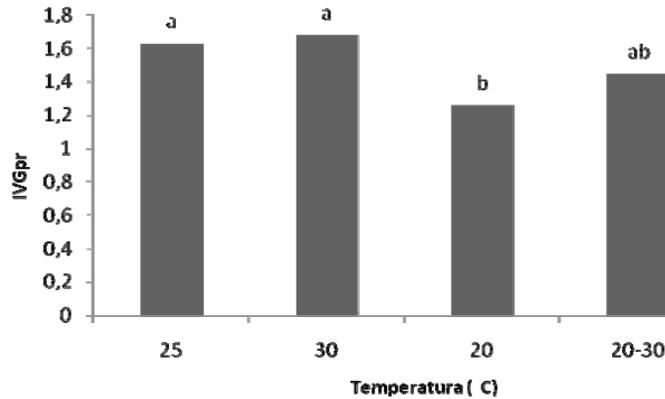


FIGURA 2 Índice de velocidade germinativa de protrusão de *M. tomentosa*, em função de diferentes temperaturas. Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). UFLA, Lavras, MG, 2008.

Segundo Garcia (1994), a temperatura é um fator que influencia a maioria dos processos bioquímicos e fisiológicos da semente. Para Macêdo et al. (1994), é o fator que mais afeta a velocidade, a uniformidade e a porcentagem de germinação.

Para cada espécie, geralmente, há a recomendação de determinada temperatura e substrato para a germinação, embora muitas espécies apresentem bons resultados em mais de uma temperatura e substrato, podendo, ainda, ocorrer interações entre as diferentes temperaturas e os substratos utilizados para germinação (Bewley e Black, 1994).

Observa-se, na Figura 3, que a porcentagem de plântulas normais foi menor em 20°C, independente do substrato e em 20°C e 30°C para o substrato papel. Nos demais tratamentos, que foram semelhantes entre si, observam-se as maiores porcentagens de plântulas normais.

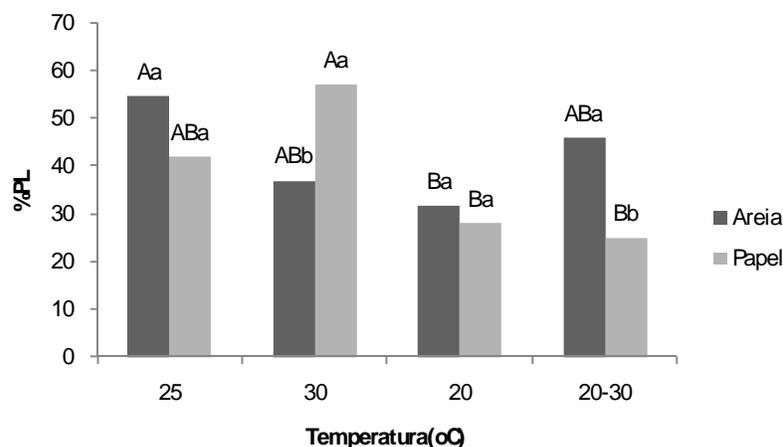


FIGURA 3 Porcentagens de plântulas de *M. tomentosa* em diferentes temperaturas e substratos. Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si. Letras maiúsculas comparam temperatura dentro de cada substrato e minúsculas, substratos, dentro de cada temperatura. UFLA, Lavras, MG, 2008.

Observa-se, pela Figura 3, que, para a porcentagem de plântulas, a melhor temperatura foi de 25°C entre areia com 54,75% e a 30°C sobre papel com 60,75%. A temperatura de 20°C foi inferior tanto entre areia com 32%, quanto sobre papel com 28% e a de 20°-30°C, foi inferior apenas sobre papel com 25%.

O substrato utilizado deve favorecer a germinação e a visualização da plântula, sendo ainda de fácil manejo. Portanto, sua escolha deve ser feita de acordo com as exigências da semente em relação ao seu tamanho, formato, exigências hídricas e nutricionais (Brasil, 1992). Fatores como aeração, estrutura, capacidade de retenção de água, grau de infestação de patógenos, dentre outros, podem variar de acordo com o tipo de material utilizado (Popinigis, 1985).

Observa-se, pela Figura 4, que os melhores valores para IVEpl foram encontrados sobre papel a 30°C e entre areia a 25°C, sendo a de 20°C inferior aos demais tratamentos.

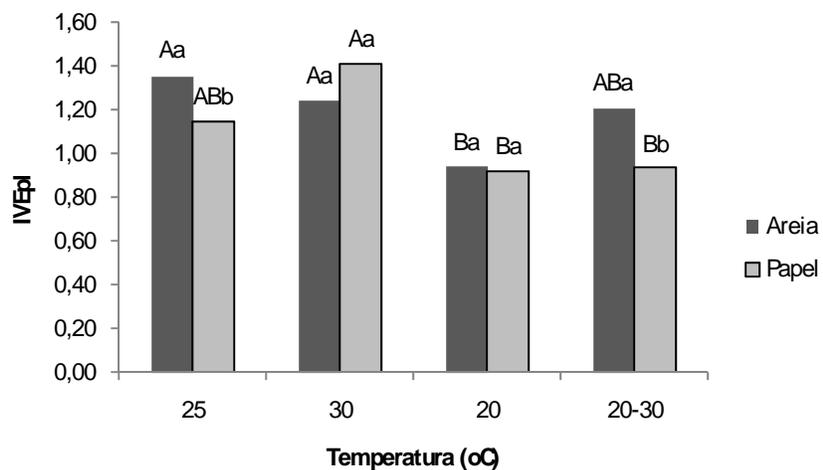


FIGURA 4 Índice de velocidade de emergência de plântulas de *M. tomentosa*, em função de diferentes temperaturas. Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si. Letras maiúsculas comparam temperatura dentro de cada substrato e minúsculas, substratos, dentro de cada temperatura. UFLA, Lavras, MG, 2008.

6 CONCLUSÃO

Em sementes de *M. tomentosa*, o teor de umidade logo após a colheita foi de 56%.

As sementes de *M. tomentosa* são fotoblástico positivo.

Temperatura de 20°C reduz a porcentagem e o índice de velocidade de germinação.

Em temperaturas de 25°, 30° e 20° e 30°C, a porcentagem de germinação e o índice de velocidade de germinação de sementes de *M. tomentosa* são maiores que a 20°C e iguais entre si.

Para a avaliação da qualidade fisiológica, considerando a protrusão radicular e o surgimento de plântulas normais, a temperatura ideal é de 25°C entre areia a ou sobre papel a 30°C.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AZANIA, A.A.P.M., AZANIA, C.A.M., PAVANI, M.C.M.D.; CUNHA, M.C.S. **Métodos de superação de dormência em sementes de *Ipomoea* e *Merremia***. Planta Daninha, Viçosa, MG, v. 21, n. 2, p. 203-209, 2003.

BARTLETT, M. S. The square root transformation in analysis of variance. **Journal of the Royal Statistical Society**, London, v. 3, p. 68-78, 1936. Supplement.

BASKIN, C. C.; BASKIN, J. M. Ecologically meaningful germination studies. In: BASKIN, C. C.; BASKIN, J. M. **Seeds: ecology, biogeography, and evolution of dormancy and germination**. New York: Academic, 1998.

BEWLEY, J. D.; BLACK, M. **Seeds: physiology of development and germination**. New York: Plenum, 1994. 445 p.

BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. **Regras para análise de sementes**. Brasília: SNAD/CLAV, 1992.

CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. 4. ed. Jaboticabal: FUNEP, 2000. 588 p.

CASTRO, R. D.; HILHORST, H. W. M.. Embebição e reativação do metabolismo. In: FERREIRA, A. G.; BORGUETTI, F. (Org.). **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, 2004. p. 149-162.

FERREIRA, D. F. **Análises estatísticas por meio do SISVAR para Windows versão 4.0**. Lavras: UFLA, 2000.

FIGLIOLIA, M. B.; OLIVEIRA, E. C.; PINÃ-RODRIGUES, F. C. M. Análise de sementes. In: AGUIAR, I. B.; PINÃ-RODRIGUES, F. C. M.; FIGLIOLIA, M. B. **Sementes florestais tropicais**. Brasília: ABRATES, 1993. p. 137-174.

GARCIA, L. C. Influência da temperatura na germinação de sementes e no vigor de plântulas de cupuaçuzeiro *Theobroma grandiflorum* (Willd. Ex-spreng) Schum.). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 29, n. 7, p. 1145-1150, jul. 1994.

LINHARES, P. C. F.; BEZERRA NETO, F.; VASCONCELOS, S. H. L.; MARACAJÁ, P. B.; BENEDITO, C. P. Quebra de dormência em sementes de jirirana. **Revista Verde**, Mossoró, v. 2, n. 2, p. 37-41, jul./dez. 2007.

MACÊDO, E. C.; GOTH, D. et al. Efeito de escarificação com ácido sulfúrico na germinação de sementes de *Brachiaria Humidicola* (Rendle) Schweick. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 29, n. 3, p. 455-460, mar. 1994.

MAGUIRE, J. D. Speed of germination aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, Madson, v. 2, n.02, p. 176 -177, 1962.

MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Piracicaba: Fealq, 2005.

MAYER, A. M.; Poljakoff-Mayber, A. **The germination of seeds**. London: Pergamon, 1989. 270 p.

POPINIGIS, P. Avaliação da qualidade fisiológica. In: _____. **Fisiologia da semente**. Brasília: AGIPLAN, 1985.

RODRIGUES, V. E. G.; CARVALHO, D. A. **Plantas medicinais no domínio dos cerrados**. Lavras: UFLA, 2001. 180 p..

SANTOS JÚNIOR, H. M. dos; OLIVEIRA, D. F. ; CAVALHEIRO, A. J.; CHAGAS, R. C. R. Estudo fitoquímico das folhas de *Merremia tomentosa* (Choisy) Hall f. (Convolvulaceae). In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA, 30., 2007, Águas de Lindóia. **Anais...** Águas de Lindóia:SBQ, 2007.

SHARMA, S. S.; SEN, D. N. Effect of light on seed germination and seedling growth of *Merremia* species. **Folia Geobotanica et Phytotaxonomica**, Uppsala, v. 10, n. 84, p. 265–269, 1975.

THOMPSON, P.A. Effects of fluctuating temperature on germination. **Journal of Experimental Botany**, Cambridge, v. 25, p. 164-175, 1974.

ZAR, J. H. **Biostatistical analysis**. 4. ed. New York: Prentice Hall, 1999. 929 p.

CAPITULO IV

GERMINAÇÃO *IN VITRO* DE SEMENTES DE *Merremia tomentosa* (Choisy) Hall.

1. RESUMO

CENTOFANTE, Agda Rabelo. Germinação *in vitro* de sementes de *Merremia tomentosa* (Choisy) Hall. **In:___ Descrição morfo-anatômica e germinação de *Merremia tomentosa* (Choisy) Hall.** 2008. Cap.4 p. 63-76. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Fisiologia Vegetal) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG. *

Conduziu-se este trabalho com o objetivo de avaliar a propagação de *Merremia tomentosa* (Choisy) Hall., nativa do cerrado e de campos rupestres, utilizada na medicinal popular como depurativo do sangue. Para tanto, a coleta botânica foi realizada na Serra do Macaia, município de Lavras, MG, durante o período de fevereiro de 2007 a abril de 2008. Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Cultura de Tecido. Para a germinação *in vitro* foram utilizados diferentes meios de cultura e no meio MS com redução de 50% de concentração de sais, acrescido em diferentes concentrações de GA₃. Foi realizada a assepsia das sementes em água corrente por 20 minutos. Depois, foram imersas em álcool 70% (v/v), por 60 segundos e em solução de hipoclorito de sódio (NaOCl) com 50% (v/v), por 20 minutos e, posteriormente, foram lavados por 3 vezes em água destilada e autoclavada. Após a inoculação, as sementes foram mantidas em sala de crescimento sob irradiância de fótons de 36 mmol m⁻² s⁻¹, fotoperíodo de 16 horas e temperatura de 25±2°C. A avaliação foi realizada diariamente durante 30 dias após inoculação e as médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey, com significância fixada em 5% de probabilidade, e para o experimento com diferentes concentrações de GA₃, os resultados foram submetidos à análise de variância, sendo analisados pelo teste de regressão no Sisvar. A melhor porcentagem de germinação *in vitro* foi obtida em meio MS, com redução de 50% de concentração salina suplementado com 1 mg L⁻¹ de GA₃.

* Orientador: Evaristo Mauro de Castro.

2 ABSTRACT

CENTOFANTE, Agda Rabelo. *In vitro* germination of seeds of *Merremia tomentosa* (Choisy) Hall. **In:_____ Morpho-anatomical report and germination of *Merremia tomentosa* (Choisy) Hall.** 2008. Chap.4 p. 63-76. Dissertation (Master in Agronomy/Plant physiology) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG. *

This work was conducted with the objective of evaluating the propagation of *Merremia tomentosa* (Choisy) Hall., native of the cerrado and of rupestrian fields, in folk medicine as a blood depurative. So, the botanical collection was accomplished on the Serra do Macaia (Macaia Range), Lavras town, MG, during the period of February of 2007 to April of 2008. The experiments were conducted in the Tissue Culture Laboratory and in the greenhouse in the Plant Physiology of the Biology Department at the Universidade Federal de Lavras. For germination *in vitro* were utilized different media of culture and in the MS medium with a reduction of 50% of salt concentration, added of different concentrations of GA₃. Asepsis of the seeds in running water for 20 minutes was performed. Afterwards, they were immersed in 70% alcohol (v/v) for 60 seconds and in solution of sodium 50% hypochlorite (NaOCl) (v/v) for 20 minutes and, afterwards, they were washed for three times in distilled and autoclaved water. After inoculation, the seeds were kept in a growth room under irradiance of photons of 36 mmol m⁻² s⁻¹, photoperiod of 16 hours and temperature of 25±2°C. The evaluation was performed daily for 30 days after inoculation and the means of the treatments were compared by the Tukey test, with the significance set at 5% of probability, and for the experiment with different concentrations of GA₃, the results were submitted to the analysis of variance, their being analyzed by the regression test in Sisvar. The best percentage of *in vitro* germination was obtained in MS medium, with a reduction of 50% of salt concentration supplemented with 1 mg L⁻¹ de GA₃.

* Adviser: Evaristo Mauro de Castro.

3 INTRODUÇÃO

A cultura de tecidos vegetais é uma técnica de surgimento recente, pois os primeiros passos foram dados já no início do século XX e os maiores avanços foram notados a partir da segunda metade do século (Pascal, 2001).

Segundo Maciel et al. (2000), a propagação *in vitro* é uma técnica de cultura de tecidos bem sucedida e propicia vantagens sobre os métodos convencionais de propagação, permitindo a obtenção de grande número de plantas de boa qualidade fitossanitária em curto espaço de tempo e em qualquer época do ano.

O emprego de técnicas biotecnológicas constitui ferramenta bastante útil para a reprodução de exemplares com propriedades desejáveis França (2001).

A taxa de germinação de sementes de algumas espécies pode ser aumentada quando são utilizados métodos de cultura de tecidos, principalmente quando as sementes apresentam dormência, endosperma reduzido ou grande infestação por microrganismos (Fay, 1992). Isso acontece muito nesta espécie, em que há predação dos frutos ainda verdes por larvas.

Durante o cultivo *in vitro*, as soluções de sais e açúcares que compõem os meios de cultura não exercem efeito puramente nutritivo, mas também influenciam o crescimento celular e a morfogênese por meio de propriedades osmóticas (George, 1996). Diversas formulações de meios básicos têm sido utilizadas no cultivo *in vitro*. Não há uma formulação padrão, mas o meio MS (Murashige & Skoog, 1962), com suas modificações e diluições, tem sido utilizado com sucesso para diversas espécies. Para espécies lenhosas, entretanto, o meio MS não se mostra satisfatório em alguns casos e composições mais diluídas em macronutrientes apresentam melhor desempenho (Grattaplaglia & Machado, 1998). O meio nutritivo WPM (Lloyd & McCown, 1980), por exemplo, apresenta 25% das concentrações de íons nitrato e amônia do meio

MS, além de maior concentração de potássio e de íons sulfato, sendo amplamente utilizado para a micropropagação de espécies lenhosas (Pasqual, 2001)

A germinação de sementes pode exigir giberelinas para uma das possíveis etapas: a ativação do crescimento vegetativo do embrião, o enfraquecimento da camada do endosperma que envolve o embrião e restringe seu crescimento, assim como a mobilização das reservas energéticas do endosperma (Taiz & Zieger, 2006).

Não foram encontradas, na literatura, informações sobre a propagação de *Merremia tomentosa in vitro*, havendo necessidade de estudos que possam fornecer dados sobre sua fisiologia e propagação. Diante do exposto, este trabalho foi realizado com o objetivo de estudar a propagação *in vitro* e estabelecer um protocolo de germinação de sementes *in vitro* para sementes *Merremia tomentosa* (Choisy) Hall..

4 MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi conduzido no Setor de Fisiologia Vegetal do Departamento de Biologia (DBI) da Universidade Federal de Lavras (UFLA).

4.1 Material vegetal

Os frutos e as estacas foram coletados no município de Lavras, na Serra do Macaia, à altitude aproximada de 850 m a 1.000 m, situado no Sul do estado de Minas Gerais.

4.2 Germinação *in vitro*

4.2.1 Efeito de diferentes meios de cultura na germinação

As sementes foram retiradas dos frutos imaturos manualmente e lavadas em água corrente, por 20 minutos e transferidas para câmara de fluxo laminar, na qual foram imersas em álcool 70% (v/v), por 60 segundos e em solução de hipoclorito de sódio (NaOCl) com 50% (v/v), por 20 minutos. Posteriormente, foram lavados por três vezes em água destilada e autoclavada para a eliminação do excesso de soluções desinfestantes. Após a desinfestação, as sementes foram inoculadas em diferentes meios de cultura.

Foram testados os meios de cultura WPM (Lloyd & Mccown, 1980), MS (Murashige & Skoog, 1962) e MS, com 50% de sua concentração de sais, suplementados com 3% de sacarose e solidificados com ágar 0,6%. O pH foi corrigido para 5,8, antes da autoclavagem a 120°C, durante 20 minutos.

Após a inoculação, as sementes foram mantidas em sala de crescimento sob irradiância de fótons de $36 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, fotoperíodo de 16 horas e temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$. A avaliação foi realizada diariamente durante 30 dias de inoculação, sendo observada a porcentagem de sementes germinadas em

cada tratamento e o índice de velocidade de germinação (IVG). Foi considerada germinada a semente que apresentava a radícula protruída.

O IVG foi determinado registrando-se o número de sementes germinadas por dia até o final do experimento, calculado pela fórmula de Maguire (1962).

O delineamento estatístico utilizado foi o delineamento inteiramente casualizado, com dez repetições por tratamento, sendo cada uma composta por cinco frascos contendo uma semente. As médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey, com significância fixada em 5% de probabilidade, utilizando-se o programa estatístico Sisvar (Ferreira, 2000).

4.2.2 Efeito do GA₃ na germinação

O processo de assepsia das sementes foi idêntico ao descrito anteriormente. Foram testadas 6 concentrações de GA₃ (0, 1, 2, 3, 4 e 5 mg L⁻¹) no meio de cultura MS, com redução de 50% de concentração salina, suplementado com 3% de sacarose e solidificado com ágar 0,6%. O pH foi corrigido para 5,8, antes da autoclavagem.

Após a inoculação, as sementes foram mantidas em sala de crescimento sob irradiância de fótons de 36 mmol m⁻² s⁻¹, fotoperíodo de 16 horas e temperatura de 25±2°C. A avaliação foi realizada diariamente, durante 30 dias após inoculação, sendo observada a porcentagem de sementes germinadas em cada tratamento. Foi considerada germinada a semente que apresentasse a radícula protruída.

O delineamento estatístico utilizado foi o delineamento inteiramente casualizado. Foram utilizadas cinco repetições por tratamento, sendo cada repetição composta por três tubos de ensaio e cada tubo contendo uma semente. Os resultados foram submetidos à análise de variância, sendo analisados pelo teste de regressão no Sisvar (Ferreira, 2000).

5 RESULTADOS E DISCUSÃO

5.1 Germinação *in vitro*

5.1.1 Efeito de diferentes meios de cultura

Pela análise de variância (Tabela 1, do Anexo A), houve diferença estatística significativa entre os meios de cultura MS, MS com redução de 50% de concentração salina e WPM. O melhor resultado foi no meio MS com redução de 50% de concentração salina.

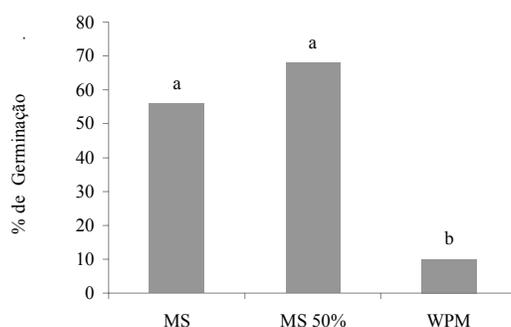


FIGURA 1. Gráfico de porcentagens de germinação *in vitro* de sementes de *M. tomentosa*, em diferentes meios de cultura. Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). UFLA, Lavras, MG, 2008.

Souza (2003), em estudo com germinação de sementes de arnica (*Lychnophora pinaster*), ao testar os meios MS, MS/2 e MS/4, verificou a superioridade do MS/4 (68% de germinação) e a necessidade da utilização de meios de cultura menos concentrados para o estabelecimento de plântulas.

Pela análise de variância (Tabela 1, do Anexo A), não houve diferença estatística significativa para o IVG, entre os meios de cultura MS, MS com

redução de 50% de concentração salina e WPM, porém para a porcentagem de germinação o meio MS 50% , obteve o melhor resultado.

TABELA 1. Índice de velocidade de germinação (IVG) e porcentagem de germinação (% G) de sementes de *M. tomentosa*, *in vitro*, em diferentes meios de cultura. UFLA, Lavras, MG, 2008.

Tratamentos	IVG	% G
MS	0,582	56 a
MS 50%	0,663	68 a
WPM	0,383	10 b

* Significativo, 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey

Utilizou-se o MS com redução de 50% de concentração salina com diferentes concentrações de GA₃, pois este obteve o melhor IVG e a melhor porcentagem de germinação.

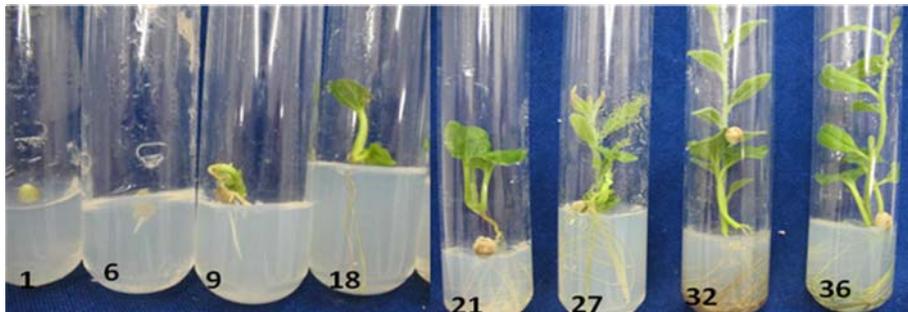


FIGURA 2. Figuras mostrando o aspecto visual da germinação *in vitro* de *M. tomentosa*, em dias no meio MS com redução de 50% de concentração salina. UFLA, Lavras, MG, 2008.

5.1.2 Efeito do GA₃ em diferentes concentrações na germinação de semente

Pela análise de variância (Tabela 2, Anexo A), constata-se que houve diferença estatística entre os tratamentos.

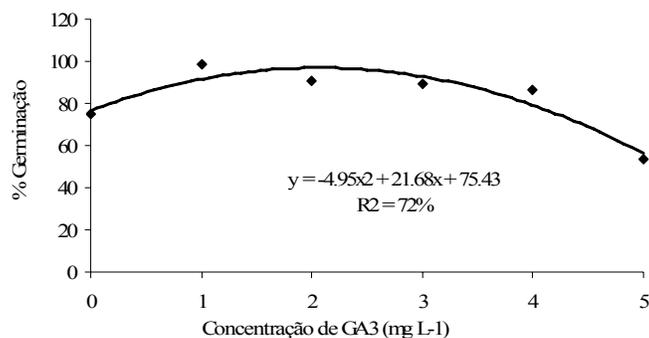


FIGURA 3. Gráfico de porcentagens de germinação *in vitro* de sementes de *M. tomentosa*, em meio de cultura MS com 50% de concentração de sais e diferentes concentrações de GA₃. UFPA, Lavras, MG, 2008.

Pela análise de regressão, a concentração ideal de GA₃ foi de 2,19 mg L⁻¹ com porcentagem esperada de 99% de germinação.

Resultados semelhantes, porém com espécies diferentes, foram encontrados por Abbade (2008). Avaliando a germinação de sementes de ipê-branco *in vitro*, este autor encontrou maior porcentagem de germinação para sementes mantidas no meio MS suplementado com 3mg L⁻¹ de GA₃, seguido do meio MS com 50% de concentração de sais suplementados com 1mg L⁻¹ de GA₃. A maior velocidade de germinação foi observada em sementes mantidas no meio MS com 50% de concentração de sais suplementado com 1mg L⁻¹ de GA₃.

Melo (1993), avaliando o efeito do ácido giberélico (GA₃) sobre a germinação de sementes de araticum, verificou que não houve efeito do período de embebição sobre a germinação. Porém, o efeito da concentração do ácido giberélico foi significativo, havendo aumento da germinação proporcional ao aumento da concentração do referido ácido.

5.1.3 Índice de velocidade de germinação (IVG) e porcentagem de germinação (%G)

Pela análise de variância (Tabela 2, Anexo A), observa-se que não houve diferença estatística significativa para o IVG, porém, houve diferenças significativas entre os tratamentos para a porcentagem de germinação.

TABELA 2. Índice de velocidade de germinação (IVG) e porcentagem de germinação (% G) de sementes verdes de *M. tomentosa*, *in vitro*, no meio MS com redução de 50% de sua concentração de sais, com diferentes concentrações de GA₃. UFLA, Lavras, MG, 2008.

Tratamentos	IVG	% G
MS 50%	0,396	74,6 ab
MS 50% + 1mg L ⁻¹ GA ₃	0,393	98,6 a
MS 50% + 2mg L ⁻¹ GA ₃	0,626	90,6 ab
MS 50% + 3mg L ⁻¹ GA ₃	0,433	89,3 ab
MS 50% + 4mg L ⁻¹ GA ₃	0,493	88,6 ab
MS 50% + 5mg L ⁻¹ GA ₃	0,500	53,3 b

* Significativo, a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey

Melo (1993) aponta que o tratamento de sementes com giberelinas pode promover a germinação. Sendo assim, sementes que possuem concentração relativa de giberelina baixa, quando tratadas com ácido giberélico (GA₃) na concentração adequada, teriam germinação mais homogênea e em maior quantidade. Segundo Kochaba et al. (1974), a presença de ácido giberélico no meio de cultura proporciona a iniciação de uma zona meristemática radicular ou estimula o desenvolvimento de uma zona radicular existente.

6 CONCLUSÃO

Para a germinação *in vitro*, o meio MS com redução de 50% de concentrações de sais, suplementado com 3% de sacarose e acrescido de 1mg L^{-1} de GA_3 , proporciona maior porcentagem de germinação.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBADE, L. C. Germinação de sementes de ipê-branco. In: _____. **Aspectos do cultivo *in vitro* de Ipê-branco**. 2008. Cap. 2, p.17-43. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.

FAY, P. A. **The growth and physiological responses of *Silphium integrifolium* to gall insect attack**. 1992. Dissertation (Master in Ecology) - Kansas State University, Manhattan.

FRANÇA, S. C. de. Abordagens biotecnológicas para a obtenção de substâncias ativas. In: SIMÕES, C. M. O. (Org.). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 3.ed. rev. Porto Alegre; Florianópolis: UFRGS/UFSC, 2001. p. 105-124.

FERREIRA, D. F. **Análises estatísticas por meio do SISVAR para Windows versão 4.0**. Lavras: UFLA, 2000.

GEORGE, E. F. **Plant propagation by tissue culture: part 1- the technology**. Edington: Exergetics, 1996. 574 p.

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. (Ed.). **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: EMBRAPA/SPI/EMBRAPA/CNPH, 1998. v. 1, p. 183-260.

KOCHABA, J.; BUTTON, J.; SPIEGEL-ROY, P.; BORNMAN, C. H.; KOCHABA, M. Stimulation of rooting of citrus embryoids by gibberellic acid and adenine sulphate. **Annals of Botany**, New York, v. 38, n. 157, p. 795-802, 1974.

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, 1980.

MACIEL, A. L. R.; SILVA, A. B.; PASQUAL, M. Aclimatização de plantas de violeta (*Saintpaulia ionantha* Wendl) obtidas *in vitro*: efeitos do substrato. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 24, n. 1, p. 9-12, jan./marc. 2000.

MAGUIRE, J. D. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigour. **Crop Science**, Madison, v. 2, n. 2, p. 176-177, Mar./Apr. 1962.

MELO, J. T. Efeito do ácido giberélico-GA3 sobre a germinação de sementes de araticum (*Annona crassiflora* Mart.). In: CONGRESSO FLORESTAL BRASILEIRO, 7., 1993, Curitiba. **Anais...** São Paulo: Sociedade Brasileira de Silvicultura, 1993. v. 2, p. 760.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tabaco tissue culture. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 15, n. 3, p. 473-97, 1962.

PASQUAL, M. **Introdução: fundamentos básicos**. Lavras: FAEPE, 2001. 97 p.

SOUZA, A. V. de. **Propagação *in vitro* e aspectos anatômicos de arnica (*Lychnophora pinaster*) Mart.** 2003. 126 p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.

TAIZ, L.; ZIEGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2006. 719 p.

ANEXOS

ANEXO A - TABELAS

TABELA 1A. Resumo da análise de variância para a porcentagem de germinação, índice de velocidade de germinação (IVG) de sementes de *M. tomentosa* dispostas em meio MS, MS, com 50% de concentração de sais e WPM.

FV	GL	Quadrados médios	
		%G	IVG
Tratamentos	2	951,5*	0,104
Erro	12	321,1	0,067
Total	14		
CV (%)		20,80	47,78

* Significativo, a 5% de probabilidade, pelo teste de F.

TABELA 2A. Resumo das análises de variância para o índice de velocidade de germinação (IVG) e porcentagem de germinação (%G) de sementes *M. tomentosa* dispostas em meio MS com 50% de concentração de sais e com diferentes concentrações de GA₃

FV	GL	Quadrados médios	
		%G	IVG
Tratamentos	5	918,2*	0,023
Erro	12	205,3	0,033
Total	17		38,8
CV (%)		17,01	

* Significativo, a 5% de probabilidade, pelo teste de F.

ANEXO B – Meios de cultura

TABELA 1B. Composição do meio de cultura MS (Murashige & Skoog, 1962).

COMPONENTE	FÓRMULA	CONCENTRAÇÃO (mg L ⁻¹)
Macronutrientes		
Nitrato de amônio	NH ₄ NO ₃	1650
Nitrato de potássio	KNO ₃	1900
Cloreto de cálcio	CaCl ₂ .2H ₂ O	440
Sulfato de magnésio	MgSO ₄ .7H ₂ O	370
Fosfato de potássio	KH ₂ PO ₄	170
Sódio EDTA	Na ₂ EDTA	37,25
Iodeto de potássio	KI	0,83
Micronutrientes		
Sulfato de ferro	FeSO ₄ .7H ₂ O	27,85
Sulfato de manganês	MnSO ₄ .4H ₂ O	16,9
Sulfato de zinco	ZnSO ₄ .7H ₂ O	8,6
Ácido bórico	H ₃ BO ₃	6,2
Molibdato de sódio	Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	0,25
Cloreto de cobalto	CoCl ₂ .6H ₂ O	0,025
Sulfato de cobre	CuSO ₄ .5H ₂ O	0,025
Vitaminas		
Ácido nicotínico	C ₆ H ₅ NO ₂	0,5
Cloridrato de piridoxina	C ₆ H ₁₂ ClNO ₂	0,5
Cloridrato de tiamina	C ₁₂ H ₁₈ Cl ₂ N ₄ OS	0,1
Glicina	C ₂ H ₅ NO ₂	2,0
Mio-inositol	C ₆ H ₁₂ O ₆	100,0
Outros		
Ágar		7,0
Sacarose	C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁	30,0

TABELA 2B. Composição do meio de cultura WPM (Lloyd e McCown, 1980).

COMPONENTE	FÓRMULA	CONCENTRAÇÃO (mg L⁻¹)
Macronutrientes		
Nitrato de amônio	NH ₄ NO ₃	400
Cloreto de cálcio	CaCl ₂ .2H ₂ O	96
Sulfato de magnésio	MgSO ₄ .7H ₂ O	370
Fosfato de potássio	KH ₂ PO ₄	170
Sódio EDTA	Na ₂ EDTA	37,25
Micronutrientes		
Sulfato de ferro	FeSO ₄ .7H ₂ O	27,85
Sulfato de zinco	ZnSO ₄ .7H ₂ O	8,6
Sulfato de manganês	MnSO ₄ . H ₂ O	22,3
Ácido bórico	H ₃ BO ₃	6,2
Molibdato de sódio	Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	0,25
Sulfato de cobre	CuSO ₄ .5H ₂ O	0,25
Vitaminas		
Ácido nicotínico	C ₆ H ₅ NO ₂	0,5
Cloridrato de piridoxina	C ₆ H ₁₂ ClNO ₂	0,5
Cloridrato de tiamina	C ₁₂ H ₁₈ Cl ₂ N ₄ OS	0,1
Glicina	C ₂ H ₅ NO ₂	2,0
Mio-inositol	C ₆ H ₁₂ O ₆	100,0
Outros		
Ágar		7,0
Sacarose	C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁	30,0