

**Estabelecimento in vitro de faveleira
(*Cnidoscolus quercifolius Pohl*) sem espinhos**



**OBJETIVOS DE
DESENVOLVIMENTO
SUSTENTÁVEL**

2 FOME ZERO
E AGRICULTURA
SUSTENTÁVEL



**Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Semiárido
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**

**BOLETIM DE PESQUISA
E DESENVOLVIMENTO
147**

**Estabelecimento in vitro de faveleira
(*Cnidoscolus quercifolius* Pohl) sem espinhos**

*Juliana Martins Ribeiro
Natoniel Franklin de Melo
Visêdo Ribeiro de Oliveira*

**Embrapa Semiárido
Petrolina, PE
2022**

Esta publicação está disponibilizada no endereço:
<http://www.embrapa.br/fale-conosco/sac>
Exemplares da mesma podem ser adquiridos na:

Embrapa Semiárido
BR 428, km 152, Zona Rural
Caixa Postal 23
CEP 56302-970, Petrolina, PE
Fone: (87) 3866-3600
Fax: (87) 3866-3815

Comitê Local de Publicações

Presidente
Anderson Ramos de Oliveira

Secretária-Executiva
Juliana Martins Ribeiro

Membros
Alineaura Florentino Silva, Clarice Monteiro Rocha, Clívia Danúbia Pinho da Costa Castro, Daniel Nogueira Maia, Geraldo Milanez de Resende, Gislene Feitosa Brito Gama, José Maria Pinto, Magnus Dall'igna Deon, Paula Tereza de Souza e Silva, Pedro Martins Ribeiro Júnior, Sidinei Anunciação Silva.

Supervisão editorial
Sidinei Anunciação Silva

Revisão de texto
Sidinei Anunciação Silva

Normalização bibliográfica
Sidinei Anunciação Silva (CRB-4/1721)

Tratamento das ilustrações
Sidinei Anunciação Silva

Projeto gráfico da coleção
Carlos Eduardo Felice Barbeiro

Editoração eletrônica
Sapié

Foto da capa
Juliana Martins Ribeiro

1ª edição: 2022

Todos os direitos reservados.

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Embrapa Semiárido

Ribeiro, Juliana Martins.

Estabelecimento in vitro de faveleira (*Cnidocolus quercifolius* Pohl) sem espinhos / Juliana Martins Ribeiro, Nataniel Franklin de Melo, Visêldo Ribeiro de Oliveira. — Petrolina : Embrapa Semiárido, 2022.

18 p. (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento / Embrapa Semiárido, ISSN 1808-9968; 147).

Sistema requerido: Adobe Acrobat Reader.

1. Propagação vegetativa. 2. Cultura de tecido. 3. Biodiversidade. 4. Tecido vegetal. I. Ribeiro, Juliana Martins. II. Melo, Nataniel Franklin de. III. Oliveira, Visêldo Ribeiro de. IV. Título. V. Série.

Sumário

Resumo	5
Abstract	6
Introdução.....	7
Material e Métodos	8
Resultados e Discussão	10
Conclusões.....	15
Agradecimentos.....	16
Referências	16

Estabelecimento in vitro de faveleira (*Cnidocolus quercifolius* Pohl) sem espinhos

Juliana Martins Ribeiro¹

Natoniel Franklin de Melo²

Visêldo Ribeiro de Oliveira³

Resumo — O objetivo deste trabalho foi estabelecer e multiplicar, sob condições de cultivo in vitro, um acesso de faveleira sem espinhos, visando alternativas para sua conservação e uso futuro. Para isso, segmentos nodais e fragmentos de folhas jovens foram inseridos em meio nutritivo composto pela formulação de sais inorgânicos WPM. Para os segmentos nodais, o meio de cultura foi suplementado com as seguintes concentrações (mg/L) de BAP (6-benzilaminopurina): T1:0; T2:0,1; T3:0,5; T4:1,0 e T5:1,5. Já aquele em que foram utilizados fragmentos de folhas jovens como explantes, foram testadas as seguintes concentrações (mg/L) de 2,4-D (ácido 2,4-diclorofenoxiacético): T1:0; T2:10; T3:20, T4:40 e T5:80. Decorridos 30 e 60 dias, foram tomados dados relacionados ao número de contaminações e de resposta dos explantes aos tratamentos. O tratamento fitossanitário de faveleiras com fungicida e bactericida contendo cloridrato de kasugamicina como princípio ativo é eficiente na redução da contaminação in vitro. Segmentos nodais herbáceos de faveleiras podem ser utilizados como explantes no estabelecimento in vitro deste material. Não ocorreu a proliferação de gemas em segmentos nodais expostos a diferentes concentrações de BAP avaliadas e nem a organogênese de segmentos de folhas jovens cultivadas em concentrações distintas de 2,4-D, aos 30 e 60 dias da instalação do experimento.

Termos para indexação: espécie forrageira, manutenção de germoplasma, contaminação in vitro, oxidação in vitro.

¹ Bióloga, D.Sc. em Produção Vegetal, pesquisadora da Embrapa Semiárido, Petrolina, PE.

² Biólogo, D.Sc. em Ciências Biológicas, pesquisador da Embrapa Semiárido, Petrolina, PE.

³ Engenheiro florestal, D.Sc. em Ciências, pesquisador da Embrapa Semiárido, Petrolina, PE.

In vitro establishment of thornless faveleira (*Cnidoscolus quercifolius* Pohl)

Abstract — The objective of this work was to establish and multiply under in vitro cultivation conditions a faveleira accession without thorns, seeking alternatives for its conservation and future use. For this, nodal segments and young leaves were inserted in a nutrient medium composed of WPM inorganic salts. For the nodal segments, the culture medium was supplemented with the following concentrations (mg/L) of BAP (6-benzylaminopurine): T1:0; T2:0.1; T3:0.5; T4:1.0 and T5:1.5. As for the one in which fragments of young leaves were used as explants, the following concentrations (mg/L) of 2,4-D (2,4-dichlorophenoxyacetic acid) were tested: T1:0; T2:10; T3:20, T4:40 and T5:80. After 30 and 60 days, data related to the number of contaminations and the response of the explants to the treatments were taken. The phytosanitary treatment of favelas with fungicide and bactericide containing kasugamycin hydrochloride as an active ingredient is efficient in reducing in vitro contamination. Herbaceous nodal segments from favelas can be used as explants in the in vitro establishment of this material. There was no proliferation of buds in nodal segments exposed to different concentrations of BAP evaluated, nor the organogenesis of segments of young leaves cultivated at different concentrations of 2,4-D, at 30 and 60 days.

Index terms: forage species, germplasm maintenance, in vitro contamination, in vitro oxidation.

Introdução

A faveleira (*Cnidoscolus quercifolius* Pohl) (Euphorbiaceae) é uma espécie xerófila arbórea, com espinhos urticantes, que produz madeira leve e sementes oleaginosas (Sales et al., 2008; Maya-Lastra et al., 2022). É uma planta rústica de rápido crescimento, seletiva, higrófila, exclusiva das matas xerófitas da Caatinga do Nordeste brasileiro, onde ocorre com elevada frequência e dispersão irregular (Lorenzi, 1998; Bakke et al., 2018). Além disso, a faveleira se destaca como forrageira de elevada importância socioeconômica para a manutenção de rebanhos de caprinos, ovinos e bovinos criados extensivamente por todo o Semiárido brasileiro, principalmente no período seco do ano (Candeia et al., 2010).

A presença de espinhos tem sido um dos fatores limitantes da domesticação da espécie. Tanto os tratos culturais para o cultivo, assim como o manejo realizado durante o corte e fenação dos ramos, são dificultados por essa característica da planta (Candeia et al., 2010). Entretanto, genótipos sem espinhos foram identificados nos municípios de Independência, no Ceará (Viana; Carneiro, 1991) e em Patos e Santa Terezinha, na Paraíba, o que despertou o interesse por sua conservação, caracterização e uso. Nesse caso, observou-se que o percentual de descendentes com esta característica, obtidos por meio de propagação assexuada de algumas matrizes de uma população, pode chegar a 20%, enquanto o percentual de descendentes sem espinhos, provenientes de sementes coletadas dessa população, sem nenhum tipo de seleção, correspondeu a menos de 1% (Sales et al., 2008). Sendo assim, para realizar a produção de mudas da espécie com a manutenção dessa característica, a propagação assexuada é a técnica mais adequada.

Além disso, a exploração desordenada de espécies nativas tem contribuído para a diminuição da variabilidade genética de diversas espécies florestais, inclusive da faveleira. Uma alternativa para atenuar a perda de recursos genéticos pelo extrativismo, seria a manutenção in vitro do germoplasma de interesse. Esta estratégia se alinha aos esforços da agenda dos objetivos de desenvolvimento sustentável (ODS), da Organização das Nações Unidas (ONU), mais precisamente com o objetivo 2, que trata da manutenção da diversidade genética de sementes, plantas cultivadas, animais de criação e domesticados e suas respectivas espécies selvagens, inclusive por meio de bancos de sementes e plantas diversificados (Nações Unidas, 2022).

Entretanto, existem poucas informações disponíveis na literatura a respeito do cultivo *in vitro* da faveleira, havendo apenas relatos a respeito da desinfestação e germinação *in vitro* de sementes (Rêgo et al., 2007). A técnica de cultivo *in vitro* envolve quatro fases para a obtenção de plantas completas, sendo elas: 1) estabelecimento *in vitro* da cultura; 2) multiplicação; 3) alongamento e enraizamento; e 4) aclimatização (Guerra; Nodari, 2006; Barrueto Cid; Teixeira, 2010; Ribeiro et al., 2010). Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi estabelecer e multiplicar sob condições de cultivo *in vitro* um genótipo de faveleira sem espinhos em diferentes composições de meios de cultura.

Material e Métodos

Uma planta matriz adulta de faveleira sem espinhos, mantida na Coleção Biológica de Faveleiras da Embrapa Semiárido (9.071979,-40.319863), foi submetida ao tratamento prévio com um fungicida e bactericida contendo cloridrato de kasugamicina como princípio ativo, na concentração de 1%. Dez dias antes da instalação do experimento, o produto foi borrifado em toda a planta e uma parte foi reservada e aplicada diretamente nas raízes, para que houvesse também sua atuação de forma sistêmica.

No campo, ramos herbáceos de faveleira sem espinhos (Figura 1A), foram coletados com o auxílio de tesouras de poda (Figuras 1B e 1C) e levados para o Laboratório de Biotecnologia da mesma instituição (9.072047,-40.319683) para o início dos procedimentos de assepsia e estabelecimento *in vitro*.



Figura 1. Faveleira (*Cnidosculus quercifolius* Pohl) (Euphorbiaceae) sem espinhos mantida na Coleção Biológica de Faveleiras da Embrapa Semiárido (A); ramos herbáceos sendo coletados com o auxílio de uma tesoura de poda (B e C).

Os ramos herbáceos foram cortados em partes menores para serem, posteriormente, levados para a desinfestação no interior da capela de fluxo laminar, onde se iniciou a desinfestação dos explantes, que foi realizada pela imersão em solução de etanol a 70% durante 1 minuto, sendo em seguida

transferidos para uma solução de hipoclorito de sódio a 0,5% (p/v), adicionado de uma gota de Tween 20, onde permaneceram sob agitação contínua durante 20 minutos. Ao final, foram realizados três enxágues em água ultrapura.

Foram utilizados dois tipos de explantes: segmentos nodais e fragmentos de folhas jovens. O meio utilizado para o estabelecimento e multiplicação de ambos os explantes foi composto pela formulação de sais inorgânicos WPM (Lloyd; Mccown, 1980), vitaminas de White (1943), 0,002 g/L de glicina, 0,1 g/L de inositol, 30 g/L de sacarose, 6,5 g/L de ágar, sendo o pH aferido para 5,9 e o meio esterilizado por autoclavagem (121 °C e 1 kg/cm² durante 20 minutos).

No experimento 1 foram utilizados segmentos nodais como explantes, visando a proliferação de gemas. Foram testadas as seguintes concentrações (mg/L) de BAP (6-benzilaminopurina): T1:0; T2:0,1; T3:0,5; T4:1,0 e T5:1,5. Foram utilizados tubos de ensaio (2,5 cm de diâmetro x 8 cm de altura), contendo 15 mL de meio de cultura e um segmento nodal.

No experimento 2 foram utilizados segmentos de folhas jovens como explantes, visando a organogênese. Foram testadas as seguintes concentrações (mg/L) de 2,4-D (ácido 2,4-diclorofenoxiacético): T1:0; T2:10; T3:20; T4:40 e T5:80. Foram utilizadas placas de petri de vidro (9 cm de diâmetro) contendo 20 mL de meio de cultura e um segmento de folha, medindo cerca de 0,5 x 0,5 cm.

Após a introdução dos explantes nos respectivos meios nutritivos, as culturas foram mantidas em sala de crescimento com temperatura de 27±2 °C, radiação fotossintética ativa de 40 μmol.m⁻² s⁻¹ e fotoperíodo de 16 horas.

Os tratamentos foram arranajados de forma aleatória, utilizando-se oito repetições no experimento 1 e cinco repetições no experimento 2, para efeito dos cálculos das médias e porcentagens das diferentes características avaliadas. As porcentagens de contaminações, oxidações, explantes estabelecidos in vitro e aqueles que apresentaram alguma reação aos tratamentos, como a formação de brotos ou calos, foram avaliados 30 e 60 dias após a instalação do experimento.

Resultados e Discussão

O estabelecimento *in vitro*, para os dois tipos de tecidos (explantes) da faveleira, foi considerado satisfatório em relação à eliminação de contaminantes fúngicos e bacterianos. Esse resultado demonstra a eficiência do tratamento com o fungicida e bactericida contendo cloridrato de kasugamicina como princípio ativo, realizado previamente na planta matriz. Vale ressaltar que, em um experimento anterior, foi realizada uma tentativa do estabelecimento *in vitro* de segmentos nodais sem o tratamento prévio da planta matriz de faveleira com algum tipo de substância com propriedade fungicida ou bactericida. Nesse caso, 100% do material foi perdido por contaminação (dados não apresentados).

Bavaresco et al. (2017) realizaram o tratamento prévio da planta matriz de *Eucalyptus citriodora* com fungicidas para a posterior coleta de explantes para estabelecimento *in vitro*. Os autores constataram que o tratamento de descontaminação de plantas matrizes otimizou o protocolo de assepsia, sendo eficiente para a instalação das culturas da espécie. Eposio-Polesi (2020) recomenda o tratamento fitossanitário das plantas matrizes doadoras de explantes com o objetivo de manter baixos níveis de contaminação *in vitro*.

No experimento em que foram utilizados segmentos nodais como explantes, aos 30 dias após o cultivo *in vitro*, foi observada contaminação apenas por fungos, variando de 0% a 25% das amostras dos tratamentos, e não foi detectada contaminação por bactérias. Entretanto, aos 60 dias de cultivo *in vitro*, observou-se 14% de contaminação por bactérias no tratamento contendo 0,1 mg/L de BAP, não tendo sido observada nenhuma outra contaminação por fungos (Tabela 1). No experimento em que foram utilizadas folhas jovens como explantes não houve contaminações por fungos ou bactérias aos 30 e 60 dias de cultivo *in vitro*, fato que poderia ser explicado pela própria anatomia dos explantes de segmentos de folhas, que possuem menos reentrâncias e superfície mais lisa e uniforme, quando comparados com explantes de segmentos nodais, facilitando o processo de desinfestação da sua superfície.

Os contaminantes mais frequentes no cultivo *in vitro* de plantas são os fungos filamentosos, as bactérias e as leveduras (Oliveira et al., 2008). Contaminações por fungos raramente permanecem latentes *in vitro*, aparecendo logo nos primeiros dias após a inoculação dos tecidos (Leifert;

Woodward, 1998). No entanto, aquelas contaminadas por bactérias ou leveduras nem sempre são evidenciadas no início do cultivo (Montarroyos, 2000) e são, provavelmente, originadas de organismos endofíticos presentes no tecido.

Tabela 1. Porcentagem de culturas de segmentos nodais de faveleira (*Cnidoscopus quercifolius* Pohl) (Euphorbiaceae) sem espinhos contaminados aos 30 e 60 dias de cultivo in vitro, em função dos diferentes tratamentos avaliados. Embrapa Semiárido, Petrolina, PE, 2022.

Tratamentos (mg/L de BAP)	Culturas contaminadas (%)			
	30 dias		60 dias	
	Fungo	Bactéria	Fungo	Bactéria
T1: 0 (controle)	0	0	0	0
T2: 0,1	12	0	0	14
T3: 0,5	12	0	0	0
T4: 1,0	25	0	0	0
T5: 1,5	12	0	0	0

Corroborando com os resultados observados neste trabalho, Lattuada et al. (2019), avaliando a influência do tipo de explante no estabelecimento in vitro de hortelã (*Mentha piperita* L.), observaram que a porcentagem de contaminações em explantes de segmentos nodais por fungos (13,30%) foi maior do que aquela observada em explantes de segmentos de folhas (3,30%), assim como a contaminação por bactérias, que nos segmentos nodais foi de 7,70% e em segmentos de folhas foi 0%. No mesmo trabalho, na avaliação do estabelecimento in vitro de orégano (*Origanum vulgare* L.), os autores observaram que a porcentagem de contaminação por bactérias em explantes de segmentos nodais (31%) foi maior do que as observadas em explantes de segmentos de folhas (10%). Além disso, a contaminação bacteriana aumentou com o tempo, sendo de 8,80% aos 7 dias e 18,80% aos 14 dias de cultivo in vitro.

Nos primeiros 15 dias, a partir da data de instalação do experimento, a maior parte dos explantes, sejam aqueles oriundos de segmentos nodais ou de folhas jovens, apresentaram-se satisfatoriamente estabelecidos in vitro. Os explantes de segmentos nodais apresentaram a formação de novas folhas (Figura 2A) e, naqueles oriundos de segmentos de folhas, houve intumescimento com formação de estruturas globosas (Figura 2 B).

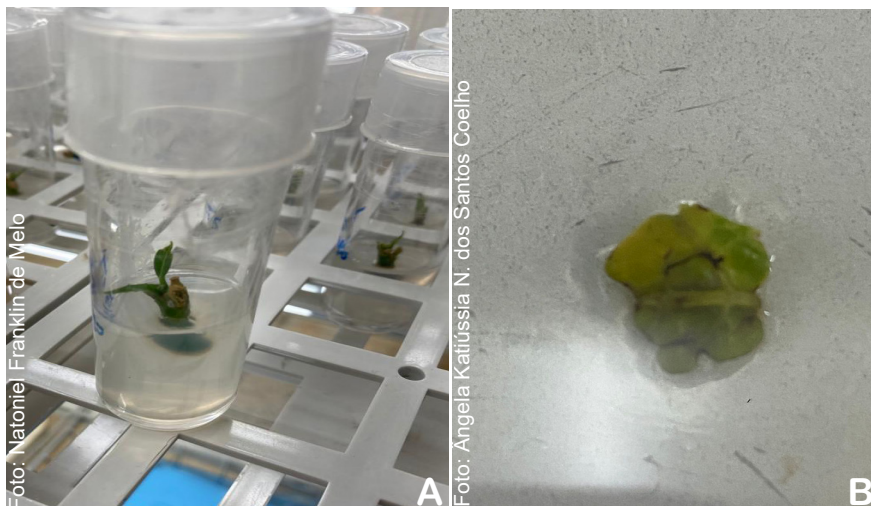


Figura 2. Segmentos nodais aos 14 dias (A) e explantes de folhas jovens de faveleira (*Cnidoscylus quercifolius* Pohl) (Euphorbiaceae) sem espinhos aos 25 dias (B) após a introdução nos meios de cultura.

Entretanto, após esse período, o número de explantes de segmentos de folhas jovens com sinais de oxidação aumentou significativamente (Tabela 2), não tendo sido observada oxidação nos explantes de segmentos nodais aos 30 e 60 dias de cultivo in vitro.

Tabela 2. Porcentagem de oxidação de segmentos de folhas jovens de faveleira (*Cnidoscylus quercifolius* Pohl) (Euphorbiaceae) sem espinhos aos 30 e 60 dias de cultivo in vitro, em função das diferentes concentrações de 2,4-D. Embrapa Semiárido, Petrolina, PE, 2022.

Tratamentos (mg/L de 2,4-D)	Oxidação (%)	
	30 dias	60 dias
T1: 0 (controle)	0	95
T2: 0,1	69	100
T3: 0,5	44	95
T4: 1,0	94	100
T5: 1,5	100	100

O processo de oxidação dos explantes ocorre em função da degradação oxidativa de compostos fenólicos e pode ser desencadeado pela lesão física do tecido vegetal. Durante o processo de oxidação, a atividade das enzimas relacionadas com o estresse oxidativo aumenta no local da lesão do

tecido, resultando no seu escurecimento (Agris, 2005; Singh; Singh, 2018). Segmentos de folhas possuem mais extremidades cortadas do que segmentos nodais, o que poderia explicar o fato de a maioria dos explantes deste tipo se apresentarem oxidados.

Corroborando com os resultados observados neste trabalho, Lattuada et al. (2019), avaliando a influência do tipo de explante no estabelecimento in vitro de hortelã (*Mentha piperita* L.), observaram que a porcentagem de oxidação foi maior em explantes de segmentos foliares (53,3%) quando comparada com os segmentos nodais (0%). Além disso, observou-se que a porcentagem de oxidação aumentou com o tempo, sendo de 1,10%, aos 7 dias, e 25,5%, aos 14 dias de cultivo in vitro.

Não ocorreu a proliferação de gemas em segmentos nodais expostos a diferentes concentrações de BAP avaliadas e nem a organogênese de segmentos de folhas jovens cultivadas em concentrações distintas de 2,4-D, aos 30 e 60 dias após a instalação do experimento.

O regulador vegetal BAP é uma citocinina sintética utilizada para o estabelecimento e a indução in vitro de brotos em espécies lenhosas nativas, como por exemplo, na indução in vitro de brotos em *Amburana cearensis* (Allem.) A. C. Smith, (Fabaceae), relatada por Campos et al. (2013), no estabelecimento in vitro de baraúna (*Schinopsis brasiliensis* Engl.), descrito por Souza et al. (2014), e na etapa de multiplicação in vitro de jequitibá-branco (*Cariniana estrellensis*), avaliada por Albino et al. (2019). Da mesma forma, outros relatos recentes confirmam a eficiência do BAP no estabelecimento e multiplicação in vitro de espécies lenhosas como em guabijuzeiro (*Myrcianthes pungens* (O. Berg) D. Legrand) e angico-vermelho (*Anadenanthera macrocarpa* (Benth.) Brenan - Fabaceae) (Miranda et al.; 2020; Souza et al., 2020).

O regulador vegetal 2,4-D é uma auxina sintética utilizada para a indução in vitro de calogênese em explantes de diversas espécies lenhosas, inclusive as nativas. Silva et al. (2020), por exemplo, observaram que a utilização de 2,4-D foi eficiente para a indução de calos em aroeira-do-sertão (*Myracrodruon urundeuva* Fr. All.). Golle et al. (2020) relataram que o uso do 2,4-D, em combinação com o BAP, foi eficiente na indução in vitro de calos em explantes de cerejeira-do-mato (*Eugenia involucreta* DC.), e Araújo et al. (2021) reportaram o uso do 2,4-D, em combinação com o BAP, para a indução in vitro de calos em explantes de caçari (*Myrciaria dubia* (Kunth.) (McVaugh).

Entretanto, um dos principais problemas relacionados ao cultivo *in vitro* de espécies lenhosas nativas é a sua recalcitrância à esta técnica. A proliferação *in vitro* de gemas axilares corresponde ao principal sistema de propagação *in vitro* utilizado para a multiplicação de genótipos selecionados por ser uma técnica mais simples quando comparada com a organogênese e embriogênese somática. O cultivo *in vitro* de espécies lenhosas pode ser considerado demorado e oneroso por causa da variabilidade genética entre espécies e dentro da mesma espécie, sendo necessário o ajuste da metodologia para cada material genético, fato que torna a técnica demorada e onerosa (Oliveira et al., 2013).

Avelar et al. (2020), após realizarem avaliações para o estabelecimento *in vitro* de *Corymbia citriodora* (Hook.) K.D. Hill & L.A.S Johnson e *Eucalyptus tereticornis* Smith, concluíram que era necessário o desenvolvimento de mais estudos para viabilizar o estabelecimento *in vitro* dessas espécies.

Vale registrar que, neste trabalho, após a eliminação das culturas contaminadas, e decorridos 120 dias da instalação do experimento, 100% dos explantes restantes oriundos de segmentos nodais se apresentaram estabelecidos. Em relação aos explantes de segmentos de folhas jovens, de 0% a 15% dos explantes foram estabelecidos *in vitro* (Tabela 3).

Tabela 3. Porcentagem de estabelecimento dos explantes de segmentos de folhas jovens de faveleira (*Cnidoscylus quercifolius* Pohl) (Euphorbiaceae) sem espinhos aos 120 dias de cultivo *in vitro*, em função das diferentes concentrações de 2,4-D. Embrapa Semiárido, Petrolina, PE, 2022.

Tratamentos (mg/L de 2,4-D)	Explantos estabelecidos aos 120 dias (%)
T1: 0 (controle)	15
T2: 0,1	5
T3: 0,5	0
T4: 1,0	0
T5: 1,5	5

A fase de estabelecimento consiste em manter a cultura asséptica *in vitro* com altos índices de sobrevivência e com rápido crescimento dos explantes. São vários os fatores que influenciam esta fase, entre eles a composição do meio de cultura, os reguladores vegetais, a concentração de sacarose, a iluminação, o tipo de explante, a oxidação e contaminação dos explantes (Barrueto Cid; Teixeira, 2010).

Em relação ao tipo de explante, segmentos nodais se caracterizam por serem tecidos meristemáticos, cuja multiplicação das gemas ocorre por meio da proliferação e crescimento de meristemas pré-existentes no explante. Segmentos de folhas são tecidos não meristemáticos e dependem da formação “de novo” de gemas adventícias para sua multiplicação (Chawla, 2004).

Neste trabalho, os explantes que tiveram maior porcentagem de estabelecimento aos 120 dias de cultivo in vitro foram os segmentos nodais, resultado que pode ser atribuído ao fato destes materiais possuírem tecidos meristemáticos. Resultados semelhantes foram obtidos por Lattuada et al. (2019) ao avaliarem a influência do tipo explante no estabelecimento in vitro de orégano (*Origanum vulgare* L.) e hortelã (*Mentha piperita* L.), observando-se que os segmentos nodais foram os mais promissores entre os explantes testados, para ambas as espécies, como também por Oliveira et al. (2021) ao utilizarem segmentos nodais como explantes para o estabelecimento in vitro de oliveira (*Olea europaea* L.) cv. Koroneiki.

Além do tipo de explante, o processo de oxidação também pode influenciar no estabelecimento dos explantes in vitro (Barrueto Cid; Teixeira, 2010). Altas concentrações de compostos fenólicos possuem efeito inibitório no desenvolvimento dos explantes in vitro (Kerbaui, 2004; Ribeiro et al., 2020). Neste trabalho, os explantes que tiveram maior porcentagem de estabelecimento aos 120 dias de cultivo in vitro foram os segmentos nodais que não apresentaram oxidação nos períodos de 30 e 60 dias de cultivo in vitro. Ao contrário, segmentos de folhas jovens apresentaram elevada porcentagem de oxidação aos 30 e 60 dias e baixa porcentagem de estabelecimento aos 120 dias de cultivo in vitro.

Conclusões

O prévio tratamento fitossanitário da planta de faveleira sem espinho com fungicida e bactericida contendo cloridrato de kasugamicina como princípio ativo, na concentração de 1%, é eficiente na redução da contaminação in vitro.

Segmentos nodais herbáceos de faveleira podem ser utilizados como explantes no estabelecimento in vitro deste genótipo.

As concentrações de 0,1 mg/L; 0,5 mg/L; 1,0 mg/L e 1,5 mg/L do regulador vegetal BAP, nos períodos de 30 e 60 dias de cultivo *in vitro*, não induzem proliferação de gemas em segmentos nodais de faveleira.

As concentrações de 10 mg/L; 20 mg/L; 40 mg/L e 80 mg/L do regulador vegetal 2,4-D, nos períodos de 30 e 60 dias de cultivo *in vitro*, não induzem a organogênese em segmentos de folhas de faveleira.

Agradecimentos

À Embrapa Semiárido, pelo suporte financeiro, e à Angela Katiússia Nascimento dos Santos Coelho e Tatiane Cezario dos Santos, que auxiliaram na instalação e acompanhamento deste trabalho.

Referências

- AGRIOS, G. N. **Plant Pathology**. 5nd. ed. Cambridge: Academic Press, 2005. 922 p.
- ALBINO, B. É. S.; CANATTO, R. A.; CORDEIRO, A. T.; FUKUSHIMA, C. H.; PILON, A. M. Propagação *in vitro* de jequitibá-branco (*Cariniana Estrellensis*): uma alternativa para programas de reflorestamento. **Brazilian Journal Of Biosystems Engineering**, v. 13, n. 2, p. 88-99, 2019.
- ARAÚJO, M. da C. da R.; CHAGAS, E. A.; VENDRAME, W.; RIBEIRO, M. I. G.; MOURA, E. A. de; TAVEIRA, D. L. L.; CHAGAS, P. C.; GRIGIO, M. L. Callus induction and pro-embryogenic mass formation in *Myrciaria dubia*, an important medicinal and nutritional plant. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 21, n. 3, 2021. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/230705/1/DocPlayer.pdf>. Acesso em: 14 mar. 2022.
- AVELAR, M. L. M.; SOUZA, D. M. S. C.; MACEDO, E. H. M.; MOLINARI, L. V.; BRONDANI, G. E. *In vitro* establishment of *Eucalyptus* and *Corymbia* species from epicormic shoots. **Revista Árvore**, v. 44, 2020. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/1806-908820200000027>.
- BAKKE, O. A.; BAKKE, I. A.; PEREIRA-FILHO, J. M.; SILVA, D. S. da; MACHADO, F. A. *Cnidocolus quercifolius*: Favela. In: CORADIN, L.; CAMILLO, J.; PAREYN, F. G. C. (ed.). **Espécies nativas da flora brasileira de valor econômico atual ou potencial: plantas para o futuro: região Nordeste**. Brasília, DF: MMA, 2018. Cap. 5, p. 688-695 il. color. (Série Biodiversidade, 51).
- BAVARESCO, L. G.; PASQUALI, R.; FLUMINHAN, A. Cultivo *in vitro* de explantes removidos de plantas cultivadas a campo visando a micropropagação de *Eucalyptus citriodora*. **Periódico Eletrônico Fórum Ambiental da Alta Paulista**, v. 3, n. 6, 2017. DOI: <https://doi.org/10.17271/1980082713620171714>.
- BARRUETO CID, L. P. B.; TEIXEIRA, J. B. Explante, meio nutritivo, luz e temperatura. In: BARRUETO CID, L. P. (ed.). **Cultivo *in vitro* de plantas**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2010. p. 15-49.
- CAMPOS, V. C. A.; LIMA-BRITTOII, A.; GUTIERREZIII, I. E. M. de; SANTANA, J. R. F. de; SOUZA, A. V. V. de. Micropropagação de umburana de cheiro. **Ciência Rural**, v. 43, n. 4, p. 639-644, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0103-84782013005000018>.

- CANDEIA, B. L.; BAKKE, O. A.; ARIEL, E. F.; BAKKE, I. A. Production of thornless *Cnidoscopus phyllacanthus* progenies from open pollinated native trees. **Pesquisa Florestal Brasileira**, v. 30, n. 62, p. 147-152, 2010. Disponível em: <https://pfb.cnpf.embrapa.br/pfb/index.php/pfb/article/view/171>. Acesso em: 5 jun. 2022.
- CHAWLA, H. S. **Introduction to plant biotechnology**. 2nd. ed. Enfield: Science Publishers, 2004. 538 p.
- EPOSIO-POLESI, N. P. Contaminação versus manifestação endofítica: implicações no cultivo in vitro de plantas. **Rodriguésia**, 71, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1590/2175-7860202071072>.
- GUERRA, M. P.; NODARI, R. O.; FRAGA, H. P. de F.; VIEIRA, L. do N.; FRITSCHÉ, Y. **FIT5507 – Biotecnologia I**: apostila v2016.1. Florianópolis: Universidade Federal de Santa Catarina, 2006. Disponível em: <https://fdgv.paginas.ufsc.br/files/2014/08/Apostila-Biotec-2016.1-Final.pdf>. Acesso em: 14 mar. 2022.
- GOLLE, D. P.; REINIGER, L. R. S.; STEFANEL, C. M.; SERROTE, C. M. L.; RABAIOLLI, S. M. dos S.; SILVA, K. B. da. Fitorreguladores e luminosidade na indução à calogênese em explantes foliares de *Eugenia involucrata* DC. **Ciência Florestal**, v. 30, n. 3, 2020. DOI: <https://doi.org/10.5902/1980509826987>.
- KERBAUY, G. B. **Fisiologia vegetal**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. 452 p.
- LATTUADA, D. S.; GUASSO, L.Z.; OLIVEIRA, K. M. de; SILVA, V. M. da; SOUZA, P. V. D. de Tipos de explantes para estabelecimento in vitro de orégano e hortelã. **Pesquisa Agropecuária Gaúcha**, v. 25, n. 3, p. 91-103, 2019. DOI: <https://doi.org/10.36812/pag.201925391-103>.
- LEIFERT, C.; WOODWARD, S. Laboratory contamination management: the requirement for microbiological quality assurance. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**. v. 52, n. 01/ 02, p. 83- 88, 1998
- LORENZI, H. *Cnidoscopus phyllacanthus* (M. Arg.) Pax & K. Hoffm. In: **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. Nova Odessa: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 1998. v.2, p.92.
- LLOYD, G.; MCCOWN, B. Commercially feasible micropropagation of mountain laurel *Kalmia latifolia* by use of shoot-tip culture. **Proceedings International Plant Propagator Society**, v. 30, p. 421-427, 1980.
- MAYA-LASTRA, C. A.; TORRES, D. S. C.; CORDEIRO, I.; SILVA, O. L. M. *Cnidoscopus quercifolius* Pohl. In: JARDIM BOT NICO DO RIO DE JANEIRO. **Flora e Funga do Brasil**. Rio de Janeiro, 2022. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB17494>. Acesso em: 25 mar. 2022
- MIRANDA, J. S.; SANTANA, A. da C. B.; NASCIMENTO, A. R.; DIDOLANVI, O. D.; MENEZES, A. C. P.; SANTOS, E. N.; SOUZA, A. V. V. de. Tipos de explantes e concentração de BAP (6-benzilaminopurina) no estabelecimento in vitro de angico-vermelho. **Revista Ouricuri**, v.10, n.1. p.001-008, 2020.
- MONTARROYOS, A. V. V. Contaminação in vitro. **ABCTP Notícias**, n. 36/37, p. 5-10, 2000.
- NAÇÕES UNIDAS. **Objetivo de desenvolvimento sustentável 2: fome zero e agricultura sustentável**. Brasília, DF, 2022. Disponível em: <https://brasil.un.org/pt-br/sdgs/2>. Acesso em: 12 mar. 2022.
- OLIVEIRA, O. R.; TERAÓ, D.; CARVALHO, A. C. P. P.; INNECCO, R.; ALBUQUERQUE, C. C. Efeito de óleos essenciais de plantas do gênero *Lippia* sobre fungos contaminantes encontrados na micropropagação de plantas. **Revista de Ciências Agronômicas**, v. 39, n. 1, p. 94-100, 2008.

OLIVEIRA, L. S. de; DIAS, P. C.; BRONDANI, G. E. Micropropagação de espécies florestais brasileiras. *Pesquisa Florestal Brasileira*, v. 33, n. 76, p. 439-453, 2013.

OLIVEIRA, N. P.; RIBEIRO, S. A. F.; SOUZA, M. M. de. Controle de contaminação e oxidação no cultivo in vitro de oliveira (*Olea europaea* L.) cv. "Koroneiki". **Research, Society and Development**, v. 10, n. 5, 2021. DOI: <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v10i5.14929>.

RÊGO, M. M.; OLIVEIRA, F. J. V.; RÊGO, E. R.; SILVA E. de B.; NEVES, J. A de L. Desinfestação e germinação in vitro de sementes de faveleira (*Cnidoscylus phyllacanthus* (M. Arg.) Pax & K. Hoffm). **Ornamental Horticulture**, v.13, p. 1209-1212, 2007. DOI: <https://doi.org/10.14295/oh.v13i0.1641>.

RIBEIRO, J. M.; BASTOS, D. C.; OLIVEIRA, E. A. G.; PINTO, M. S. T. **Produção de mudas micropropagadas de videira, mangueira e goiabeira**. Petrolina: Embrapa Semiárido, 2010. (Embrapa Semiárido. Documentos, 230). Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/29164/1/Juliana1.pdf>. Acesso em: 4 maio 2022.

RIBEIRO, J. M.; SANTOS, C. A. F.; MELO, N. F. de. **Desenvolvimento in vitro de sementes imaturas provenientes de cruzamentos interespecíficos de *Psidium* spp.** Petrolina: Embrapa Semiárido, 2020. (Embrapa Semiárido. Boletim de pesquisa e desenvolvimento, 141). Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/215642/1/Desenvolvimento-in-vitro-de-Sementes-Imaturas-2020.pdf>. Acesso em: 14 fev. 2022.

SALES, F. das C. V.; BAKKE, O. A.; ARRIEL, E. F.; BAKKE, I. A. Enxertia da faveleira (*Cnidoscylus phyllacanthus*) sem espinhos. **Ciência Rural**, v. 38, n. 5, p. 1443-1446, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0103-84782008000500039>.

SILVA, T. dos S.; FILHO, R. S. L. C.; TANAN, T. T.; ROCHA, T. C.; SANTANA, J. R. F. de. Calogênese em *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. **Ciência Florestal**. v. 30, n. 3, 2020. DOI: <https://doi.org/10.5902/1980509831689>.

SINGH, K. K.; SINGH, S. P. A review: micropropagation of guava (*Psidium* spp.). **Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry**, v. 7, n. 4, p. 145-150, 2018. Disponível em: <https://www.phytojournal.com/archives/2018/vol7issue4/PartC/7-3-298-706.pdf>. Acesso em: 14 jan. 2022.

SOUZA, A. V. de; SANTOS, M. da C.; SOUZA, M. D. de; LARANJEIRA, L. R. **Protocolos de assepsia para o estabelecimento in vitro de espécies medicinais nativas da Caatinga**. Petrolina: Embrapa Semiárido, 2014. 6 p. il. (Embrapa Semiárido. Comunicado Técnico, 160). Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/114719/1/COT160.pdf>. Acesso em: 8 jun. 2022.

SOUZA, L. dos S. de; CAMPOS, S. S. de; AVRELLA, E. D.; FIOR, C. S.; SCHWARZ, S. F. In vitro rooting and multiplication of *Myrcianthes pungens* (O. Berg) D. Legrand. **Floresta e Ambiente**, v. 27, n. 1, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1590/2179-8087.111917>.

VIANA, O. J.; CARNEIRO, M. S. S. Plantas forrageiras xerófilas – I: faveleira inerme, *Cnidoscylus phyllacanthus* (Mart.) Pax & K. Hoffm.) no Semi-Árido cearense. **Ciência Agronômica**, v. 22, n. 1/2, p. 17-21, 1991.

WHITE, P. R. Nutrient deficiency studies and an improved inorganic nutrient medium for cultivation of excised tomato roots. **Growth**, v. 7, p. 53-65, 1943. GOLLE, D. P.; REINIGER, L. R. S.; STEFANEL, C. M.; SERROTE, C. M. L.; RABAIOLLI, S. M. dos S.; SILVA, K. B. da. Fitorreguladores e luminosidade na indução à calogênese em explantes foliares de *Eugenia involucrata* DC. **Ciência Florestal**, v. 30, n. 3, 2020. DOI: <https://doi.org/10.5902/1980509826987>.

Embrapa

Semiárido



MINISTÉRIO DA
AGRICULTURA, PECUÁRIA
E ABASTECIMENTO

