

RESPOSTA IN VITRO DE ÁPICES CAULINARES E SEGMENTOS NODAIS DE *Carapa guianensis* Aublet.

MONTEIRO, Albene Liz Carvalho¹; VIEIRA, Irenice Maria Santos²; BARBOSA, Antonia do Socorro Aleixo³; CONCEIÇÃO, Heráclito Eugênio Oliveira da⁴; BOTELHO, Marcel do Nascimento⁵; SANTOS, Dora Suely Barbosa dos⁶; MANTELL, Sinclair H⁷.

INTRODUÇÃO

As espécies medicinais do Brasil, constituintes do patrimônio genético vegetal do planeta, representam um enorme grupo de plantas, dos mais variados tipos, reunidas sob esta denominação unicamente pela capacidade de produzir metabólitos secundários, de interesse medicinal.

Considerando o universo das espécies medicinais de intenso uso no Brasil, pode-se destacar a importância do emprego da Andiroba (*Carapa guianensis* Aublet), pertencente à família Meliaceae, que possui em suas sementes um óleo amargo constituído por um alcalóide denominado “carapina” utilizado na medicina popular por desenvolver funções terapêuticas variadas: cicatrizante, insetífugo, anti-inflamatório externo, febrífugo, anti-helmíntico, reumatismos, afecções da garganta, amigdalite e parodite (BERG, 1982; PESCE, 1985; RODRIGUES, 1989). Não só do óleo e suas sementes provêm sua importância econômica, com a escassez de outras espécies de Meliaceae como o Mogno e o Cedro (tidas como madeiras de exportação), a andiroba passou a ser explorada também por sua madeira de qualidade elevada, resistente ao ataque de insetos e útil na construção civil e naval, carpintaria, marcenaria, compensados, chapas decorativas, pisos e objetos de adorno (ACERO *et al.*, 1979).

A micropropagação ou propagação vegetativa *in vitro* é uma das principais ferramentas da cultura de tecidos para preservação e propagação rápida de espécies que levam longo tempo para germinar, possuem baixa taxa de frutificação (NEHRA *et al.*, 1990; GRATTAPAGLIA & MACHADO, 1998) ou apresentam problemas fisiológicos como germinação desuniforme e baixa viabilidade das sementes em função da recalcitrância, entre estas a Andiroba que, ao apresentar seu princípio ativo retirado de suas sementes vem sofrendo dificuldades na perpetuação da espécie.

Em virtude destes problemas as técnicas de cultura de tecidos vêm solucionar a uniformidade na produção de mudas além de viabilizar material altamente asséptico e geneticamente superior.

HICKS (1980) relatou a necessidade, primeiramente, da indução de calos no explante primário, durante o processo de organogênese indireta. Calos são tecidos não diferenciados, constituídos por massa de células diferenciadas e desorganizadas que desenvolvem como resposta a injúrias físicas ou desbalanço hormonal (YEOMAN & MAC LEOD, 1997), podem apresentar composição bioquímica e exigências distintas em relação ao explante de origem (PHAN, DO e HEGEDUS, 1987).

Este trabalho teve por objetivo avaliar a influência das diferentes combinações dos reguladores de crescimento: Ácido 2,4-Diclorofenoxiacético (2,4-D) e 6 – Benzilaminopurina (6-BAP) no desenvolvimento *in vitro* de calos em ápices caulinares e segmentos nodais de Andiroba (*Carapa guianensis* Aublet.).

MATERIAIS E MÉTODOS

O trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Biotecnologia Vegetal da Faculdade de Ciências Agrárias do Pará (FCAP). Para a obtenção de calos de *C. guianensis* Aublet foram utilizados dois tipos de explantes: ápices caulinares e segmentos nodais, com 2 gemas/segmento, os quais foram excisados de plantas oriundas de câmara de germinação com fotoperíodo de 16 horas/luz/dia e temperatura de 30,3°C durante 15 dias.

A desinfestação dos explantes se realizou através da imersão em água corrente por 30 minutos. Em câmara de fluxo laminar, sob condições assépticas, os explantes foram imersos em etanol 70% por 1 minuto e solução de hipoclorito de sódio concentrado (NaOCl) 2% acrescida de uma gota de espalhante Tween 20 por 15 minutos. Após o processo de assepsia os explantes foram lavados em água destilada e autoclavada, por três vezes, para remoção do excesso das soluções desinfestantes.

Os ápices caulinares e os segmentos nodais foram inoculados em tubos de ensaio medindo 20 x 150 mm contendo aproximadamente 15 mL de meio WPM (MCCOWN & LLOYD, 1981), autoclavado, pH 5,8, contendo macronutrientes, micronutrientes, vitaminas, sacarose 3%, phytigel 0,2%, 200 mg.L⁻¹ de PVP (Polivinilpirrolidona) suplementado com os reguladores de crescimento 2,4-Ácido Diclorofenoxiacético (2,4-D) e 6-Benzilaminopurina (6-BAP) em concentrações e combinações expressas na Tabela 1.

Após a inoculação *in vitro*, os explantes foram desenvolvidos em câmara de crescimento sob a temperatura de 25°C ± 2°C, fotoperíodo de 16 horas/luz/dia.

¹ Bolsista de Iniciação Científica CNPq/FCAP/Aluna do 6º semestre em Agronomia. alcm-monteiro@bol.com.br

² Orientadora/ Professora/Pesquisadora D.Sc. DQT/FCAP/ Coordenadora do Projeto.

³ Mestranda em Agronomia/Biologia Vegetal Tropical/CAPES/FCAP.

⁴ Pesquisador / D.Sc.EMBRAPA/Amazônia Oriental.

⁵ Professor/Pesquisador M.Sc. DQT/FCAP.

⁶ Professora D.Sc./ Pesquisadora CNPq/Coordenadora CEMEC/UEMG/ /Belo Horizonte - MG.

⁷ Pesquisador / PhD - Wye College – University of London.

Ao final de 30 dias o experimento foi avaliado em sua porcentagem de calo/explante, esta característica foi avaliada atribuindo-se valores de 0 a 100%, de 5 em 5%, conforme o explante inicial se apresentava coberto por calos.

O delineamento estatístico utilizado foi o Inteiramente casualizado com 4 tratamentos e 6 repetições para ápices caulinares e 4 tratamentos e 7 repetições para segmentos nodais, perfazendo um total de 52 parcelas. Os dados foram avaliados aplicando-se a análise estatística de Tukey, $\alpha = 0,5$.

Tabela 1. Combinações e concentrações dos reguladores de crescimento utilizados na indução de calogênese em ápices caulinares e segmentos nodais de Andiroba.

TRATAMENTOS	FITORREGULADORES (mg.L ⁻¹)	
	2,4-D	6- BAP
T ₀	0.0	0.0
T ₁	0.5	0.5
T ₂	1.0	0.5
T ₃	0.5	1.0

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Aos 30 dias de experimento todos os tratamentos, exceto o tratamento T₀, apresentaram calos com consistência friável.

Nos tratamentos com ausência de reguladores de crescimento para os dois tipos de explantes, a concentração hormonal endógena não foi suficiente para a manifestar a indução de calos revelando diferenças significativas a nível de 1% de probabilidade pelo teste F e 5% de probabilidade pelo teste de Tukey dos demais tratamentos para ápices caulinares e não diferindo apenas do tratamento T₂ para segmentos nodais (Tabela 2).

Como se pode observar no Gráfico 1 os melhores tratamentos para indução de calos foram o tratamento T₃ (0,5 mg.L⁻¹ de 2,4-D + 1,0 mg.L⁻¹ de 6-BAP) para ápices caulinares (Figura 1, foto A e B) e tratamento T₂ (1,0 mg.L⁻¹ de 2,4-D + 0,5 mg.L⁻¹ de 6-BAP) para segmentos nodais (Figura 1, foto C e D) revelando massa de calos mais compactas e uniformes em relação aos outros tratamentos.

O balanço hormonal, verificado através dos reguladores de crescimento, deveu-se as respostas morfogênicas dos explantes proporcionando a conversão dos ápices caulinares e dos segmentos nodais em massas de calos.

FIGURA 1. (A, B) Área coberta com calos em ápices caulinares no tratamento T₃; (C, D) Área coberta com calos em segmentos nodais no tratamento T₂.

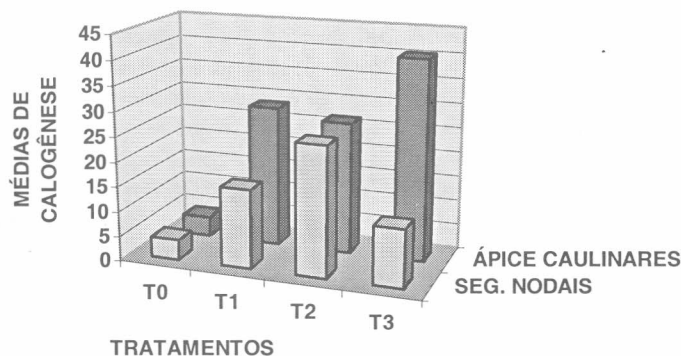
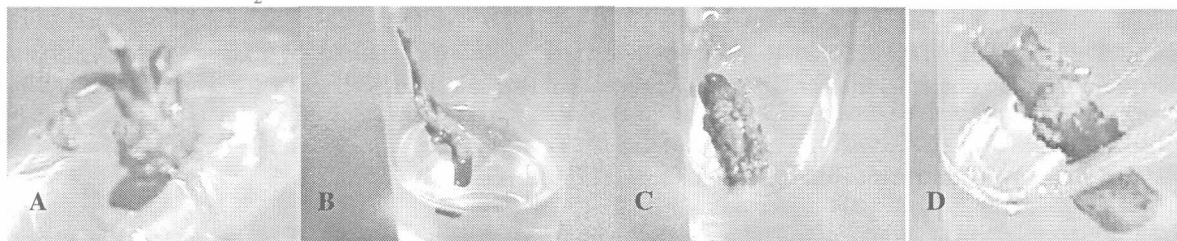


GRÁFICO 1. Médias de calogênese aos 30 dias de inoculação nos tratamentos com ápices caulinares e segmentos nodais de Andiroba (*C. guianensis* Aublet.).

CONCLUSÃO

Em ápices caulinares e segmentos nodais de *C. guianensis* para que ocorra qualquer manifestação de indução de calos é necessário o suprimento exógeno de reguladores de crescimento.

TABELA 2. Teste Tukey (5%) de médias transformadas ARC SEM SQRT ($X + 0,5$) de calogênese em ápices caulinares e segmentos nodais de Andiroba (*C. guianensis* Aublet.). FCAP, Belém – PA, 2001.

ÁPICES	SEG. NODAIS
T ₃ 40.3305 A	T ₂ 26.0237 A
T ₁ 28.4434 A	T ₃ 15.8086 AB
T ₂ 26.5570 A	T ₁ 11.5650 AB
T ₀ 4.0548 B	T ₀ 4.0548 B

As concentrações de 1,0 mg.L⁻¹ de 2,4-D e 0,5 mg.L⁻¹ de 6-BAP combinadas entre si, expressas no tratamento T₃, foram mais eficientes na indução de calos em ápices caulinares.

As concentrações de 0,5 mg. L⁻¹ de 2,4-D + 1,0 mg. L⁻¹ de 6-BAP combinadas entre si, expressas no tratamento T₂, foram mais eficientes na indução de calos em segmentos nodais.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACERO, D.L.E.; RODRIGUES, S.; DELGADO, G.; TORRES, A.R.; 1979. Principales Plantas Útiles de la Amazonia Colobiana. P.115-116.

BERG, M.E.; van den. Plantas Medicinais da Amazonia: contribuição ao seu conhecimento sistemático. Belém: **CNPq/PTU**, 1982.223p.

DIXON, R.A. Isolation and maintenance of callus and cell suspension cultures. In: _____. **Plant cell culture**. Oxford, IRL Press, 1985. P.1-20.

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M.A. Micropropagação. In: Torres, A.C.; Caldas, L.S; Buso, J.A. **Cultura de tecidos e transformação de plantas**. Brasília, EMBRAPA-SPI/EMBRAPA-CNPH, 1998. v.1, p.183-260.

HICKS, G.S. Patterns of organ development in plants tissue culture and the problem of organ determination. **Botanical Review**, v.46, p.1-23, 1980.

MCCOWN, B. & LLOYD, G. Woody Plant Medium (WPM) – A mineral nutrients formulation for microculture of wood plant species. **HortScience**, 16:453. 1981.

NEHRA, N.S.; STUSLNOFF, C.; KARTHA, K.K. Regeneration of plants from immature leaf-derived callus of strawberry (*Fragaria X Ananassa*). **Plant Science**, v.66, p.119-126, 1990.

PESCE, C. Oil Plants and Other Oilseeds of the Amazon. Trad e Ed. Dennis V, Johnson. **Reference Publ. Fuc.**, 1985, p.142-146.

PHAN, C.T.; DO, C.B.; HEGEDUS, P. Metabolic aspects of *in vitro* culture of plants; problems and applications comparison of soluble contents, marker enzymes between explant, callus and cell suspension culture. **Exp. Biol.**, 46(3):58, 1987.

RODRIGUES, R.M. **A flora Amazônica**. Belém, Cejup. 1989, 34-35.

YEOMAN, M.M & MACLEOD, A.J. Tissue (callus) cultures-techniques. In: STREET, H.E. ed. **Plant tissue and cell culture**. Berkeley, University of California, 1977. P.31-59.