

**GERMINAÇÃO E PROPAGAÇÃO *IN VITRO* DE CEREJEIRA**  
**(*Amburana acreana* (Ducke) A.C. Smith - FABACEAE)**

***IN VITRO* GERMINATION AND PROPAGATION OF CEREJEIRA**  
**(*Amburana acreana* (Ducke) A.C. Smith - FABACEAE)**

Paulo Cesar Poeta Fermino Junior<sup>1</sup> Jonny Everson Scherwinski-Pereira<sup>2</sup>

**RESUMO**

A cerejeira (*Amburana acreana* (Ducke) A.C. Smith) é uma espécie arbórea nativa da Amazônia Sul-Occidental de grande importância madeireira, no entanto, encontra-se ameaçada de extinção. A propagação por cultura de tecidos desta espécie é de grande importância devido às dificuldades de coleta de sementes. Os objetivos deste trabalho foram avaliar a germinação *in vitro* e estabelecer protocolos para multiplicação e enraizamento *in vitro* de brotos de cerejeira. Para a germinação *in vitro* foram avaliadas diferentes concentrações salinas do meio MS e WPM (*Woody Plant Medium*). Foram utilizados segmentos nodais de plântulas germinadas *in vitro* para a multiplicação de brotos, onde se testaram diferentes concentrações de BAP (0; 0,25; 0,5; 1,0; 2,0; 4,0; 8,0 mg.L<sup>-1</sup>) combinadas com ANA (0,1 mg.L<sup>-1</sup>). O enraizamento *in vitro* foi induzido com meio WPM/2, acrescido de 0,2 mg.L<sup>-1</sup> de carvão ativado, suplementado com diferentes concentrações de AIB (0; 0,5; 1,0; 2,0 mg.L<sup>-1</sup>). O maior percentual de germinação *in vitro* foi obtido com o meio MS/2. A formação do maior número de brotos ocorreu com a concentração de BAP de 4,0 mg.L<sup>-1</sup>. A formação do maior número de raízes ocorreu com 0,5 mg.L<sup>-1</sup> de AIB. As plântulas foram aclimatizadas em casa de vegetação com percentual de 54% de sobrevivência. A propagação *in vitro* da cerejeira é uma tecnologia viável para a produção de mudas apesar das dificuldades na sobrevivência de plantas em casa de vegetação.

**Palavras-chave:** micropropagação; espécie arbórea; plantas lenhosas.

**ABSTRACT**

Cerejeira (*Amburana acreana*) is a woody native tree species from south-western Amazon Region of a great importance and endangered. The propagation by tissue culture of this species is of a great importance because the difficulties of its seed collection. The purpose of this study was to evaluate the *in vitro* germination and to establish a protocol for *in vitro* multiplication and rooting. For *in vitro* germination, the salt concentrations of MS and WPM (*Woody Plant Medium*) were evaluated. For *in vitro* multiplication of shoots it was used nodal segments of *in vitro* seedlings. The propagation media were composed of WPM salts, supplemented with different BAP concentrations (0, 0.25, 0.5, 1.0, 2.0, 4.0, 8.0 mg.L<sup>-1</sup>) and 0.1 mg L<sup>-1</sup> of NAA. The *in vitro* rooting was induced in half strength WPM salts, plus 0.2 mg L<sup>-1</sup> activated charcoal and supplemented with different IBA concentrations (0, 0.5, 1.0, 2.0 mg.L<sup>-1</sup>). The highest percentage of *in vitro* germination was obtained in the MS/2 medium. The formation of largest number of shoots occurred with 4.0 mg L<sup>-1</sup> BAP. The formation of a greater number of roots occurred with 0.5 mg L<sup>-1</sup> of IBA. The plantlets were air-conditioned in a greenhouse with 54% of survival rate. The *in vitro* propagation of Cerejeira is a viable technology for the production of seedlings in spite of the difficulties in the survival of plants in the greenhouse.

**Keywords:** micro-propagation; tree species; wood plants.

1. Biólogo, Dr., Professor Adjunto do Centro de Ciências Biológicas e da Natureza, Universidade Federal do Acre, Campus Universitário, BR-364, Km 04, CEP 69915-900, Rio Branco (AC). paulofermino@ufac.br
2. Engenheiro Agrônomo, Dr., Pesquisador A da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Recursos Genéticos e Biotecnologia, Parque Estação Biológica, Av. W5 Norte, CEP 70770-91, Brasília (DF). jonny@cenargen.embrapa.br

Recebido para publicação em 12/03/2009 e aceito em 17/03/2011

## INTRODUÇÃO

A Amazônia é um bioma rico em biodiversidade, porém, vem sofrendo diversos impactos ocasionados pela ação antrópica. A exploração madeireira é um dos principais fatores responsáveis por danos severos às florestas, propiciando grandes devastações (FEARNSIDE, 2006). Dentre as espécies florestais nativas da Amazônia costumeiramente comercializadas, tanto em âmbito nacional como internacional, destaca-se a cerejeira (*Amburana acreana* (Ducke) A.C. Smith), a qual possui elevado valor econômico (SILVA, 2004), mas, no entanto, encontra-se ameaçada de extinção. A cerejeira, também conhecida como cumaru-de-cheiro, é uma espécie arbórea de grande porte, podendo atingir até 30m. Na região amazônica está distribuída nos Estados de Rondônia, Acre e Amazonas (ALBRECHT et al., 1986). A frutificação ocorre nos meses de agosto a outubro e as sementes aladas são dispersas pelo vento, dificultando a coleta no interior das florestas (FIRMINO et al., 1995). Portanto, a propagação em viveiro, utilizando como propágulo sementes, torna-se uma atividade difícil para esta essência florestal nativa.

Para diversas espécies florestais têm-se obtido resultados que indicam a possibilidade de produção, num curto espaço de tempo, de grandes quantidades de novas plantas a partir de um único explante, por meio da cultura de tecidos (XAVIER, 2007). A propagação *in vitro* de cerejeira (*Amburana acreana*) abre possibilidades para a conservação e utilização do potencial econômico desta espécie em reflorestamentos para fins madeireiros, por meio da multiplicação de genótipos selecionados, disponibilizando ao produtor mudas para plantios *ex-situ*.

As técnicas de propagação *in vitro* permitem a produção massal de indivíduos com características genéticas desejáveis e com alto padrão de sanidade das mudas (GEORGE, 1993; XAVIER, 2007). Segundo Merkle e Nairn (2005), a biotecnologia florestal empregada para espécies tropicais poderá aumentar a disponibilidade de madeiras nas áreas manejadas, reduzindo a pressão de degradação nas florestas nativas. As espécies arbóreas pertencentes à família das leguminosas são conhecidas por serem recalcitrantes à cultura de tecidos (JHA et al., 2004). Nesse contexto, estudos de germinação e propagação *in vitro* de cerejeira (*Amburana acreana*) são inexistentes.

O processo de germinação é um mecanismo dependente da viabilidade das sementes e de condições ambientais favoráveis (BEWLEY e BLACK, 1984; GUI-FERREIRA & BORGHUETTI, 2004). 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, 1993). Em se tratando da germinação *in vitro*, a concentração de sais no meio de cultura deve influenciar na passagem de água durante a fase inicial de embebição.

Em espécies lenhosas, o meio MS (MURASHIGE e SKOOG, 1962) não se mostra satisfatório em alguns casos, mas as composições mais diluídas dos sais apresentam melhor desempenho (GRATTAPAGLIA e MACHADO, 1998). O meio nutritivo WPM (*Woody Plant Medium*) (LLOYD e MCCOWN, 1981), por exemplo, apresenta 25% das concentrações dos 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).

A multiplicação *in vitro* de brotos tem sido utilizada com sucesso para algumas espécies arbóreas tropicais. Em oliveira (*Olea europaea* L.) o estabelecimento e a multiplicação de brotos, a partir de segmentos nodais, ocorreram com o uso de 2,0 e 4,0 mg.L<sup>-1</sup> de zeatina (ZEA) adicionada ao meio de cultura WPM (DONINI et al., 2008). Para *Cedrela fissilis* Vell. (Meliaceae), brotos adventícios foram obtidos a partir de nós cotiledonares na presença de 1,25 a 5,0 µM de 6-benzilaminopurina (BAP) (NUNES et al., 2002). Em mogno (*Swietenia macrophylla* King), brotações adventícias surgiram a partir de segmentos nodais em meio contendo BAP e 2-isopenteniladenina (2-iP) (SCHOTTZ et al., 2007).

Um importante fator no processo de micropropagação de espécies florestais é a rizogênese, a qual é o processo de desenvolvimento de raízes adventícias nas partes aéreas provenientes da multiplicação, possibilitando o transplante para o ambiente *ex vitro* (SOUZA e PEREIRA, 2007). A ocorrência de enraizamento adventício pressupõe a existência de células responsivas aos sinais exógenos e aos níveis endógenos, bem como sensíveis aos sinais de auxinas oriundos da parte aérea (MARKS et al., 2002). A aplicação exógena de auxinas no meio de cultura sinaliza as células

responsivas, simulando o mecanismo hormonal natural das plantas inteira (SILVA et al., 2007). O enraizamento de espécies arbóreas não é facilmente obtido (GRATTAPAGLIA e MACHADO, 1998), sendo dependente dos níveis de auxina, citocinina e outros reguladores de crescimento (ASSIS e TEIXEIRA, 1998).

Os objetivos deste trabalho foram estabelecer protocolos para a germinação, multiplicação de brotos e enraizamento *in vitro* de cerejeira (*Amburana acreana*), no intuito de produzir mudas para os plantios florestais.

## MATERIAL E MÉTODOS

Os estudos foram conduzidos no Laboratório de Morfogênese e Biologia Molecular da Embrapa Acre, Rio Branco, AC. Sementes de cerejeira foram coletadas de plantas matrizes localizadas na área experimental da Embrapa, município de Rio Branco, AC, e conservadas por três meses em câmara fria, antes do uso nos experimentos.

### Germinação *in vitro*

Para a germinação *in vitro*, as sementes foram lavadas em água corrente, imersas em álcool etílico a 70% por 2 min e, posteriormente, em hipoclorito de sódio a 2,5% por 20 min. Após, as mesmas foram lavadas em água destilada estéril e inoculadas em tubos de ensaio (25 x 150 mm) contendo 10 mL de meio de cultura em diferentes composições. Os meios de cultura utilizados foram o MS (MURASHIGE e SKOOG, 1962) e o meio *Woody Plant Medium* (WPM) (LLOYD e MCCOWN, 1981) nas concentrações de 25% (MS/4 ou WPM/4), 50% (MS/2 ou WPM/2) e 100% (MS ou WPM), acrescidos de 30 g.L<sup>-1</sup> de sacarose e 6 g.L<sup>-1</sup> de ágar. Os meios de cultura tiveram o pH ajustado para 5,8 antes da autoclavagem. A avaliação foi feita pela porcentagem de germinação após 30 dias de inoculação. Os experimentos foram organizados em esquema fatorial 3x2 (concentrações dos meios de cultura x tipo de meio nutritivo).

### Multiplicação de brotos

Para a multiplicação *in vitro*, segmentos nodais cotiledonares de plântulas germinadas *in vitro* foram excisados e inoculados em frascos contendo meio de cultura WPM, suplementados com 0; 0,25; 0,5; 1,0; 2,0; 4,0 e 8,0 mg.L<sup>-1</sup> de 6-benzilaminopurina (BAP) e 0,1 mg.L<sup>-1</sup> de ácido 1-naftalenoacético (ANA). Os meios também foram

acrescidos de 30 g.L<sup>-1</sup> de sacarose e 6 g.L<sup>-1</sup> de ágar. Ajustou-se o pH para 5,8 antes da autoclavagem. As avaliações foram realizadas após 30 dias de cultivo, consistindo nos seguintes dados: número de brotos regenerados, número de nós/broto e altura dos brotos.

### Enraizamento *in vitro*

Para o enraizamento *in vitro*, brotos multiplicados foram individualizados e transferidos para meio de cultura WPM/2 (50%), acrescido de 0,2 mg.L<sup>-1</sup> de carvão ativado e ácido 3-indolbutírico (AIB) nas concentrações de 0; 0,5; 1,0; 2,0 mg.L<sup>-1</sup> além de 20 g.L<sup>-1</sup> de sacarose e 6 g.L<sup>-1</sup> de ágar. Os meios de cultura tiveram o pH ajustado para 5,8 antes da autoclavagem. As variáveis avaliadas, após 30 dias, foram: percentual de enraizamento e comprimento da raiz principal.

As plantas desenvolvidas foram retiradas mantendo as raízes adventícias, lavadas em água corrente e transferidas para casa de vegetação em câmaras plásticas transparentes perfuradas na tampa (com cortes de 2 cm) contendo vermiculita, durante 30 dias. Em seguida, as tampas foram abertas e mantidas as plantas em casa de vegetação para a aclimatização.

### Condições do cultivo e análises estatísticas

As culturas foram mantidas em sala de crescimento com temperatura de 23±2°C e fotoperíodo de 16 horas, com intensidade de fluxo de fótons de 38 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> e umidade na sala de crescimento de, aproximadamente, 58%.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado. Os experimentos de germinação *in vitro* foram organizados em esquema fatorial 2x3 (tipo de meio de cultura x concentração de sais) Para os experimentos de germinação e de multiplicação, cada tratamento foi formado por seis repetições e quatro frascos por parcela, sendo cada parcela formada por cinco sementes ou segmentos nodais. Já para o experimento de enraizamento, cada tratamento foi formado por 24 repetições, sendo cada repetição formada por uma brotação. Dados expressos em percentagem foram transformados segundo arco seno  $(x+0,5)^{0,5}$ . Os dados obtidos por contagem (número de brotos e raízes e taxa de multiplicação) foram transformados segundo  $(x+0,5)^{0,5}$ . Posteriormente os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e regressão, sendo as médias comparadas pelo teste SNK  $p<0,05$  (SOKAL e ROHLF, 1995).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A germinação *in vitro* de cerejeira ocorreu em todas as concentrações dos meios de cultura MS e WPM avaliados (Tabela 1 e Figura 1). Houve interação significativa para o percentual de germinação *in vitro* entre o tipo de meio de cultura e as concentrações de sais, o que comprovou a existência de resposta diferenciada da germinação *in vitro* em relação a cada concentração do meio de cultura. Os maiores percentuais de germinação *in vitro* ocorreram nos meios de cultura com redução nas concentrações salinas. O meio de cultura MS/2 foi o que promoveu o maior percentual de germinação. O meio de cultura MS foi o menos eficaz na germinação *in vitro*. A germinação nas distintas concentrações dos sais de MS (MS, MS/2, MS/4) mostrou diferenças, enquanto que a utilização dos sais de WPM mostrou semelhança nas concentrações integrais (100%) e reduzidas à metade (WPM/2).

Diversas formulações de meios básicos têm sido utilizadas no cultivo *in vitro* (NOGUEIRA et al., 2004). Nesse sentido, não existe formulação padrão, mas o meio MS (MURASHIGE e 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 (GRATTAPAGLIA e MACHADO, 1998).

TABELA 1: Germinação *in vitro* de cerejeira (*Amburana acreana* (Ducke) A.C. Smith) após 15 dias de inoculação.

TABLE 1: *In vitro* germination of Cerejeira (*Amburana acreana* (Ducke) A.C. Smith) after 15 days of inoculation.

Concentração de Sais	% Germinação		
	MS	WPM	Média
100%	23,3±8,2 Bc	36,7±8,2 Ab	30,0
50%	86,7±10,3 Aa	43,3±8,2 Bb	65,0
25%	60,0±12,3 Ab	66,7±10,3 Aa	63,4
Média	56,6	48,9	

Nota: Letras maiúsculas diferentes comparadas na horizontal e minúsculas na vertical indicam diferenças estatisticamente significativas, pelo teste SNK (ao nível de 5% de probabilidade).

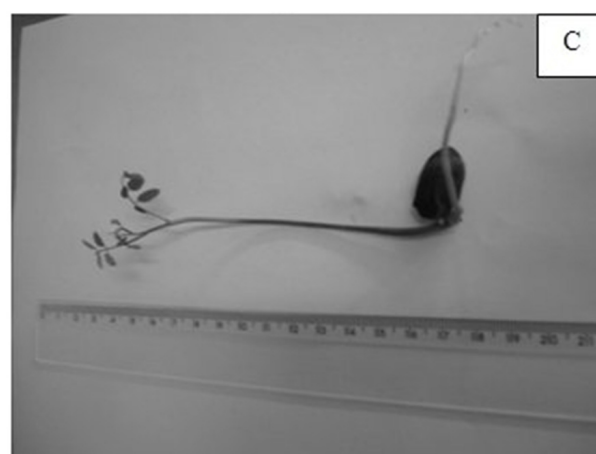
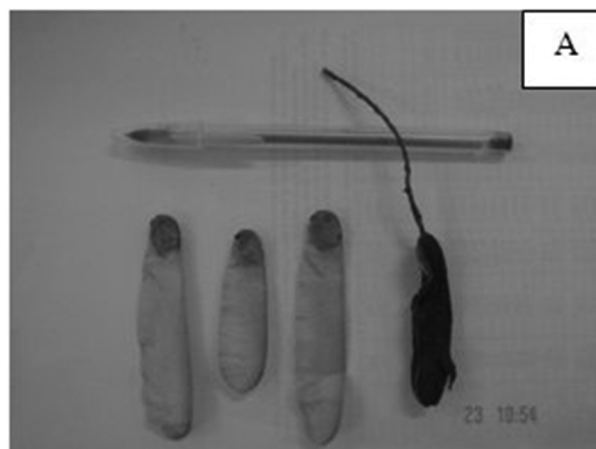


FIGURA 1: Sementes e plântula de *Amburana acreana* (Ducke) A.C. Smith. **A.** Fruto e sementes. **B.** Germinação *in vitro*. **C.** Plântula germinada *in vitro*.

FIGURE 1: Seeds and seedlings of *Amburana acreana* (Ducke) A.C. Smith. **A.** Fruit and seeds. **B.** *In vitro* germination. **C.** Seedlings germinated *in vitro*.

Em estudos realizados com a germinação *in vitro* de murici-pequeno (*Byrsonima intermedia* A. Juss.) os resultados mostraram que os meios mais eficientes foram os meios MS/2 e WPM/2 (NOGUEIRA et al., 2004), resultados semelhantes foram obtidos no presente estudo, onde as diluições dos meios de cultura favorecem a germinação *in vitro* de *Amburana acreana*. De acordo com Taiz e Zeiger (2004), a pressão osmótica muito alta limita a absorção de água, sendo que a diluição aumenta a disponibilidade de água e reduz a oxigenação.

Entretanto, resultados contrários aos obtidos nesse estudo também aparecem na literatura. Na germinação *in vitro* de timbó (*Derris urucu* (Killip & A.C. Sm.) J.F. Macbr) Conceição (2000) obteve efeitos não significativos de diferentes concentrações de sais de MS. Ausência de diferenças estatísticas na germinação *in vitro* também foi observada por Nery et al. (2008), estudando o efeito dos meios de cultura MS e WPM em sementes de ipê-amarelo (*Tabebuia serratifolia* (Vahl) G. Nicholson). Em estudos com barbatimão (*Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville), uma espécie de leguminosa do cerrado brasileiro, a germinação *in vitro* iniciou após cinco dias de cultura, com elevada (92%) taxa de germinação nos meios de cultura MS e WPM também (CASTRO et al., 2007). Portanto, o efeito do uso de diferentes composições (integrais ou parciais) de meios de cultura demonstra resposta específica.

Estudos de germinação de sementes de cerejeira (*Amburana acreana*) *ex vitro*, sob distintas condições de substrato e de temperatura, demonstraram que a germinação média foi de 73 % (ALBRECHT et al., 1986). Os resultados obtidos *in vitro*, no presente estudo, demonstraram percentuais de germinação superiores, especialmente na utilização do meio de cultura MS/2. De acordo com Fay (1992), a germinação de sementes de algumas espécies pode aumentar quando são utilizadas técnicas de cultura de tecidos, principalmente se as sementes apresentam dormência, endosperma reduzido ou grande infestação por micro-organismos.

A organogênese *in vitro* de brotos, a partir de segmentos nodais cotiledonares, ocorreu em todas as concentrações utilizadas do regulador de crescimento BAP, inclusive na sua ausência (Figura 3A), indicando a existência de concentrações endógenas de citocinina suficientes para a formação de brotos. A utilização de BAP promoveu a formação de brotações adventícias acima da concentração de 0,25 mg.L<sup>-1</sup>. A análise de regressão, entre o

número de brotos e as diferentes concentrações de BAP, indicou que o número de brotos e a taxa de multiplicação aumentaram até a concentração de 4,0 mg.L<sup>-1</sup> de BAP e, acima desta concentração, ocorreu efeito inibitório, expresso através de equações quadráticas com coeficientes de determinação (R<sup>2</sup>) de 0,89 e 0,77, respectivamente (Figuras 2A, 2B). Os elevados valores de R<sup>2</sup> para o parâmetro testado e níveis de fitorreguladores em cerejeira expressam confiabilidade nas trajetórias, uma vez que para esses sistemas *in vitro* consideram-se altos os valores de R<sup>2</sup> compreendidos entre 0,5 e 0,9 (COMPTON, 1994). O número de nós por broto não apresentou variação entre os tratamentos. Os tratamentos com a maior altura dos brotos foram aqueles isento de regulador ou com 0,25 mg.L<sup>-1</sup> de BAP, e as maiores concentrações de BAP aplicadas exogenamente tendem a desenvolver brotos com menor altura (Figura 2C). No cultivo *in vitro* de segmentos nodais cotiledonares de cerejeira (*Amburana acreana*) não ocorreu oxidação.

Diversos estudos indicam a eficiência do uso de BAP na multiplicação de brotos a partir de segmentos nodais (ROUT et al., 2000; VANGADESAN et al., 2002; CAMPOS et al., 2007), e o uso de segmentos nodais cotiledonares como explantes bastante responsivos (JHA et al., 2004; HUSAIN et al., 2007). Resultados semelhantes ao presente estudo foram obtidos por Jha et al. (2004) estabelecendo um protocolo para a micropropagação da leguminosa arbórea *Sesbania rostrata*, onde a maior formação de brotos a partir de nós cotiledonares ocorreu em meio MS suplementado com 1,0 mg.L<sup>-1</sup> de benziladenina (BA).

Na multiplicação *in vitro* de peroba-rosa (*Aspidosperma polyneuron*) o uso de BAP nas concentrações de 1 a 4,0 mg.L<sup>-1</sup> promoveu eficiente formação de brotações a partir de segmentos nodais (RIBAS et al., 2005). Nos estudos de propagação *in vitro* de caapeba (*Pothomorphe peltata*), uma espécie lenhosa arbustiva medicinal da Amazônia, Schwertner et al. (2008) induziram a formação do maior número de brotos com a utilização de pequena concentração de citocinina (0,5 mg.L<sup>-1</sup> de BAP). A multiplicação de brotos de *Vitex negundo* L., espécie medicinal arbórea na Ásia, foi eficientemente estabelecida com o uso de 1,0 µM de BAP (AHMAD e ANIS, 2007). A indução de brotações múltiplas adventícias a partir de segmentos nodais cotiledonares de *Amburana acreana* exige concentrações pouco elevadas de citocinina exógena (BAP).

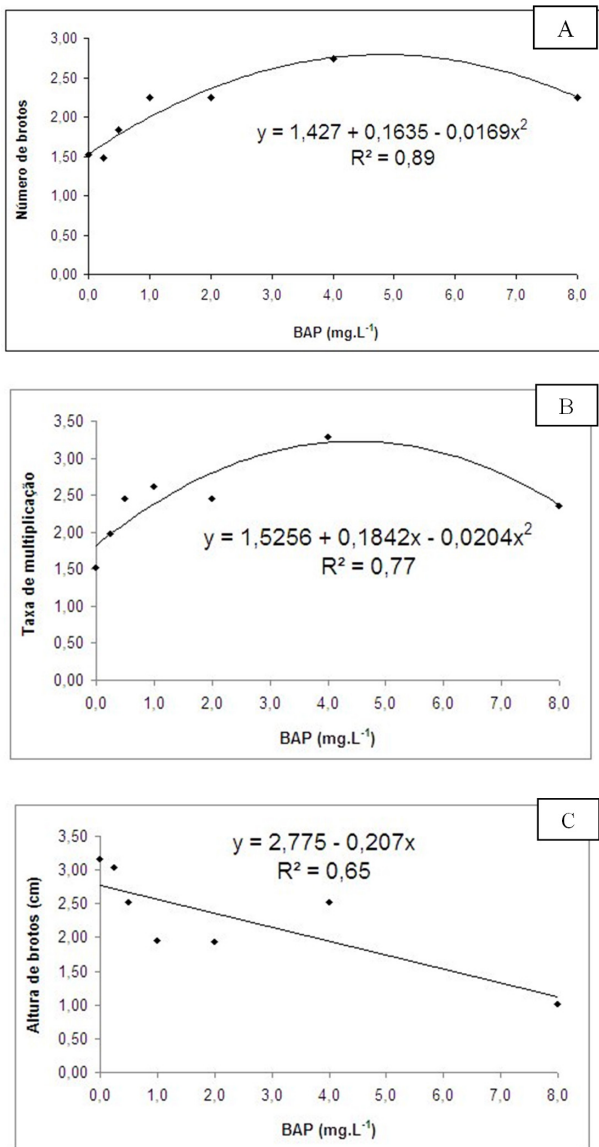


FIGURA 2: Efeitos fisiológicos da multiplicação *in vitro* de brotos de cerejeira (*Amburana acreana* (Ducke) A.C. Smith) em resposta às diferentes concentrações de BAP adicionadas ao meio de cultura WPM, após 30 dias. Embrapa Acre (2007-2008). A. Número de brotos regenerados; B. Taxa de multiplicação; C. Altura das brotações regeneradas.

FIGURE 2: Physiological effects of *in vitro* multiplication of shoots from Cerejeira (*Amburana acreana* (Ducke) A.C. Smith) in response to different concentrations of BAP added in WPM medium, after 30 days. Embrapa Acre (2007-2008). A. Number of regenerated shoots; B. Multiplication rate; C. Height of regenerated shoots.

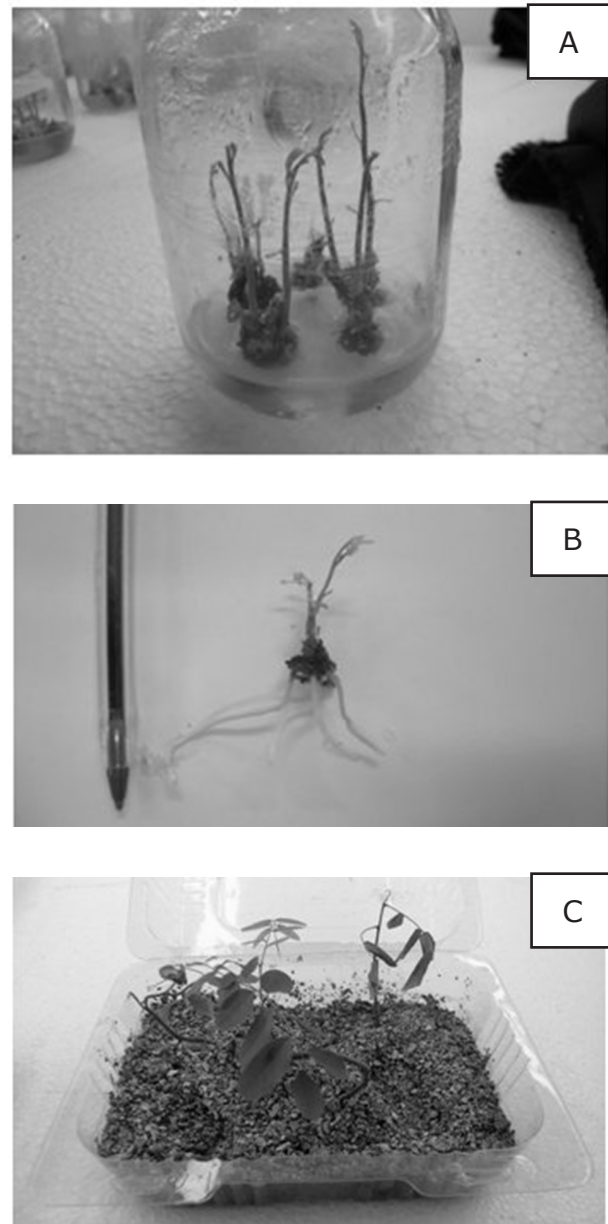


FIGURA 3: Propagação *in vitro* de brotos de cerejeira (*Amburana acreana* (Ducke) A.C. Smith) e aclimatização. A. Formação de brotações múltiplas adventícias (setas). B. Raízes adventícias desenvolvidas (seta). C. Mudanças aclimatizadas em casa de vegetação.

FIGURE 3: *In vitro* shoots propagation of cerejeira (*Amburana acreana* (Ducke) A.C. Smith) and air-conditioning. A. Adventitious multiple shoots formation (arrows). B. Adventitious root developed (arrow). C. Air-conditioned seedlings in a greenhouse.

A formação de raízes adventícias *in vitro* ocorreu em todos os tratamentos, independente da presença ou ausência do ácido indolbutírico (AIB) (Figura 3B e 4A). Os maiores percentuais de enraizamento ocorreram com o uso de 0,5 mg.L<sup>-1</sup> de AIB. Concentrações superiores a 1,0 mg.L<sup>-1</sup> de AIB promovem calogênese na base dos brotos e diminuição do percentual de formação de raízes adventícias. Entretanto, os maiores comprimentos da raiz principal ocorreram em baixas concentrações do regulador (AIB) (Figura 4B).

Resultados semelhantes foram descritos no enraizamento *in vitro* de brotos de caixeta, uma espécie arbórea (MANTOVANI et al., 1999). A formação de intensa massa de calo ocorreu nos tratamentos com o uso de 1 e 2,0 mg.L<sup>-1</sup> de AIB, não sendo observada formação de calo nos tratamentos com 0 e 0,5 mg.L<sup>-1</sup> de AIB. O maior número de raízes adventícias formadas ocorreu com o tratamento de 1,0 mg.L<sup>-1</sup> de AIB e sem o uso de AIB.

O enraizamento de espécies arbóreas não é facilmente obtido devido, especialmente, à maturidade dos tecidos, sendo dependente dos níveis de auxina, citocinina e outros reguladores de crescimento (ASSIS e TEIXEIRA, 1998). O uso da auxina, como o AIB, é frequente na cultura de tecidos (SOUZA e PEREIRA, 2007). Nos estudos de enraizamento *in vitro* de goiabeira serrana (*Acca selowiana* O. Berg. (Burret), uma espécie arbórea, o uso de 4,0 mg.L<sup>-1</sup> de AIB induziu o maior percentual de enraizamento, número e comprimento de raízes adventícias (OLTRAMARI et al., 2000). O enraizamento *in vitro* de brotos micropropagados de caixeta (*Didymopanax morototoni* (Aubl.) Decne. e Planch.), espécie lenhosa, foi obtido com o uso de 1,0 mg.L<sup>-1</sup> de AIB (MANTOVANI et al., 1999). Para a formação de raízes adventícias *in vitro* de mogno (*Swietenia macrophylla* King), a concentração de 0,1 mg.L<sup>-1</sup> de AIB foi mais eficiente do que as de 1, 3 e 5 mg.L<sup>-1</sup> (LOPES et al., 2001). A indução de rizogênese *in vitro* também pode ser obtida sem o uso de auxina exógena, como descrito na micropropagação de *Salix pseudolasiogyne* H. Lév., uma espécie arbórea (PARK et al., 2008). O enraizamento *in vitro* de brotos de *Amburana acreana* ocorre com o uso de concentrações reduzidas da auxina AIB, indicando a existência de níveis endógenos hormonais elevados para estimular a rizogênese, conforme descrevem Souza e Pereira (2007) em artigo de revisão.

As plantas regeneradas foram transferidas para câmaras plásticas e aclimatizadas em casa

de vegetação com sobrevivência de 54% (Figura 3C). Na maioria dos trabalhos de micropropagação de espécies arbóreas, a sobrevivência das plantas é elevada, diferindo dos resultados desse trabalho. Na aclimatização de *Vitex negundo* L., a sobrevivência alcançou 95% das plântulas em casa de vegetação (AHMAD e ANIS, 2007). Em estudos de aclimatização de *Litsea cubeba* (Lours.) Pers., espécie arbórea chinesa, a sobrevivência foi de 90% (MAO et al., 2000). Entretanto, em plantas micropropagadas de *Pterocarpus marsupium* (Roxb.), uma leguminosa também arbórea, a sobrevivência foi de 75% (HUSAIN et al., 2008). Portanto, a aclimatização de plantas

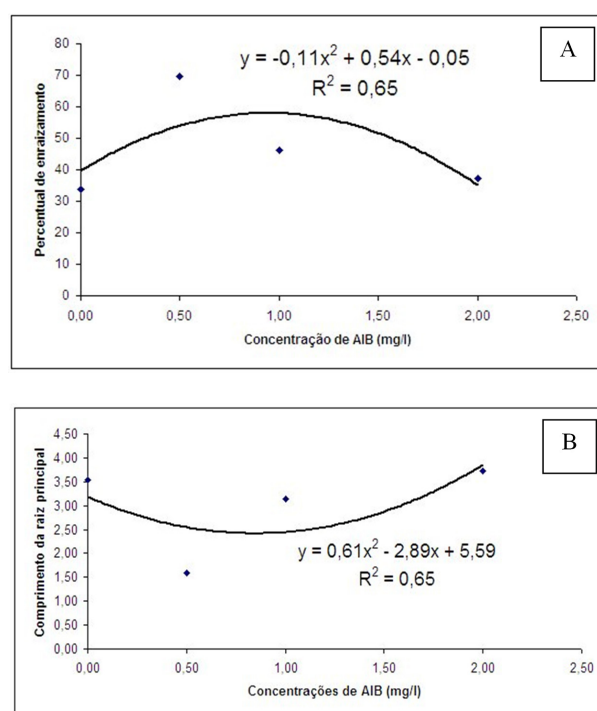


FIGURA 4: Efeitos fisiológicos no enraizamento *in vitro* de cerejeira (*Amburana acreana* (Ducke) A.C. Smith) em resposta às diferentes concentrações de AIB adicionadas ao meio de cultura WPM, após 30 dias. Embrapa Acre (2007-2008). A. Percentual de enraizamento; B. Comprimento da raiz principal.

FIGURE 4: Physiological effects on *in vitro* rooting of Cerejeira (*Amburana acreana* (Ducke) AC Smith) in response to IBA concentrations added into WPM culture medium after 30 days. Embrapa Acre (2007-2008). A. Rooting percentage; B. Length of main root.

de cerejeira demonstra dificuldades. As etapas de micropropagação alcançadas nesse estudo indicam que a germinação, multiplicação de brotos e o enraizamento *in vitro* de cerejeira podem ser obtidos com sucesso. Entretanto, a etapa de aclimatização necessita de estudos mais aprofundados para não comprometer a produção em larga escala.

## CONCLUSÕES

O meio de cultura MS/2 promove as melhores condições para a germinação *in vitro* de sementes de cerejeira;

O uso de 0,1 mg.L<sup>-1</sup> de ANA + 4,0 mg.L<sup>-1</sup> de BAP induz à formação do maior número de brotos, número de nós/broto e altura a partir de segmentos nodais cotiledonares;

O enraizamento *in vitro* é mais frequente com o uso de 0,5 mg.L<sup>-1</sup> de AIB aplicado ao meio de cultura.

## AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq e à Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-graduação da Universidade Federal do Acre pelo apoio financeiro ao grupo de pesquisa.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AHMAD, N.; ANIS, M. Rapid clonal multiplication of a woody tree, *Vitex negundo* L. through axillary shoots proliferation. **Agroforestry Systematics**, v. 71, p. 195-200. 2007.

ALBRECHT, J. M. F. et al. Influência da temperatura e do tipo de substrato na germinação de cerejeira. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 8, n. 1, p. 49-55. 1986.

ASSIS, T. F.; TEIXEIRA, S. L.. Enraizamento de plantas lenhosas. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. (Ed.). **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: EMBRAPA, 1999, p.261-296. v. 1

BEWLEY, J. D.; BLACK, M. **Seeds: physiology of development and germination**. 2nd ed. New York: Plenum, 1984, 445 p.

CAMPOS, R. A. S. et al. Micropropagação de *Jatropha elliptica* (Pohl) Mull. Arg. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 9, n. 3, p. 30-36. 2007.

CARVALHO, C. P. S. et al. *In vitro* culture of

*Spondias mombin* L. from nodal segments. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 24, n. 3, p. 776-777, 2002.

COMPTON, M. Statistical methods suitable for analysis of plant tissue culture data. **Plant Cell Tissue and Organ Culture**, n. 37, p. 217-242, 1994.

DONINI, L. P. et al. Estabelecimento *in vitro* de oliveira cv. "Arbequina" para início da micropropagação. **Ciência Rural**, v. 38, n. 6, p. 1769-1772, 2008.

FAY, M. F. Conservation of rare and endangered plants using *in vitro* methods. **In vitro Cellular and Developmental Biology**, v. 28, p. 1-4, 1992.

FEARNSIDE, P. M. Desmatamento na Amazônia: dinâmica, impactos e controle. **Acta Amazonica**, v. 36, n. 3, p. 395-400, 2006.

FERREIRA, D. F. **Programa Sisvar.exe: sistema de análise de variância**. Versão 3.04.2003.

FIRMINO, J. L. et al. Utilização de alguns testes de viabilidade e vigor e composição química em sementes de cerejeira (*Amburana acreana* (Ducke) A.C. Smith.). **Revista Árvore**, v. 19, n. 3, p. 286-292, 1995.

GEORGE, E. F. *Plant propagation by tissue culture*. Exegetics, Edington. 1993, 555 p. v. 1.

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. Micropropagação. In: TORRES, A. C. et al. (Ed.). *Cultura de tecidos e transformação genética de plantas*. Brasília: EMBRAPA, 1998, p.99-169. v. 1.

GUI-FERREIRA, A.; BORGUETTI, F. (Ed.) *Germinação: do básico ao aplicado*. Porto Alegre: Artmed, 2004. 324 p.

HUSAIN, M. K. et al. *In vitro* propagation of Indian Kino (*Pterocarpus marsupium* Roxb.) using thidiazuron. **In vitro Cellular and Developmental Biology-Plant**, n. 43, p. 59-64, 2007.

JHA, A. K. et al. Micropropagation of *Sesbania rostrata* from the cotyledonary node. *Biologia Plantarum*, v. 48, n. 2, p. 289-292, 2004.

LOPES, S. C. et al. Enraizamento *in vitro* de mogno (*Swietenia Macrophylla* King). *Cerne*, v. 7, n. 1, p. 124-128, 2001.

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

MANTOVANI, N. C. et al. Micropropagação de caixeta, *Didymopanax morototoni* (Aubl.) Dcne et Planch. **Ciência Florestal**, v. 9, n. 1, p. 47-61, 1999.

MAO, A. A. et al. *In vitro* propagation of *Litsea*



- cubeba* (Lours.) Pers., a multipurpose tree. **Plant Cell Reports**, v. 19, p. 263-267, 2000.
- MARKS, T. R. et al. A role for polar auxin transport in rhizogenesis. **Plant Cell Tissue and Organ Culture**, v. 70, p. 189-198, 2002.
- MERKLE, S. A.; NAIRN, J. Hardwood tree biotechnology. **In vitro Cellular and Development Biology-Plant**, v. 41, p. 602-619, 2005.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, v. 15, p. 473-497, 1962.
- NERY, M. C. et al. Germinação *in vitro* e *ex vitro* de embriões/sementes de *Tabebuia serratifolia* (Vahl) Nich. Cerne, Lavras, v. 14, n. 1, p. 1-8, 2008.
- NOGUEIRA, R. C. et al. Germinação *in vitro* de murici-pequeno (*Byrsonima intermedia* A. Juss.). *Ciência & Agrotecnologia*, v. 28, n. 5, p. 1053-1059, 2004.
- NUNES, E. C. et al. *In vitro* culture of *Cedrela fissilis* Vellozo (Meliaceae). *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, v. 70, p. 259-268, 2002.
- OLTRAMARI, A. C. et al. Protocolo de micropropagação da goiabeira serrana (*Acca sellowiana* (Berg.) Burret). *Ciência Rural*, v. 30, n. 1, p. 61-68, 2000.
- PARK, S. Y. et al. Micropropagation of *Salix pseudolasiogyne* from nodal explants. **Plant Cell Tissue and Organ Culture**, v. 93, p. 341-346, 2008.
- PASQUAL, M. **Textos acadêmicos: meios de cultura**. Lavras: FAEPE/UFLA, 2001, 127 p.
- POPINIGIS, F. **Fisiologia da semente**. Brasília: AGIPLAN, 1985, 285 p.
- RIBAS, L. L. F. et al. Micropropagação de *Aspidosperma polyneuron* (peroba-rosa) a partir de segmentos nodais de mudas juvenis. **Revista Árvore**, v. 29, n. 4, p. 517-524, 2005.
- ROUT, G. R.; SAMATARAY, S.; DAS, P. *In vitro* manipulation and propagation of medicinal plants. **Biotechnology and Advances**, v. 18, n. 2, p. 91-120, 2000.
- SCHOTTZ, E. S. et al. *In vitro* multiplication of *Swietenia macrophylla* King (MELIACEAE) from juvenile shoots. **Ciência Florestal**, v. 17, n. 2, p. 109-117, 2007.
- SILVA, C. G. et al. Enraizamento *in vitro* e aclimatização de mudas micropropagadas de *Aloe vera* L. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 9, n. 1, p. 29-35, 2007.
- SILVA, Z. A. G. P. G. Mercado de produtos madeireiros do Estado do Acre. In: FUNTAC. **Manejo Florestal Sustentável na Amazônia Brasileira**. 2004. p.143-185.
- SOKAL, R. R.; ROHLF, F. J. *Biometry*. São Francisco, Freeman and Company, 1995, 776 p.
- SOUZA, A. V.; PEREIRA, A. M. S. Enraizamento de plantas cultivadas *in vitro*. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 9, n. 4, p. 103-117, 2007.
- VANGADESAN, G. *In vitro* propagation of *Acacia* species- a review. **Plant Science**, v. 163, n. 4, p. 663-671, 2002.
- VIANA, A. M. et al. Applications of biotechnology for the conservation and sustainable exploitation of plants from Brazilian Rain forests In: BENSON, E. E. *Plant Conservation Biotechnology*. London: Taylor & Francis, 1999, p. 83-95.
- XAVIER, A. et al. Micropropagação e Enxertia *in vitro* de espécies florestais. In: Borém, A. (Ed.). **Biociência Florestal**. Viçosa: Ed. UFV. 2007, p. 55-74.