

ISSN 1808-9909  
Volume 2, Número 1, 2006

# **PLANT CELL CULTURE & MICROPROPAGATION**



## **Cultura de Células & Micropropagação de Plantas**

**Publicação Científica da Associação Brasileira  
de Cultura de Tecidos de Plantas**

**Plant Cell Cult. Micropropag., Lavras, MG, v. 2, n. 1, p. 1-52, 2006**

# EFEITO DE SUBSTRATOS NA GERMINAÇÃO *IN VITRO* DE MOGNO (*Swietenia macrophylla* KING)

## EFFECT OF SUBSTRATES FOR *IN VITRO* GERMINATION OF MAHOGANY (*Swietenia macrophylla* KING)

OSMAR ALVES LAMEIRA<sup>1</sup>, SEBASTIÃO DA CUNHA LOPES<sup>2</sup>, NOEMI VIANNA MARTINS LEÃO<sup>3</sup>,  
IRACEMA MARIA CASTRO COIMBRA CORDEIRO<sup>4</sup>, LANA ROBERTA SOUSA REIS<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Engenheiro Agrônomo, Dr, Embrapa Amazônia Oriental – Caixa Postal 48 – 66.095-100 – Belém, PA – osmar@cpatu.embrapa.br

<sup>2</sup>Engenheiro Agrônomo, M.Sc., Bolsista CNPq/Museu Goeldi – Belém, PA.

<sup>3</sup>Engenheira Florestal, MSc, Embrapa Amazônia Oriental – Caixa Postal 48 – 66.095-100 – Belém, PA.

<sup>4</sup>Engenheira Florestal, Doutoranda Universidade Federal Rural da Amazônia/UFRA – Belém, PA.

<sup>5</sup>Engenheira Agrônoma CNPq/Embrapa Amazônia Oriental.

### RESUMO

Realizou-se este trabalho com o objetivo de verificar o efeito de substratos e diferentes condições de luz e temperatura na germinação de sementes de mogno (*Swietenia macrophylla* King) *in vitro* visando à produção de explantes para iniciar o processo de micropropagação. No primeiro experimento, as sementes foram inoculadas em dois substratos: ágar a 7g.L<sup>-1</sup> e vermiculita, e mantidas em temperatura de 25±1°C sob fotoperíodo de 16 horas de luz e 25 mmol.m<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup> de irradiância. O meio de cultura utilizado foi o MS, suplementado com sacarose (10; 20; e 30g.L<sup>-1</sup>). Para o segundo experimento, as sementes foram submetidas às condições de luz (presença e ausência) e temperatura (25 e 30 °C), sendo utilizado o meio de cultura MS com 30g.L<sup>-1</sup> de sacarose + vermiculita. A vermiculita foi superior ao ágar como substrato para a germinação de sementes de mogno *in vitro*. O meio MS adicionado de 30 g.L<sup>-1</sup> de sacarose + vermiculita foi o mais eficiente na germinação de sementes de mogno *in vitro*. As temperaturas de 25 °C e 30 °C, independentemente da presença ou ausência de luz, não influenciaram no número e tempo de germinação *in vitro* dessas sementes.

**Termos para indexação:** Cultura de tecido, vermiculita, ágar, temperatura, *Swietenia macrophylla*, mogno.

### ABSTRACT

The objective of this work was to verify the effect of substrates and different light conditions and temperature on *in vitro* germination of mahogany (*Swietenia macrophylla* King) seeds for the production of explants for the initial process of micropropagation. In the first experiment the seeds were inoculated in two substrates: 7g.L<sup>-1</sup> agar and vermiculite, maintained at temperature of 25±1°C with photoperiod of 16 hours and 25 mmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> irradiance. MS medium supplemented with sucrose (10; 20; and 30g L<sup>-1</sup>) was used. For the second experiment the seeds were submitted to light conditions (presence and absence) and temperature (25 and 30 °C) and inoculated in MS medium supplemented with 30g L<sup>-1</sup> sucrose + vermiculite. The

vermiculite was more efficient than agar as substrate for the *in vitro* seed germination of mahogany. The MS medium, supplemented with 30g L<sup>-1</sup> sucrose + vermiculite, was more efficient for the *in vitro* seed germination of mahogany. The temperatures of 25 and 30 °C independent of the presence or absence of light had no influence in the number and time for the *in vitro* germination of these seeds.

**Key words:** Tissue culture, vermiculite, agar, temperature, *Swietenia macrophylla*, mahogany.

### INTRODUÇÃO

O mogno (*Swietenia macrophylla* King), espécie florestal pertencente à família das Meliaceae adapta-se a diferentes habitats, podendo ser encontrado em altitudes que variam de 0 a 1500 m (Peru e Bolívia); porém, encontra ótimas condições para seu pleno desenvolvimento em florestas tropicais (LAMB, 1966). Devido à cor da madeira, estabilidade dimensional e características organolépticas, que proporcionam diversidade de uso e fácil acabamento, essa espécie está entre as de maior valor econômico, tanto no mercado interno como externo, alcançando US\$ 800 o metro cúbico (VERÍSSIMO et al., 1995). Esses valores têm contribuído de forma bastante acelerada para sua exploração nas áreas de ocorrência natural, visto que todo o mogno comercializado no mercado internacional provém de árvores extraídas de florestas primárias (RODAN et al., 1992).

(Recebido em 02 de setembro de 2003 e aprovado em 13 de julho de 2005)

A propagação dessa espécie por meio de sementes esbarra na difícil execução de coletas devido ao porte da árvore e à perda da viabilidade em um curto espaço de tempo. Para Carvalho (1994), espécies que apresentam esses problemas, ou baixo percentual de germinação, que possam impedir a reposição da espécie, a micropropagação *in vitro* aparece como ferramenta importante para suprir essas dificuldades. De acordo com Grattapaglia & Machado (1990), entre as técnicas de cultura de tecidos, a micropropagação é a mais difundida e a que possibilita obter plantas do mesmo genótipo em larga escala e em um curto espaço de tempo, promovendo a conservação do material genético e favorecendo o melhoramento da espécie.

Devido às dificuldades de descontaminação de explantes provenientes de campo, tem-se preferido a utilização de material vegetal oriundos de sementes germinadas em condições assépticas (COELHO, 1999). Para Marcos Filho et al. (1987), para ocorrer a germinação, é necessário que a semente seja colocada sob condições ambientais favoráveis. O mesmo autor explica ainda que para garantir o crescimento do embrião, é preciso que o fornecimento de água, temperatura e luz estejam em quantidades ideais para que uma semente germine normalmente, caso contrário, será prejudicial, ocasionando anormalidade nas plântulas.

No processo de micropropagação, para dar suporte aos explantes "*in vitro*", o ágar tem sido o mais utilizado, porém, Grattapaglia & Machado (1990) indicam a vermiculita como uma alternativa mais barata, além do que possui capacidade de reter água, ar e nutriente, os quais são transferíveis às plantas.

No contexto, como para o mogno não se têm essas informações, há necessidade de primeiramente ser determinada qual a melhor condição para que as sementes possam germinar de maneira mais eficiente. Objetivou-se com este trabalho verificar o efeito de substratos e diferentes condições de luz e temperatura na germinação de sementes mogno *in vitro*, visando à produção de explantes para iniciar o processo de micropropagação.

## MATERIALE MÉTODOS

O experimento foi realizado no Laboratório de Biotecnologia da Embrapa Amazônia Oriental em duas etapas. O tegumento das sementes foi retirado manualmente, para não danificar sua estrutura interna. Em seguida, elas foram lavadas com água e sabão líquido para retirada de uma fina camada de pó esbranquiçado que se encontra aderida na superfície. Em câmara de fluxo laminar, foi realizada a desinfestação com álcool a 70% por dois minutos, seguida de hipoclorito de sódio (NaClO) a 2% por quinze minutos. Em seguida, foram lavadas por quatro vezes com água destilada e autoclavada.

Para maior eficiência da esterilização, a vermiculita utilizada foi autoclavada duas vezes à temperatura de 120 °C por 30 minutos, antes de ser associada ao meio de cultura MS (MURASHIGE & SKOOG, 1962).

Na primeira etapa, foram testados os seguintes tratamentos: MS + 10g.L<sup>-1</sup> de sacarose; MS + 20g.L<sup>-1</sup> de sacarose; MS + 30g.L<sup>-1</sup> de sacarose; MS + 30g.L<sup>-1</sup> de sacarose + vermiculita; 7g.L<sup>-1</sup> de ágar e vermiculita. A autoclavagem dos meios de cultura foi realizada a 120 °C e 1,2 atm durante 15 minutos. Após a inoculação em tubos de ensaio (15x200 mm), as sementes foram postas em sala de incubação à temperatura de 25 °C, com fotoperíodo de 16 horas de luz branca fria e 52 mmol.m<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup> de irradiância. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado com seis tratamentos e sete repetições, sendo a unidade experimental constituída de quatro tubos de ensaios contendo uma semente em cada um.

Na segunda etapa, foram utilizados quatro tratamentos em que foram testados os fatores luz em dois níveis (ausência e presença) e temperatura em dois níveis (25 e 30 °C). As sementes foram inoculadas em tubos de ensaios contendo meio MS, suplementado de 30 g.L<sup>-1</sup> de sacarose + vermiculita como substrato. Posteriormente, foram mantidos em sala de crescimento e em Biotron na temperatura de 25 °C e 30 °C, respectivamente, com fotoperíodo de 16 horas de luz branca fria e 52 mmol.m<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup>

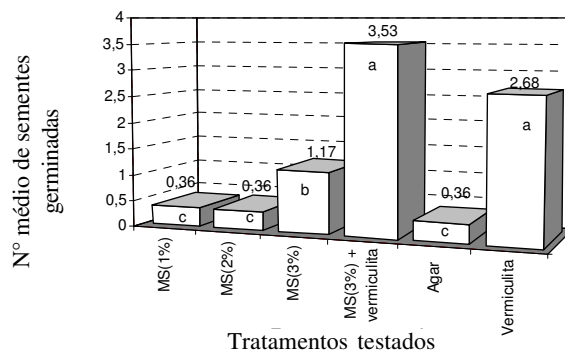
de irradiância. Para proporcionar as condições de ausência de luz nos tratamentos, os tubos com as sementes foram colocados em caixa de alumínio cobertas com manta preta, sem que houvesse penetração de luminosidade.

O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado, em esquema fatorial, com seis repetições e a unidade experimental, formada de cinco tubos contendo uma semente em cada um. Para fins de análise estatística, a variável número de sementes germinadas foi transformada em  $\sqrt{x + 0,5}$  e, para o teste de comparação de médias, foi usado o teste de Duncan a  $\alpha = 0,05$  de probabilidade, ao passo que para a variável tempo de germinação, não houve transformação. Os dados foram coletados diariamente durante 35 dias.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Pela análise da variância, houve diferença significativa para o número de sementes germinadas. Pelo teste de Duncan a 1% de probabilidade, demonstrou-se que os tratamentos mais eficientes foram (MS) 30 g.L<sup>-1</sup> de sacarose + vermiculita e a vermiculita sem adição de solução nutritiva, não havendo diferença significativa entre ambos, com 3,53 e 2,68 de sementes germinadas, respectivamente (Figura 1).

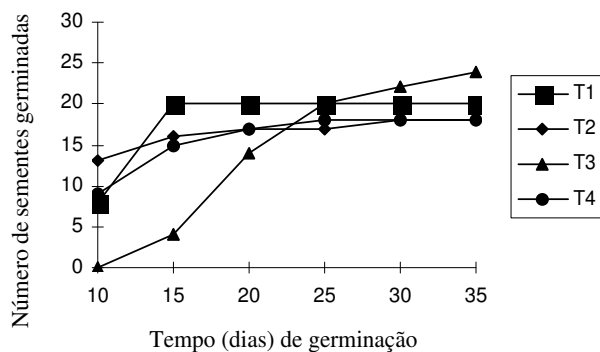
A germinação iniciou-se pelo aparecimento do eixo embrionário, saindo lateralmente à semente, sendo possível observar o surgimento de plântulas a partir de seis dias após a inoculação. Verificou-se, pelo resultado, que o mogno é uma espécie que possui germinação rápida, se comparada com pau-rosa (*Aniba roseodora* Ducke), que é uma espécie florestal cujo processo de germinação “*in vitro*” inicia-se a partir de 15 dias (FRANÇA et al., 1997). É importante ressaltar que algumas sementes de espécies florestais necessitam de até cinco meses para entrar em atividade metabólica. O epicótilo das plântulas apresentou crescimento rápido, sendo o mesmo resultado relatado por Lemos et al. (1998) que, ao inocularem sementes de mogno *in vitro*, observaram o rápido crescimento das plântulas, atingindo aos dez dias a altura de 40 a 65 mm.



**FIGURA 1** – Número médio de sementes de mogno (*Swietenia macrophylla*) germinadas *in vitro* nos diferentes substratos e diferentes concentrações de sacarose (10; 20 e 30g.L<sup>-1</sup>). Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, pelo teste Duncan, a 1%.n=28.

O menor número de sementes germinadas ocorreu nos tratamentos em que foi utilizado o meio MS adicionado às concentrações de 10 e 20 g.L<sup>-1</sup> de sacarose, e ágar sem meio nutritivo (Figura 1). Pelos resultados obtidos, a vermiculita foi responsável pelo maior número de sementes germinadas, tanto em meio MS contendo 30 g.L<sup>-1</sup> de sacarose, quanto empregada isoladamente. Esses resultados foram semelhantes aos obtidos por Lessa (1998), que trabalhou com sementes de macieira (*Malus domestica* Baumg). Sharid (1975) também relata que a vermiculita depois de expandida aumenta grandemente sua capacidade de retenção de água, ar e nutrientes transferíveis às plantas.

Os fatores luz, temperatura e as interações desses não influenciaram o número e o tempo de germinação das sementes de mogno. Embora não tenha ocorrido diferença significativa entre os tratamentos, foi observado (Figura 2) que na temperatura de 30 °C ocorreu, inicialmente com 10 dias, maior número de sementes germinadas, independente da presença (T<sub>2</sub>) ou ausência de luz (T<sub>4</sub>), mantendo-se com números similares a partir de 15 dias após inoculação até 35 dias, final da avaliação. No tratamento em que as sementes foram mantidas à temperatura de 25 °C, na presença de luz (T<sub>1</sub>), o número de germinação a partir de 15 dias após a inoculação foi similar até o final da avaliação.



O maior número de sementes germinadas ocorreu a partir de 25 dias após a inoculação até o final da avaliação, na temperatura de 25 °C e ausência de luz (T<sub>3</sub>). Ao que parece, a temperatura de 30 °C acelerou a germinação nos primeiros 10 dias após a inoculação, ao passo que, na temperatura de 25 °C, esse processo foi maior a partir de 25 dias, independentemente da presença ou ausência de luz.

Para Borges & Rena (1993), as sementes apresentam comportamento variável diante desses fatores, principalmente em relação à temperatura, não havendo uma temperatura ótima e uniforme para que ocorra germinação de todas as espécies. Entretanto, esses mesmos autores relatam que a faixa de 20 a 30 °C tende a ser a mais adequada para germinação de grande número de espécies subtropicais e tropicais. Resultados similares foram observados por Franco & Ferreira (2002) com a espécie florestal *Didymopanax morototoni* Decne & Planch (morototo), em que as sementes germinaram, independentemente das condições de luz.

### CONCLUSÕES

Neste trabalho, a vermiculita, na presença ou ausência de solução nutritiva, demonstrou ser superior ao ágar como substrato para a germinação de sementes de mogno *in vitro* e as temperaturas de 25 °C e 30 °C, independentemente da presença ou ausência de luz, não influenciam no número e tempo de germinação.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BORGES, E. E. de L. E.; RENA, A. B. Germinação de sementes. In: AGUIAR, I. B. de; PIÑA-RODRIGUES, F. C. M.; FIGLIOLIA, M. B. **Sementes florestais tropicais**. Brasília, DF: ABRATES, 1993. 350 p.

CARVALHO, I. P. E. R. **Espécies florestais brasileiras: recomendações silviculturais, potencialidades e uso da madeira**. Colombo: Embrapa-CNPQ, 1994.

COELHO, M. C. F. **Germinação de sementes e propagação *in vitro* de sucupira branca [*Pterodon pubescens* (Benth.) Benth.]**. 1999. 119 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 1999.

FRANCO, T. H. E.; FERREIRA, A. G. Tratamentos pré-germinativos em sementes de *Didymopanax morototoni* (Aubl) Dcne et Planch. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 12, n. 1, p. 1-10, 2002.

FRANÇA, R. B. de; SANTOS, D. S. B.; MOTA, M. G. da C.; VIEIRA, I. M. da S.; CABRAL, B. L. R. Indução e crescimento de plântulas de pau-rosa (*Aniba roseadora* Ducke) *in vitro*. In: REUNIÃO DOS BOTÂNICOS DA AMAZÔNIA, 2., 1997, Salinópolis, Pará. **Resumos...** Salinópolis: [s.n.], 1997. p. 54.

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S. **Técnicas e aplicações da cultura de tecidos de plantas**. Brasília, DF: ABCTP/Embrapa-CNPQ, 1990. 433 p.

LAMB, F. B. **Mahogany of tropical America: its ecology and management**. Michigan: The University of Michigan, 1966. 219 p.

LEMO, O. F. de; LOPES, S. da C.; MENEZES, I. C. de; LAMEIRA, O. A.; OLIVEIRA, M. do S. P. O. Produção de plântulas para micropropagação do mogno (*Swietenia macrophylla* King). In: CONGRESSO NACIONAL DE GENÉTICA, 44., 1998, Águas de Lindóia, SP. **Resumos...** Águas de Lindóia: [s.n.], 1998. p. 216.

LESSA, A. O. **Utilização de microenxertia para obtenção de plantas de *Malus domestica* Borkh livres do vírus da mancha clorótica das plantas da macieira (Aclsv)**. 1998. 140 f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 1998.

MARCOS FILHO, J.; CICERO, M. S.; SILVA, W. R. da. **Avaliação da qualidade das sementes**. Piracicaba: FEALQ, 1987. 320 p.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A. A revised medium for rapid growth and bioassays with

tabaco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 15, p. 473-497, 1962.

RODAN, B.; NEWTON, A.; VERÍSSIMO, A. Mahogany conservation: status and policy initiatives.

**Environmental Conservation**, [S.l.], v. 19, n. 4, p. 331-342, 1992.

SHARID, F. Vermiculite: the propcorn mineral. **Science Chronicle**, [S.l.], v. 13, n. 2, p. 85-86, 1975.

VERÍSSIMO, A.; BARRETO, P.; TARIFA, R.; UHL, C. A. Extraction of a high-value natural resource in Amazonia: the case of mahogany. **Forest Ecology and Management**, Amsterdam, v. 72, p. 39-60, 1995.