

IV Encuentro Latinoamericano de Biotecnología Vegetal

- 1** Conferencias
Conferencias
- 2** Simposios
Simposios
- 3** Talleres
Talleres
- 4** Mesas Redondas
Mesas Redondas
- 5** Mini Cursos
Mini Cursos
- 6** Posters
Posters



MICROPROPAGAÇÃO DE MOGNO

Osmar Alves Lameira; Sebastião da Cunha Lopes; Rairys Cravo Nogueira; José Eduardo Brasil Pereira Pinto. Apresentador-Osmar Alves Lameira. Embrapa Amazônia Oriental. Laboratório de Biotecnologia, Belém,PA, Brasil. E-mail: osmar@cpatu.embrapa.br

RESUMO

A propagação do mogno (*Swietenia macrophylla*) através de sementes esbarra em problemas como a dificuldade da coleta, principalmente, pelo elevado porte arbóreo e pelo fato de muitas destas sementes perderem sua viabilidade em um curto espaço de tempo. Espécies tropicais, por não possuírem técnicas adequadas de propagação clonal, quando propagadas por sementes, levam a heterogeneidade nos plantios como é o caso do mogno. Além disso, a grande procura por esta espécie florestal tem levado a redução cada vez mais rápida das populações nas áreas de ocorrência natural, o que tem contribuído para a erosão genética. A micropropagação tem grande aplicação prática na área de produção comercial de plantas, sua utilização permite obter plantas do mesmo genótipo em larga escala e em um curto espaço de tempo. Segmentos apical e nodal obtidos de plântulas in vitro foram cultivados em meio MS, suplementado com diferentes concentrações de reguladores de crescimento visando a obtenção de brotos e posteriormente, a formação do sistema radicular. O meio de cultura MS, contendo $3,0 \text{ mgL}^{-1}$ de BAP + $1,0 \text{ mgL}^{-1}$ de ANA foi o mais eficiente para indução de brotações de mogno quando utilizado como fonte de explante, o segmento nodal. O ANA na concentração de 2 mg.L^{-1} e na presença de carvão ativado foi o mais eficiente na formação do sistema radicular de brotos de mogno.

INTRODUÇÃO

A Amazônia possui grande diversidade de espécies florestais de valor econômico; em razão disto, o mercado consumidor de madeira tropical tem direcionado cada vez mais a sua atenção para esta região. Em se tratando da importância econômica do mogno (*Swietenia macrophylla*), é uma madeira de lei de grande valor no mercado, tanto interno quanto externo, apresentando propriedades físicas e mecânicas desejáveis para ser empregada em usos nobres, como o mobiliário (Gullison e Hubbell, 1992).

A sua propagação através de sementes esbarra em problemas como a dificuldade da coleta, principalmente, pelo elevado porte arbóreo e pelo fato de muitas destas sementes

perderem sua viabilidade em um curto espaço de tempo. Espécies tropicais, por não possuírem técnicas adequadas de propagação clonal, quando propagadas por sementes, levam a heterogeneidade nos plantios. Além disso, a grande procura por esta espécie florestal tem levado a redução cada vez mais rápida nas áreas de ocorrência natural, o que tem contribuído para a erosão genética. Métodos adequados de propagação podem possibilitar a conservação do material genético e favorecer o melhoramento da espécie.

A micropropagação também denominada de propagação vegetativa *in vitro* tem grande aplicação prática na área de produção comercial de plantas, sua utilização permite obter plantas do mesmo genótipo em larga escala e em um curto espaço de tempo a partir de pequenos fragmentos de tecidos (Grattapaglia e Machado, 1998).

As técnicas de cultura *in vitro* transformam-se num promissor instrumento para estudos de problemas básicos e aplicados em biologia vegetal, sendo ultimamente utilizadas no melhoramento de plantas, na indução de variabilidade genética, seleção de genótipos resistentes ou tolerantes a ataques de pragas, doenças e condições climáticas adversas (Lindsey e Jones, 1992).

OBJETIVO

Desenvolver protocolos de micropropagação de mogno (*Swietenia macrophylla*) utilizando explantes com potencial de regeneração.

METODOLOGIA

➤ Obtenção de material vegetal *in vitro*:

Sementes de mogno (*Swietenia macrophylla* King) foram coletadas no campo experimental da Embrapa Amazônia Oriental. Retirou-se o revestimento seminal destas sementes que posteriormente passaram por lavagem em água corrente e sabão líquido para a retirada de uma fina camada de pó branco. Na câmara de fluxo laminar, passaram por assepsia com álcool a 70% por 2 minutos e hipoclorito de sódio - NaOCl a 2% por 15 minutos, seguida de lavagem em água destilada autoclavada por 5 vezes. Estas sementes foram inoculadas em tubos de ensaio contendo o meio de cultura de Murashige e Skoog, 1962 – MS com sacarose a 3%, vitaminas e vermiculita autoclavada. A incubação foi realizada nas condições de $26 \pm 1^\circ\text{C}$, 16h de luz e $52 \mu\text{mol. m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ de irradiância.

➤ Micropropagação:

Experimento I: Efeito de reguladores de crescimento na indução de brotações a partir de segmento apical e nodal de mogno.

Foram utilizados como fonte de explante, segmentos apical e nodal das plântulas germinadas *in vitro*. Os explantes foram excisados em tamanhos de 5 mm e inoculados em tubos de ensaio contendo meio de cultura MS, solidificado com 0,7 % de agar, vitaminas, 3 % de sacarose, pH a 5,8 antes da autoclavagem e suplementado com diferentes combinações de 6 –benzilaminopurina – BAP (1,0; 2,0; 3,0 e 4,0 mgL⁻¹) e ácido naftaleno acético – ANA (0,0; 0,01; 0,5 e 1,0 mgL⁻¹). A incubação foi realizada a 25°C no escuro por dois dias e posteriormente transferidos para as condições de 26±1°C, fotoperíodo de 16h luz branca fria e 52 μmol. m⁻².s⁻¹ de irradiância. A avaliação dos brotos foi realizada trinta dias após a inoculação.

Experimento II: Efeito de reguladores de crescimento no enraizamento *in vitro* de brotos de mogno.

Os brotos de mogno foram excisados de forma transversal, em câmara de fluxo laminar e inoculados em tubos de ensaio contendo o meio MS com a metade da concentração dos sais (½ MS), solidificado com 0,7% de agar, vitaminas e 3% de sacarose, complementado com diferentes concentrações de ácido indolbutírico – AIB (0,0; 0,1; 1,0; 3,0 e 5,0 mgL⁻¹) e ANA (0,0; 0,1; 2,0 e 5,0 mgL⁻¹) e 0,1% de polivinilpirrolidone – PVP. A incubação foi realizada nas condições de 26±1°C, fotoperíodo de 16h luz branca fria e 52 μmol. m⁻².s⁻¹ de irradiância. Cinco dias após a inoculação os brotos foram transferidos para meio de cultura com ½ MS e ausência de reguladores de crescimento. A avaliação foi realizada trinta dias após a transferência.

Experimento III: Efeito de reguladores de crescimento no enraizamento *in vitro* de brotos de mogno na presença de carvão ativado.

Os brotos de mogno foram excisados de forma transversal, em câmara de fluxo laminar e inoculados em tubos de ensaio contendo meio ½ MS , solidificado com 0,7% de ágar,

vitaminas e 3% de sacarose, complementado com diferentes concentrações de AIB (2,0; 3,0; 4,0 e 5,0 mgL⁻¹) e ANA (2,0; 3,0; 4,0 e 5,0 mgL⁻¹) e 0,1% de PVP. A incubação foi realizada em condições semelhantes a do Experimento II. Após cinco dias da inoculação os brotos foram transferidos para meio de cultura ½ MS, adicionado de 0,1% de PVP e 0,1% de carvão ativado. A avaliação foi realizada trinta dias após a transferência.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Experimento I:

Os resultados referentes a taxa de multiplicação de brotos são apresentados na Tabela 1. Para o segmento apical, o tratamento contendo 3,0 mgL⁻¹ de BAP + 0,5 mgL⁻¹ de ANA foi o mais eficiente, produzindo 2,7 brotos por explante e o menos eficiente o tratamento contendo apenas 3,0 mgL⁻¹ de BAP, produzindo em média 0,7 brotos por explante. Para o segmento nodal a maior taxa de brotação, 2,6 brotos por explante foi obtida pelo tratamento contendo 3,0 mgL⁻¹ de BAP + 1,0 mgL⁻¹ de ANA, e a menor taxa, 2,0 brotos por explante, pelo tratamento que continha apenas 1,0 mgL⁻¹ de BAP. Os resultados revelam que a combinação de BAP e ANA em concentrações adequadas induziram uma maior taxa de proliferação de brotos superando de modo geral os tratamentos que continham os reguladores de crescimento isoladamente. Embora nem sempre sejam necessárias no meio de cultura visando induzir a taxa de multiplicação (Quoirin e Lepoivre, 1977), as auxinas são utilizadas no intuito de estimular o crescimento das partes aéreas.

Quanto aos explantes o segmento nodal apresentou taxas médias igual ou maior que 2,0 brotos por explante, o mesmo não aconteceu com o segmento apical. As brotações formadas a partir do segmento apical, geralmente foram em forma de rosetas. Os resultados revelam que o segmento nodal foi mais eficiente. Resultado semelhante foi obtido por Coelho (1999) quando utilizou a espécie *Pterodon pubescens* (Benth.) Benth., uma árvore típica dos cerrados.

Tabela 1. Efeito de reguladores de crescimento na indução de brotos a partir de segmento apical e nodal de mogno. Embrapa Amazônia Oriental, 2000.

BAP (mgL ⁻¹)	ANA (mgL ⁻¹)	Média de número de brotos / segmento apical	Média de número de brotos / segmento nodal
0,0	0,0	1,0 cdef	2,3 abcd
1,0	0,0	1,7 abcde	2,0 d
1,0	0,01	2,2 ab	2,2 bcd
1,0	0,5	0,8 f	2,4 abc
1,0	1,0	1,9 ab	2,2 abcd
2,0	0,0	1,7 abcde	2,5 ab
2,0	0,01	1,5 bcdef	2,4 abc
2,0	0,5	1,0 def	2,3 abcd
2,0	1,0	1,9 ab	2,1 cd
3,0	0,0	0,7 f	2,3 abcd
3,0	0,01	1,8 abcd	2,4 abc
3,0	0,5	2,7 a	2,2 abcd
3,0	1,0	0,9 ef	2,6 a
4,0	0,0	1,6 bcdef	2,2 abcd
4,0	0,01	1,7 abcdef	2,4 abc
4,0	0,5	1,9 abc	2,4 abc
4,0	1,0	1,0 def	2,5 a

Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Duncan ao nível de 5% de probabilidade.

Experimento II:

Na Tabela 2 são apresentados os dados referentes a formação do sistema radicular. Os tratamentos contendo 2,0 e 5,0 mgL⁻¹ de ANA apresentaram as maiores porcentagens de enraizamento, e o maior número de raízes, respectivamente, 85 e 75 % e 3,1 e 3,3 raízes em média por broto. O tratamento contendo 3,0 mgL⁻¹ de AIB foi o menos eficiente, apresentando 5 % de enraizamento e em média 1,0 raiz por broto. Os resultados mostram

que o ANA é mais eficiente que o AIB na formação do sistema radicular de brotos de mogno Figura 1.

As plântulas obtidas foram transferidas para aclimatação sob casa de vegetação com irrigação intermitente. As mudas formadas foram cultivadas no campo.

Tabela 2. Efeito de reguladores de crescimento no enraizamento *in vitro* de brotos de mogno. Embrapa Amazônia Oriental, 2000.

ANA (mgL ⁻¹)	AIB (mgL ⁻¹)	% enraizamento	Número médio de raiz/broto
0,0	0,1	25 b	1,4 b
0,0	1,0	15 c	1,0 bc
0,0	3,0	5 cd	1,0 bc
0,0	5,0	10 c	1,0 bc
0,1	0,0	15 c	1,3 b
2,0	0,0	85 a	3,1 a
5,0	0,0	75 a	3,3 a

Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Duncan ao nível de 5% de probabilidade.



Figura 1. Brotos de mogno enraizados

Os resultados obtidos estão de acordo com Quezada (1996) trabalhando com diferentes concentrações de ANA, AIB e AIA, quando também obteve maior eficiência no enraizamento da macieira cv. Fred Hough na presença de ANA. Entretanto, Fortes (1992) obteve maior eficiência no enraizamento da macieira cv. Gala quando utilizou o AIB.

Experimento III:

Os resultados da taxa de enraizamento na presença de carvão ativado são apresentados na Tabela 3. Embora o tratamento contendo 2,0 mgL⁻¹ de ANA tenha tido a maior porcentagem de enraizamento de brotos de mogno (84%), os tratamentos contendo 4,0 e 5,0 mgL⁻¹ de ANA produziram os maiores números médios de raízes por broto (3,4 e 3,7 respectivamente), não diferindo estatisticamente entre si.

Tabela 3. Efeito de reguladores de crescimento no enraizamento *in vitro* de brotos de mogno na presença de carvão ativado. Embrapa Amazônia Oriental, 2000.

ANA (mgL ⁻¹)	AIB (mgL ⁻¹)	% enraizamento	Número médio de raiz/broto
2,0	0,0	84 a	1,8 b
3,0	0,0	68 bc	2,6 ab
4,0	0,0	80 ab	3,4 a
5,0	0,0	65 c	3,7 a
0,0	2,0	55 d	0,5 c
0,0	3,0	50 d	0,5 c
0,0	4,0	35 e	0,4 c
0,0	5,0	40 e	0,4 c

Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Duncan ao nível de 5% de probabilidade.

O tratamento contendo 4,0 mgL⁻¹ de AIB apresentou a menor porcentagem de enraizamento. Foi observado que a medida que a concentração de ANA aumentava, maior

era o número de raízes por brotos. Enquanto que, o número de raízes diminuía com o aumento da concentração de AIB.

CONCLUSÕES

- O meio de cultura MS, contendo 3,0 mgL⁻¹ de BAP + 0,5 mgL⁻¹ de ANA é o mais eficiente para indução de brotações de mogno em segmento apical.
- O meio de cultura MS, contendo 3,0 mgL⁻¹ de BAP + 1,0 mgL⁻¹ de ANA é o mais eficiente para indução de brotações de mogno em segmento nodal.
- O segmento nodal é mais eficiente para indução de brotações de mogno
- O ANA é mais eficiente que o AIB na formação do sistema radicular de brotos de mogno.
- A presença de carvão ativado no meio de cultura MS complementado com ANA nas concentrações de 2,0 a 5,0 mgL⁻¹ tem efeito significativo na indução do sistema radicular de mogno.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- COELHO, M.C.F. Germinação de sementes e propagação in vitro de sucupira branca [*Pterodon pubescens* (Benth.) Benth.]. Lavras: UFLA, 1999. 119p. Dissert. (mestrado em Fitotecnia).
- FORTES, G.R. de L. Calogênese e organogênese in vitro de macieira (*Malus* spp.) afetada por fatores físicos, químicos e biológicos. Viçosa: UFV, 1992. 163p. Tese (doutorado em Fitotecnia).
- GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M.A. Micropropagação. In: TORRES, A.C.; CALDAS, L.S. (eds). **Técnicas e Aplicações de Cultura de Tecidos de Plantas**. Brasília: Ministério da Agricultura. p. 99 - 170, 1990
- GULLISON, R.E.; HUBBELL, S. Regeneración natural de la mara (*Swietenia macrophylla*) em el bosque Chimanes, Bolívia. **Ecologia em Bolívia**, v. 19, p. 43-56, 1992.
- LINDSEY, K.; JONES, M.G.K. Biotecnologia vegetal agrícola. Zaragoza: Acribia, 1992. 276p.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. **Physiologia Plantarum**, v.15, p. 473 – 497, 1962.

QUEZADA, A.C. Micropropagação da macieira (*Malus domestica* Borkh) cv. Fred Hough. Pelotas: Universidade Federal de Pelotas, 1996. 82p. Dissert. (mestrado em Fruticultura).

QUOIRIN, M.; LEPOIVRE, P. Etude de milieux adaptés aux cultures in vitro de *Prunus*. **Acta Horticulture**, v.12, p.165-171, 1974.