

# Organogênese Direta em Explantes Caulinares de Ingazeiro (*Inga vera* Willd. subsp. *affinis* (DC.) T.D. Penn.)<sup>1</sup>

Vanessa Cristina Stein<sup>2</sup>, Renato Paiva<sup>3</sup> e Marcelo Rodrigues<sup>4</sup>, Gabriela Nogueira<sup>4</sup>,  
Fernanda Pereira Soares<sup>2</sup> e Cristiano Martinotto<sup>2</sup>

## Introdução

O ingazeiro *Inga vera* Willd. subsp. *affinis* (DC.) T.D. Penn. é uma espécie pioneira, extremamente abundante nas áreas sazonalmente inundadas das margens dos rios, apresentando algumas adaptações anatômicas e morfológicas que a fazem suportar submersão do sistema radicular. Essas características a tornam uma ótima espécie para plantios mistos em recuperação de áreas ciliares degradadas e em áreas de depleção de reservatórios [13]. Por outro lado, o ingazeiro também produz frutos comestíveis com elevados teores de sais minerais [9].

Geralmente, estas espécies nativas frutíferas multiplicam-se por reprodução sexual. No entanto, problemas relacionados com o armazenamento e a dormência das sementes dificultam a germinação. Além disso, este tipo de reprodução em espécies alógamas resulta em alto grau de variabilidade em muitas características de importância econômica [3] e esta variabilidade, embora importante para programas de melhoramento, dificulta o cultivo econômico.

As técnicas de propagação vegetativa *in vitro*, como a micropropagação, têm possibilitado a reprodução de espécies lenhosas recalcitrantes, com inúmeras vantagens em relação às técnicas *ex vitro*. Um dos maiores benefícios da micropropagação, bem como das outras técnicas de propagação assexuada, está relacionado à possibilidade de capturar e fixar os componentes aditivos e não-aditivos da variância genética por meio da propagação clonal, tornando-se uma ferramenta poderosa associada aos programas de melhoramento florestal para a propagação massal de genótipos superiores [5].

A micropropagação também possibilita a manipulação e a propagação de plantas de forma contínua, independentemente da época do ano e de forma mais rápida que os métodos convencionais de propagação vegetativa e, ainda, a possibilidade de obtenção e de manutenção de estoques de plantas livres de doenças e o intercâmbio de germoplasma [6,15]. Para tanto, são necessários ensaios que permitam conhecer e avaliar o potencial organogênico dos materiais de interesse (Costa, 2005 [8]).

O objetivo deste trabalho foi otimizar o protocolo de indução de brotações em *Inga vera* Willd. subsp. *affinis* (DC.) T.D. Penn..

## Material e métodos

Segmentos caulinares com, aproximadamente, 2 cm, foram inoculados em meio de cultura MS (Murashige & Skoog, 1962 [11]) contendo 3% de sacarose e diferentes concentrações de benzilaminopurina – (BAP) (0; 0,5; 2,5; 4,5; 8,5 e 13  $\mu\text{M}$ ) combinados com ácido naftaleno acético – (ANA) (0; 0,5, 2,5 e 5  $\mu\text{M}$ ). O meio foi solidificado com 0,7% de ágar e o pH foi ajustado para 5,8, antes da autoclavagem a 120°C, durante 20 minutos.

Após a inoculação, os segmentos foram mantidos em sala de crescimento a 25±2°C, irradiância de fótons de 36  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  e fotoperíodo de 16 horas. Após 45 dias, foram avaliados o número de brotações e de gemas por explante, o comprimento da maior brotação e a presença de calos na base dos explantes.

Os dados foram submetidos à análise de variância utilizando-se o Software Statistical Analysis System (SAS<sup>®</sup>) e as médias comparadas pelos modelos lineares generalizados.

## Resultados e discussão

Para a variável tamanho médio de brotações, observou-se interação significativa entre os reguladores de crescimento ANA e BAP. Como houve interação entre os reguladores, ajustaram-se modelos de regressão de exponencial para modelar os seus efeitos.

Foi observado um efeito inibitório quanto ao tamanho de brotação de ingazeiro, à medida que foi aumentada a concentração de BAP e em ausência de ANA (Fig. 1). Entretanto, quando as diferentes concentrações de BAP foram combinadas com 0,5 $\mu\text{M}$  de ANA, houve uma tendência a aumento no número de brotações, até a concentração de 2,5 $\mu\text{M}$  BAP (Fig. 2). No entanto, aumentando-se a concentração de ANA para 2,5 $\mu\text{M}$ , novamente ocorreu uma tendência à redução no tamanho médio de brotações, à medida que foi aumentada a concentração de BAP (Fig. 3).

Em *Eugenia dysenterica* DC., o maior número de brotações foi obtido nas concentrações de 8,5 $\mu\text{M}$  de BAP e 0,5  $\mu\text{M}$  de ANA [10]. Arellano & Pinto [1] obtiveram resultados satisfatórios na indução de brotações de pau-santo (*Kielmeyera coriacea* Martius) utilizando de 22 $\mu\text{M}$  de BAP associado com 0,5 $\mu\text{M}$  de ANA.

1. Parte da dissertação de mestrado da primeira autora

2. Doutoranda do curso de Agronomia/Fisiologia Vegetal, Setor de Fisiologia Vegetal, Departamento de Biologia, Universidade de Lavras. Campus Universitário, cx 3037. E-mail: vanessastein@ibest.com.br

3. Professor Adjunto do Departamento de Biologia, Setor de Fisiologia Vegetal, Departamento de Biologia, Universidade Federal de Lavras. Campus Universitário, cx 3037

4. Graduando em Ciências Biológicas, Departamento de Biologia, Universidade Federal de Lavras. Campus Universitário, cx 3037

Resultados semelhantes foram observados em *Sinningia speciosa* (Lood) Hiern, onde foi verificado um acréscimo no número de brotações até a concentração de 4µM de ANA [8]. Em porta-enxerto de pereira cv. Pyrodwarf, a adição de 0,5 µM de ANA, combinada com 6,6µM de BAP, proporcionou o melhor resultado no comprimento das brotações [7]).

Para *Ficus carica* L., a presença de ANA não melhora a resposta organogênica, exceto na concentração de 0,5 µM, produzindo um aumento médio de 2,3 brotos por explante [2]. Sugere-se que nessa concentração ANA estaria estabelecendo um balanço hormonal adequado com as citocininas endógenas dos explantes, o que estaria de acordo com que descreveram Skoog & Miller [14].

Para avaliar a influência de BAP e ANA sobre as variáveis número de brotações e número de folhas, utilizou-se a metodologia dos modelos lineares generalizados, uma vez que estas variáveis apresentavam valores referentes a contagens, o que inviabiliza a aplicação da análise de variância usual, devido à ausência de normalidade dos resíduos.

Portanto, com relação ao BAP foi observada uma redução no número de brotações e no número de folhas, com o aumento da concentração desse hormônio. Na ausência de BAP, verificou-se uma média de 1,1 brotações por explante e que foi reduzida com o aumento de BAP, chegando à ausência de formação de brotos na concentração de 13µM.

Em *Schizolobium amazonicum* Huber ex Ducke, outra Fabaceae, o tratamento com 13 µM BAP foi o que apresentou maior número de proliferação dos brotos. No entanto, Soares [13], trabalhando com concentrações acima de 13 µM em brotação de ingazeiro, observou que a ausência de BAP apresentou proporcionou maior formação de brotações.

Ponte [12] e Coelho [4], relatam que o uso de baixas concentrações de BAP no meio de cultura tem sido indicado para espécies lenhosas, como *Eucalyptus globulus* ssp. *Globulus* Labill e *sucupira* branca [*Pterodon pubescens* (Benth.) Benth.], pois, segundo Grattapaglia & Machado [6], as quantidades necessárias destas substâncias variam de acordo com o tecido utilizado e com seus níveis endógenos.

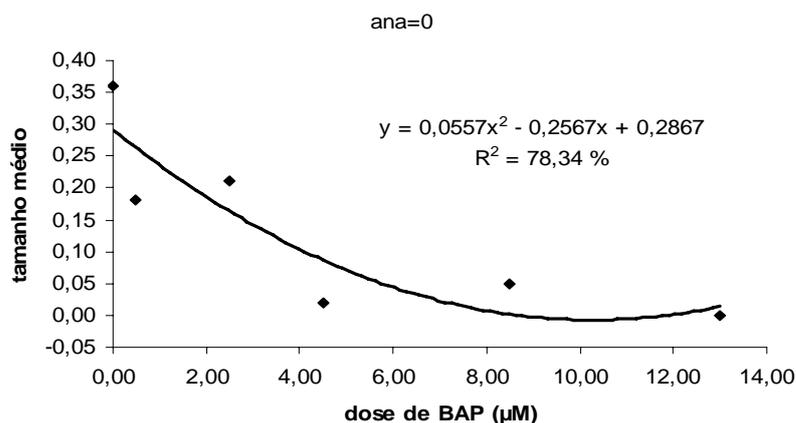
## Conclusão

A concentração de 5µM de ANA, combinada com 2,5µM BAP, proporcionou maior crescimento das

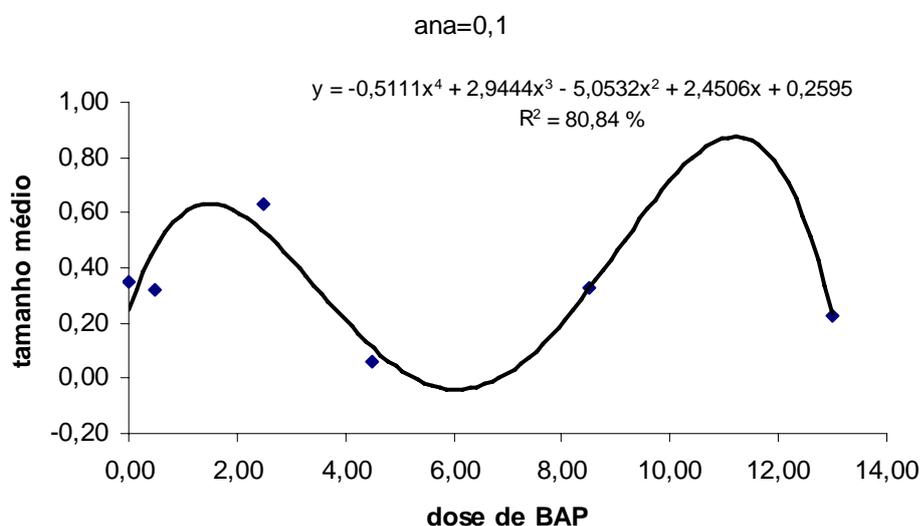
brotações e o BAP reduz o número de brotações e o número de folhas e explantes de ingazeiro.

## Referências

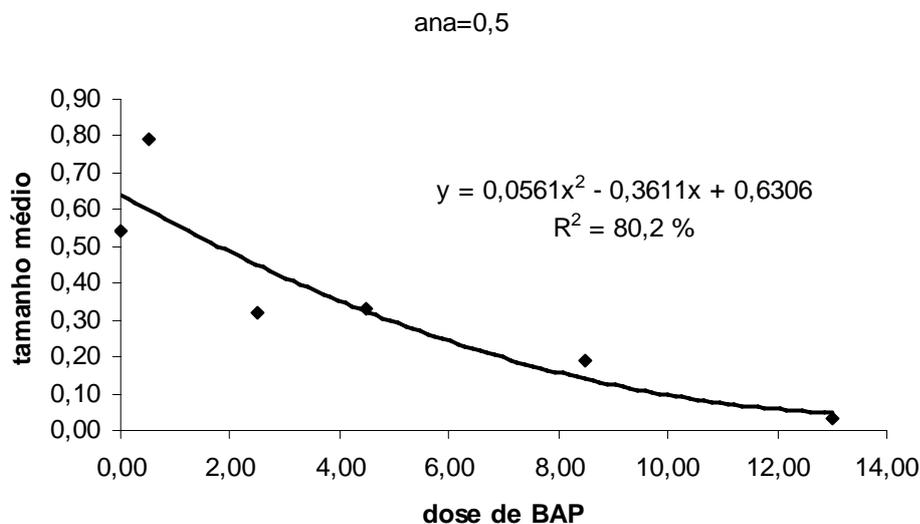
- [1] ARELLO, E. F.; PINTO, J. E. P. 1993. Propagação in vitro de *Kielmeyera coriacea*. Efeito das diversas concentrações combinadas de benzilaminopurina e ácido naftalenacético na multiplicação de brotos. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v. 28, n. 1, p. 25-31,
- [2] BRUM, G.R.; SILVA, A.B. da; PASQUAL, M. 2002. Efeito de diferentes concentrações de BAP e ANA na propagação in vitro da figueira (*Ficus carica* L.) *Ciência Agrotecnologia*, Lavras. Edição Especial, p.1403-1409.
- [3] CAMPBELL, R.J. 1996. *South American fruits deserving further attention*. In: JANICK, J. (Ed.) *Progress in new crops*. Arlington: ASHS, p.431-439.
- [4] COELHO, M. C. F. 1999. *Germinação de sementes e propagação in vitro de sucupira* branca [*Pterodon pubescens* (Benth.) Benth.]. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.
- [5] GEORGE, E. F.; SHERRINGTON, P. D. 1984. *Plant propagation by tissue culture*. England: Eastern Press, 709p.
- [6] GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. 1990. Micropropagação. In: TORRES, A. C., CALDAS, L. S. *Técnicas e aplicações da cultura de tecidos de plantas*. Brasília: ABCPT, EMBRAPA-CNPq, p. 99-169.
- [7] JUNIOR, C.L. de A.; FAORO, I.D.; VIEIRA, R.L.; SPENGLER, M.M. 2006. [On line]. Efeito da concentração de reguladores de crescimento na multiplicação in vitro do porta-enxerto de pereira cv. Pyrodwarf. Disponível em [http://www.ufpel.tche.br/sbfruti/analise\\_xvii\\_cbf/propagacao/026.htm](http://www.ufpel.tche.br/sbfruti/analise_xvii_cbf/propagacao/026.htm)
- [8] LONDE, L.N.; FIGUEIRA, E.R.; ARRUDA, A. da S.; BONNETI, A.M.; SANTANA, D.G. 2004. Cultivo in vitro de *Glioxínia* em meio MS com diferentes concentrações de fitoreguladores. *Journal Biociência*, v. 20, n. 3, p. 69-74.
- [9] LOPE, K. P.; BRUNO, R. DE L. A.; BRUNO, G. B. E MOURA, M. F. 2006. [On line]. Comportamento de sementes de *Inga* sp. durante o armazenamento. Disponível em: <http://www.ufpel.tche.br/sbfruti/58k>
- [10] MARTINOTTO, C. 2004. *Cultivo in vitro e aspectos morfofisiológicos de cagaiteira*. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Fisiologia Vegetal) – Universidade Federal de Lavras.
- [11] MURASHIGE, T. & SKOOG, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, v.15, p.473-497,
- [12] PONTE, E. M. D. 1999. Micropropagação de *Eucalyptus globulus* ssp. *Globulus* Labill. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Pelotas.
- [13] SOARES, G. de A. 2003. *Aspectos do cultivo in vitro do ingazeiro* [*Inga vera* Willd. subsp. *affinis* (DC.) T.D. Penn.]. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Fisiologia Vegetal) - Universidade Federal de Lavras, Lavras. 2003.
- [14] SKOOG, F.; MILLER, C. O. 1957. Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissue cultured in vitro. *Symposia of the Society for Experimental Biology*, Cambridge, v. 11, p. 118-131,
- [15] THORPE, T. A.; HARRY, I. S.; 1991. KUMAR, P. P. Application of micropropagation to forestry. In: DEBERGH, P. C.; ZIMMERMAN, R. H. *Micropropagation: technology and application*. Dordrecht: Kluwer Academic Press, p. 311-33



**Figura 1.** Efeito do regulador de crescimento BAP na ausência de ANA, quanto ao no número de folhas em brotação de ingazeiro. UFLA, Lavras, 2006.



**Figura 2.** Efeito do regulador de crescimento BAP combinado com 0,5 $\mu\text{M}$  de ANA, quanto ao no número de folhas em brotação de ingazeiro. UFLA, Lavras, 2006.



**Figura 3.** Efeito do regulador de crescimento BAP combinado com 2,5  $\mu\text{M}$  de ANA, quanto ao no número de folhas em brotação de ingazeiro. UFLA, Lavras, 2006.