

Indução de brotações *in vitro* de *Schizolobium parahyba* var. *amazonicum*.

Lulla Naiff Rabelo de Souza Reis¹; Osmar Alves Lameira²; Allan Guerreiro Carneiro³; Iracema Maria Castro Coimbra Cordeiro⁴; Silvaney Fonseca Ferreira⁵; Carla Vanessa Borges Castro⁶.

¹Doutoranda do Programa de Pós-graduação em Fisiologia Vegetal (UFV) Universidade Federal de Viçosa. Av. PH Rolfs, s/n, Campus Universitário, Viçosa-MG, CEP 36570-000. e-mail: naiff_agro@yahoo.com.br; ²Pesquisador da Embrapa Amazônia Oriental. Trav. Dr. Enéas Pinheiro sn, CP 48, Belém-PA, CEP 66095-100, e-mail: osmar@cpatu.embrapa.br; ³Cientista da Computação (CESUPA). Av. Governador José Malcher, 1963, Belém-PA, CEP: 66060-230, e-mail: allanguerreiro@yahoo.com.br; ⁴Doutoranda do curso de Ciências Florestais (UFRA). Av. Tancredo Neves, 2501, Montese, Belém-PA, CEP 66077-530, e-mail: mgti@amazon.com.br; ⁵MSc em Ciência Animal (UFPA). Rua Augusto Côrrea, 01, Guamá, Belém-PA. CEP 66075-110 - CP 479, e-mail: silvaney8@yahoo.com.br; ⁶Mestre em Agronomia (UFRA), e-mail: carlinhaufra@hotmail.com.

INTRODUÇÃO

O *Schizolobium parahyba* var. *amazonicum* (Huber ex Ducke) Barneby (paricá) é uma espécie que tem despertado interesse entre produtores rurais e madeireiros, devido ao valor comercial da madeira para a produção de laminados de excelente qualidade, como também pelo crescimento rápido da espécie, principalmente nos primeiros anos. Apesar da facilidade de se obter muda pelo método convencional, os plantios com o paricá precisam ser formados com plantas que tenham características de interesse, como fuste reto e crescimento uniforme, para melhorar seu rendimento. No entanto, no Estado do Pará, os plantios de paricá apresentam grande variação de crescimento e de produtividade, principalmente, devido a ausência de material genético melhorado. Assim, o desenvolvimento de metodologias de micropropagação *in vitro* tem sido apontado como alternativa potencial para produção de mudas de paricá, pela possibilidade de multiplicar fragmentos vegetais e se obter milhares de mudas geneticamente iguais à planta mãe e uniformização dos plantios.

As técnicas *in vitro* têm mostrado vantagens sobre os métodos da propagação tradicional, pois as culturas são iniciadas com fragmentos de plantas (explantes), requerem pequeno espaço para manter ou para aumentar o número de plantas e podem produzir plantas livres de patógenos (George, 1993).

As citocininas são os reguladores de crescimento mais utilizados na multiplicação *in vitro*, sendo a 6-benzilaminopurina (BAP) bastante empregado para esta finalidade, enquanto que as giberelinas incrementam tanto a divisão celular quanto o alongamento das células formadas (Taiz & Zeiger, 1991), mas têm como principal efeito estimular o crescimento de órgãos já formados, no entanto, podem inibir a iniciação de outros processos de formação de órgãos (George & Sherrington, 1984). De acordo com Guerra et al. (1998), um dos principais efeitos e aplicações das giberelinas em cultura de tecidos é o alongamento das brotações durante a multiplicação.

O objetivo do trabalho foi induzir brotações *in vitro* em três tipos de explante de paricá inoculados em meio MS contendo 6-benzilaminopurina (BAP), suplementados ou não de sacarose e ácido giberélico (AG₃).

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi desenvolvido no laboratório de Biotecnologia e Recursos Genéticos da Embrapa Amazônia Oriental (Belém/PA). As sementes de paricá procedentes do município de Ji-Paraná, no Estado de Rondônia, foram obtidas através da Associação das Indústrias Exportadoras de Madeiras do Estado do Pará (AIMEX).

Como fontes de explante, foram utilizadas plântulas germinadas *in vitro* com 20 dias de cultivo. Os tratamentos testados foram constituídos de 3 concentrações de sacarose (0, 30 e 60 g.L⁻¹), 2 concentrações de AG₃ (0 e 0,5 mg.L⁻¹) e 3 tipos de explante (segmento apical – SA; segmento nodal – SN e segmento intercotiledonar – SIC).

Os explantes cortados com tamanho de aproximadamente 1,0 cm, foram inoculados na posição vertical em frascos contendo 40 mL de meio de cultura básico MS com as

concentrações de NH_4NO_3 e Fe-EDTA reduzidas a metade (demais componentes em suas concentrações normais), sacarose 3%, ágar 0,6%, e suplementado com BAP (3 mg.L^{-1}) e 0,1% de ácido cítrico, pH 5,8, autoclavados a 120°C e 1,2 atm durante 20 minutos. As culturas foram mantidas em sala de crescimento sob temperatura de $24 \pm 1^\circ\text{C}$, fotoperíodo de 16 horas de luz branca fria e irradiância de $25 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$.

O delineamento experimental adotado foi inteiramente casualizado, em arranjo fatorial $3 \times 3 \times 2$ (3 concentrações de sacarose, 3 tipos de explante e 2 concentrações de AG_3), com 4 repetições, totalizando 72 unidades experimentais, sendo que cada parcela foi constituída por um frasco contendo 3 explantes. As avaliações foram realizadas após 20 dias de cultivo, avaliando-se o número e comprimento dos brotos. Os dados foram submetidos a análise de variância e quando houve efeito significativo, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade através do programa estatístico Sisvar. Os dados de número de brotos foram transformados para $(X + 0,5)^{1/2}$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com a análise de variância somente ocorreu diferença significativa entre as fontes de variação na ausência de AG_3 . Tal fato demonstra que a presença desse regulador de crescimento, associado ao BAP, não influenciou na formação de brotos e nem no alongamento dos mesmos. Não houve formação de brotações quando o meio MS foi suplementado com 3 mg.L^{-1} de BAP, mas na ausência de sacarose, , indicando que mesmo na presença de citocinina, há necessidade de adição de carboidrato ao meio de cultivo para multiplicação *in vitro* de paricá, independente do explante utilizado (Figura 1).

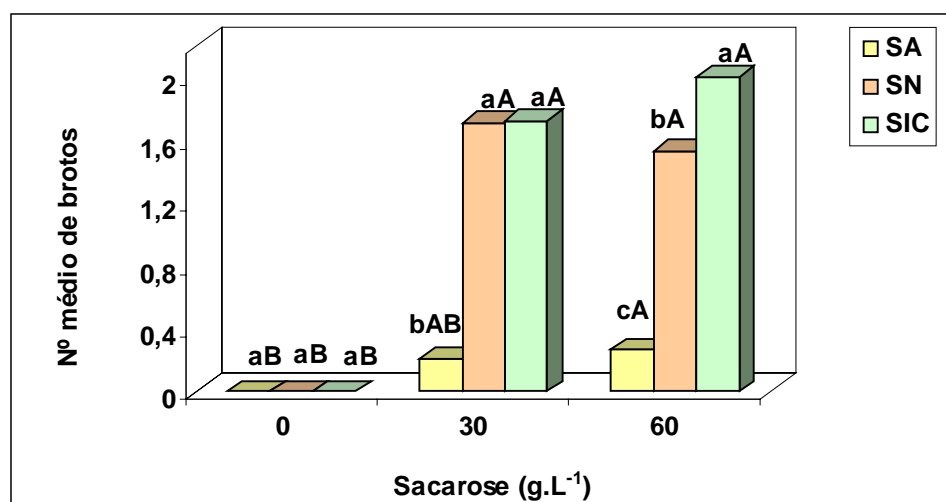


Figura 1. Número médio de brotos de paricá a partir de segmentos apical (SA), nodal (SN) e intercotiledonar (SIC), submetidos a diferentes concentrações de sacarose, em meio MS com 3 mg.L^{-1} de BAP. Embrapa Amazônia Oriental, Belém-PA, 2007. Letras distintas entre si comparam: minúsculas, os explantes dentro de cada concentração de sacarose; e maiúsculas, as concentrações de sacarose dentro de cada explante, ao nível de 5% de probabilidade pelo Teste de Tukey.

Quando foi usado 30 g.L^{-1} de sacarose, segmentos nodais e intercotiledonares não diferiram estatisticamente entre si, com respectivamente 1,71 e 1,72 brotações por explante, sendo superiores ao segmento apical, que apresentou em média 0,21 brotações por explante. Por outro lado, na concentração de 60 g.L^{-1} de sacarose, segmentos intercotiledonares foram mais eficientes (2 brotações/explante) que segmentos nodais, que formaram em média 1,53 brotos, e segmentos apicais, que apresentaram 0,27 brotos por explante. Nota-se ainda que não houve diferença significativa entre as concentrações de 30 e 60 g.L^{-1} de sacarose para cada explante avaliado (Figura 1).

Da mesma forma, Pinto et al. (1994) observaram que segmentos nodais de pausante (*Kielmeyra coriacea* Mart. Zucc) apresentaram maior capacidade de produção de brotos em relação aos segmentos apicais. Rodrigues et al. (2006) verificaram que as

concentrações de 30, 45 e 60 g L⁻¹ de sacarose apresentaram melhores resultados em macieira (*Malus domestica*), sendo a maior taxa de multiplicação obtida com os explantes de ápices caulinares.

O baixo número de brotos obtido neste trabalho já foi relatado por Cordeiro (2004) que estudou o efeito do BAP na proliferação *in vitro* de paricá, e obteve em média 2,14 brotos por explante, usando a concentração de 3 mg.L⁻¹ desse regulador de crescimento, e justificou que essa baixa multiplicação de brotos está relacionada com as características da própria planta.

Quanto ao comprimento dos brotos, foi verificado que no meio de cultivo contendo 30 g.L⁻¹ de sacarose, segmentos nodais (0,32 cm) e intercotiledonares (0,46 cm) não diferiram significativamente entre si, e foram mais eficientes que segmentos apicais, os quais obtiveram brotos medindo em média 0,14 cm, conforme mostra a Figura 2.

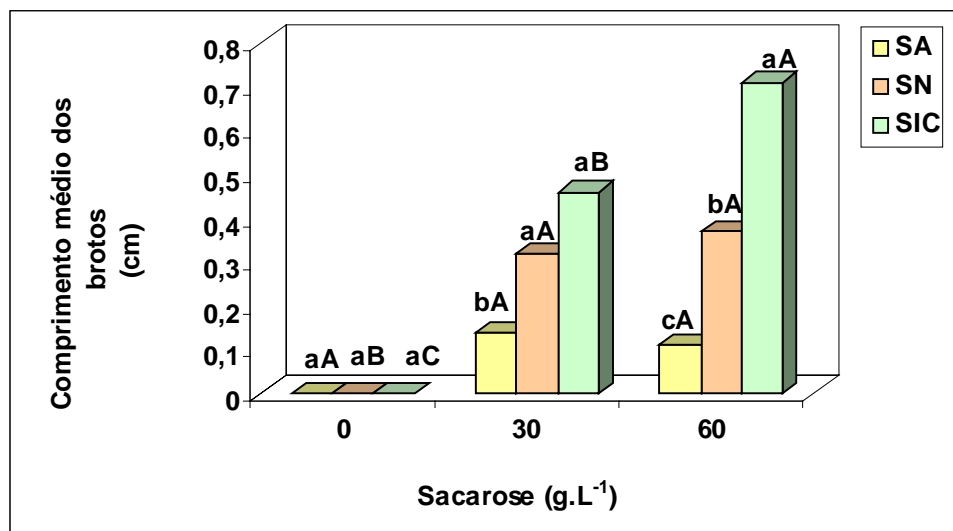


Figura 2. Comprimento médio de brotos de paricá a partir de segmentos apical (SA), nodal (SN) e intercotiledonar (SIC), submetidos a diferentes concentrações de sacarose, em meio MS com 3 mg.L⁻¹ de BAP. Embrapa Amazônia Oriental, Belém-PA, 2007. Letras distintas entre si comparam: minúsculas, os explantes dentro de cada concentração de sacarose; e maiúsculas, as concentrações de sacarose dentro de cada explante, ao nível de 5% de probabilidade pelo Teste de Tukey.

No meio de cultura básico MS contendo 60 g.L⁻¹ de sacarose, os segmentos intercotiledonares apresentaram resultados mais satisfatórios, com comprimento médio dos brotos de 0,71cm, diferindo estatisticamente de segmentos nodais (0,37cm) e apicais (0,11cm). Com relação a diferença entre concentrações de sacarose dentro de cada explante, só houve diferença significativa para segmentos intercotiledonares, os quais tiveram brotações mais alongadas na presença de 60 g.L⁻¹ de sacarose (Figura 2).

Ao contrário do verificado neste estudo, Sabá et al. (2002) observaram que segmento apical foi mais eficiente que segmento nodal na formação e comprimento de brotações de jaborandi (*Pilocarpus jaborandi*). Por sua vez, Andrade et al. (2000) verificaram que não houve diferença significativa entre segmentos apicais e nodais em relação ao comprimento das brotações de aroreira (*Myracrodruom urundeuva* Fr. All).

A Figura 3 ilustra brotações formadas a partir de segmento apical (3A), nodal (3B) e intercotiledonar (3C), evidenciando o aparecimento de lenticelas nos últimos dois explantes, as quais estão frequentemente presentes no cultivo *in vitro* de paricá. Notou-se então que diferentes explantes respondem de forma diferenciada, mesmo quando submetidos às mesmas condições de cultivo. Este fato está relacionado com as respostas de células, tecidos e órgãos cultivados *in vitro* que podem variar de acordo com as condições da cultura, do tipo de explante e do genótipo. Similarmente ao verificado por Cordeiro (2004) trabalhando com paricá, foi observada a presença de calos em todos os tratamentos contendo sacarose. Essas estruturas iniciaram-se na base do explante, apresentando

inicialmente coloração bege e textura friável. A oxidação também se fez presente, tornando-se mais expressiva a partir dos 20 dias de cultivo.

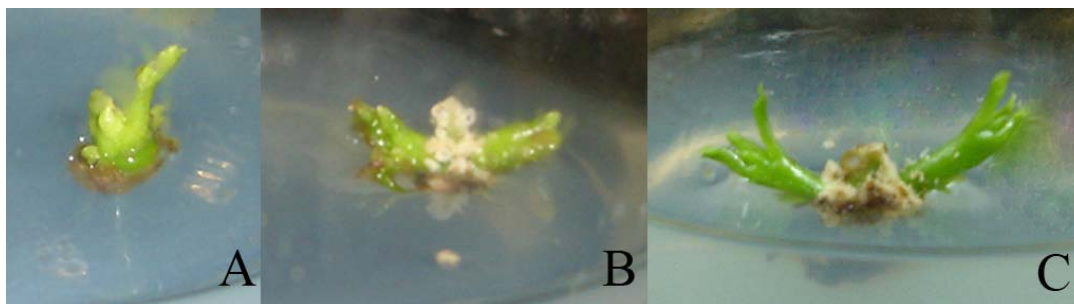


Figura 3. Brotações de paricá a partir de segmentos apicais (A), nodais (B) e intercotiledonares (C), inoculados em meio MS com 60 g.L⁻¹ de sacarose e 3 mg.L⁻¹ de BAP. Embrapa Amazônia Oriental, Belém-PA, 2007.

CONCLUSÕES

O AG₃ não exerceu influência sobre a indução e comprimento de brotações de paricá, e a sacarose mostrou ser essencial para a multiplicação *in vitro* dessa espécie a partir de segmentos nodais e intercotiledonares.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDRADE, M.W.de; LUZ, J.M.Q.; LACERDA, A.S.; MELO, P.R.A.de. Micropropagação de aroreira (*Myracrodruom urundeuva* Fr. All). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.24, n.1, p.174-180. jan./mar. 2000.

CORDEIRO, I.M.C.C.; LAMEIRA, O.A.; OHASHI, S.T.; ROSAL, L.F. Efeito de BAP sobre a proliferação *in vitro* de *Schizolobium amazonicum* Huber ex Ducke (Paricá). **Cerne**, Lavras, v.10, n.1, p.118-124, jan./jun. 2004.

GEORGE, E.F.; SHERRINGTON, P.D. (Ed.). *Plant propagation by tissue culture*. Eversley: Exegetics, 1984. 709p.

GEORGE, E. F. **Plant propagation by tissue culture: part 2: The practice**. Exegetics Ltd., England, 1996. 574 p.

GUERRA, M. P.; TORRES, A. C.; TEIXEIRA, J. B. Embriogênese somática e sementes sintéticas. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. (Eds.). **Cultura de tecidos e transformações genéticas de plantas**. Brasília, DF: EMBRAPA/CBAB, 1998. p.533-568.

PINTO, J.E.B.P.; ARELLO, E.F.; PINTO, C.A.B.P.; BARBOSA, M.H.P. Uso de diferentes explantes e concentrações de benzilaminopurina na multiplicação *in vitro* de brotos de *Kielmeyera coriacea*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.29, n.6, p.867-873, jun. 1994.

RODRIGUES, M.de M.; MELO, M.das D.; ALOUFA, M.A.I. Propagação vegetativa *in vitro* e análise estrutural de macieira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.41, n.1, p.171-173, jan. 2006. Disponível em: <<http://atlas.sct.embrapa.br/pdf/pab2006/01/41n01a24.pdf>>. Acesso em: 10 jan. 2007.

SABÁ, R.T.; LAMEIRA, O.A.; LUZ, J.M.Q.; GOMES, A.P.R.; INNECCO, R. Micropropagação do jaborandi. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.20, n.1, mar. 2002. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/hb/v20n1/14428.pdf>>. Acesso em: 03 jan. 2007.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Plant Physiology**. Redwood City: The Benjamin Cummings, 1991. 559 p.

PALAVRAS-CHAVE

Schizolobium parahyba var. *amazonicum*, multiplicação *in vitro*, sacarose, AG₃, explantes.