

**EFEITO DE BAP SOBRE A PROLIFERAÇÃO DE BROTOS *IN VITRO* DE  
*Schizolobium amazonicum* Huber ex Ducke (PARICÁ)**

Iracema Maria Castro Coimbra Cordeiro<sup>1</sup>, Osmar Alves Lameira<sup>2</sup>,  
Selma Toyoko Ohashi<sup>3</sup> Louise Ferreira Rosa<sup>4</sup>

(Recebido: 11 de setembro de 2002; aceito: 19 de maio de 2004)

**RESUMO:** O paricá, planta nativa das florestas tropicais, pertencente à família das caesalpinaceae, é uma espécie considerada com grande potencial devido à sua larga utilização. Com o objetivo de multiplicação da espécie *in vitro*, segmentos caulinares de plântulas estabelecidas *in vitro* foram excisados e inoculados em meio MS sólido suplementado com 0; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5 e 3,0 mg.L<sup>-1</sup> de BAP, 3% de sacarose e 0,1% de PVP. As atividades foram realizadas no Laboratório de Recursos Genéticos e Biotecnologia da Embrapa Amazônia Oriental, Belém (PA). As culturas foram mantidas sob fotoperíodo de 16 horas luz e 25± 1°C de temperatura. Após três semanas realizou-se a avaliação com a contagem do número e comprimento de brotos por explante. O tratamento com 3 mg.L<sup>-1</sup> BAP foi o que apresentou maior número de proliferação dos brotos, com 2,14 brotos por explante. Posteriormente, os brotos foram transferidos para o meio MS nas mesmas condições de cultivo para enraizamento.

Palavras-chave: paricá, organogênese, regulador de crescimento, cultura de tecidos.

**EFFECT OF BAP ON PROLIFERATION OF *Schizolobium amazonicum* Huber ex Ducke  
(PARICA) SHOOTS, *IN VITRO***

**ABSTRACT:** *Parica* is a native tropical forest plant pertaining to the ofcaesalpinaceae family. It is species considered of great potential, due its wide use. Aiming reproducing the species, *in vitro*, stem segments of plantlets established *in vitro* were excised and inoculated on solid MS supplemented with 0; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5 and 3,0 mg.L<sup>-1</sup> of BAP with 3% of sucrose, 0,1% of PVP and one control. The activities had been carried out in the Laboratory of Genetic Resources and Biotechnology of the Embrapa Oriental, Amazon, and Belem (PA). The cultures had been under sun photo period for 16 hours 25+ 1°C of temperature. After three weeks of cultivation the explants were evaluated, counting the number and length of explants shoots. The treatment with 3 mg.L<sup>-1</sup> BAP presented greater number of shoot proliferation with 2,14 for explants. The shoots were transferred to MS medium in the same conditions of culture for rooting.

Key words: *paricá*, organogenesis, growth regulator, tissue culture.

---

<sup>1</sup> Eng. Ftal –MSc, Universidade Federal Rural da Amazônia, CEP 66065-360, Belém,PA, [mgti@amazon.com.br](mailto:mgti@amazon.com.br)

<sup>2</sup> Eng. Agr. Doutor, Embrapa Amazônia Oriental, Belém,PA, 66095-100, [osmar@cpatu.embrapa.br](mailto:osmar@cpatu.embrapa.br)

<sup>3</sup> Professora da Universidade Federal Rural da Amazônia, Av. Tancredo Neves s/n, Terra firme, C.P. 917, CEP 66077-530. Belém-PA, [sohashi@amazon.com.br](mailto:sohashi@amazon.com.br)

<sup>4</sup> Eng. Agr. Doutoranda da Universidade Federal de Lavras, C.P. 3037, CEP 37200-000, Lavras-MG, bolsista do CNPq.

## 1 INTRODUÇÃO

O *Schizolobium amazonicum* Huber ex Ducke é uma importante espécie florestal que vem sendo largamente utilizada em reflorestamento por apresentar algumas vantagens, tais como: rápido crescimento, habilidade de regeneração após o corte e relativamente imune a pragas e doenças. No entanto, tem sido observado que existe grande variabilidade entre os indivíduos no povoamento. Estes fatos, aliados à variabilidade existente entre as mudas produzidas pelo método tradicional, despertaram o interesse de empresas e pesquisadores para o estudo de potencialidade da técnica de micropropagação da espécie. Sendo assim, a cultura de tecidos aparece como alternativa que possibilita a produção de dezenas ou centenas de mudas uniforme a partir de uma semente ou matriz selecionada (Melo et al., 1998).

Dentre as citocininas, a 6-benzilaminopurina (BAP) tem sido muito eficaz para promover a multiplicação em diversas espécies lenhosas. Alguns dados sugerem que essa citocinina parece ser, por excelência, a mais indicada para promover a proliferação de partes aéreas e indução de gemas adventícias *in vitro* (Hu & Wang, 1983).

O resultado da ação do fitormônio na planta pode estar na capacidade dos tecidos vegetais metabolizarem mais rapidamente os hormônios naturais do que reguladores de crescimento artificiais. Porém, Grattapaglia & Machado (1998) relatam que, conforme a espécie, outras citocininas podem apresentar melhores resultados. O crescimento e o padrão de desenvolvimento da maior parte dos cultivos *in vitro* estão diretamente relacionados com a composição do meio e a concentração dos reguladores de crescimento, como o BAP, presentes no meio. Todavia, os

mesmos autores relatam ainda que as quantidades necessárias destas substâncias variam de acordo com o tecido utilizado, bem como, com seus níveis endógenos.

Estudos apontam que o segmento nodal é o explante mais eficiente para a proliferação de brotos de espécies lenhosas. Esta assertiva foi também verificada por Pinto et al. (1994) e Lopes (2000) em seus estudos com pau-santo (*Kielmeyera cociacea*) e mogno (*Swietenia macrophylla*), respectivamente.

As respostas de micropropagação e estado morfogenético com espécies florestais têm sido obtidas quase que exclusivamente em coníferas e eucaliptos. Entretanto, com o avanço da biotecnologia, estudos crescentes vêm sendo desenvolvidos com espécies de florestas tropicais, como *Swietenia macrophylla* (mogno) e *Cedrela odorata* (cedro), pesquisadas por Lopes (2000) e Lameira et al. (2000), respectivamente. O principal objetivo da fase de multiplicação é produzir o maior número de plantas no menor espaço de tempo. Para tanto se faz necessário que o meio nutritivo forneça substâncias essenciais para o crescimento da planta *in vitro*. Desse modo, Gaspar et al. (1996) relatam que o meio nutritivo está de acordo com a exigência da planta, porém, o fator chave da multiplicação é a presença dos reguladores de crescimento vegetal, particularmente citocininas e auxinas.

O trabalho teve como objetivo avaliar diferentes concentrações de BAP em meio MS, com a finalidade de obter brotações de segmentos nodais de paricá.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

Explantos constituídos de segmentos nodais provenientes de plântulas germinadas *in vitro* com aproximadamente 0,5 cm foram inoculados em meio MS (Murashige & Skoog, 1962) suplementado com 0,0; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5

e 3,0 mg.L<sup>-1</sup> de BAP, 3% de sacarose e 0,1% de PVP (Polivinilpirrolidona).

O meio de cultura teve seu pH ajustado para 5,8 antes da autoclavagem, solidificado com ágar a 6 mg.L<sup>-1</sup> e autoclavados a 121°C, 1,2 atm, por 15 minutos. Em câmara de fluxo laminar, os explantes foram inoculados em tubos de ensaio contendo 10ml de meio de cultura e um explante por tubo. Após a inoculação, os tubos foram tampados e lacrados com filme de PVC e levados para sala de crescimento, com temperatura de 25°C ± 1°C, fotoperíodo de 16 horas de luz diárias e intensidade luminosa 25 μmol.m<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup> de irradiância. As avaliações realizadas foram o número e o comprimento dos brotos. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com seis tratamentos e quatro repetições, sendo cada unidade experimental constituída de cinco tubos. O ensaio foi desenvolvido no Laboratório de

Recursos Genéticos e Biotecnologia da Embrapa Amazônia Oriental.

A análise estatística foi feita por meio da análise de variação e teste de regressão. Os dados do número de brotos foram transformados para  $\sqrt{0,5+x}$  e os dados comprimento dos brotos não sofreram transformação.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O resumo da análise de variância obtido para número e comprimento de brotações de paricá encontra-se na Tabela 1. Pode-se observar que houve diferenças significativas nas concentrações de BAP testadas para as duas variáveis analisadas.

O tratamento que resultou em maior número médio de brotações foi o que continha concentração de 3 mg.L<sup>-1</sup>, obtendo-se, em média, 2,14 brotos por explante.

**Tabela 1.** Resumo da análise da variação para o número e comprimento de brotações de paricá em função do efeito de concentrações de BAP. Embrapa Amazônia Oriental. Belém, PA. 2002.

**Table 1.** Variation analysis summary for the number and length of parica shoots in function of BAP concentration effects. Embrapa Oriental, Amazon. Belém, Para. 2002.

Causas da variação (mg)	G.L		Quadrados Médios	
	Número de brotos	Comprimento de brotos	Número de brotos <sup>1</sup>	Comprimento de brotos
Conc. BAP	5	5	1,01929015**	0,63135914*
Resíduo	114	99	0,09643701	0,15219505
CV(%)			22,15	58,00
Média			1,4	0,67

\* e \*\* Significativos a 5% e 1% de probabilidade, respectivamente, pelo teste F.

<sup>1</sup>Dados transformados em  $\sqrt{0,5+x}$

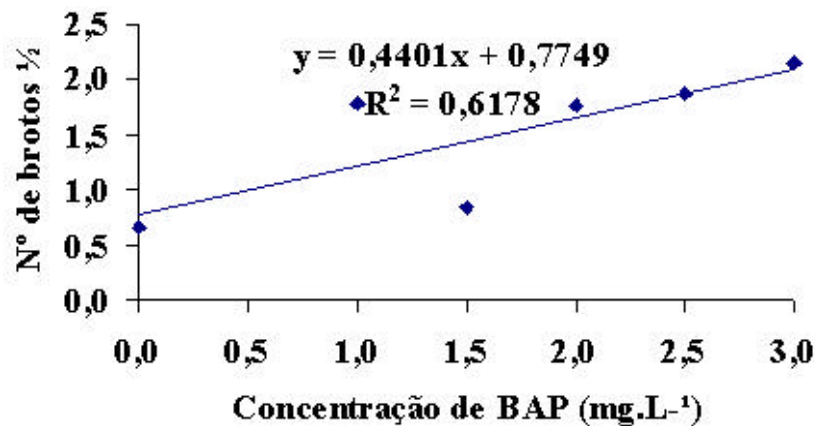
Observa-se, na equação de regressão, que o número total de brotos obtidos por morfogênese direta apresentou uma tendência de aumento linear no número de brotos produzidos por explante à medida que

aumentou a concentração do regulador de crescimento. Porém, nota-se que os tratamentos com as concentrações 1,0 e 1,5 mg.L<sup>-1</sup> não seguem a mesma tendência observada (Figura 1). Para esta diferença de

comportamento, deve-se levar em consideração que o material utilizado no trabalho foi proveniente de sementes de genótipos variados, podendo assim ter uma alta variabilidade dentro do material.

Deve-se ressaltar ainda que a variabilidade experimental pode estar ligada à

variação no tamanho do explante e condições *in vitro* parcialmente controladas. Segundo Izquierdo & Lopez (1991), a heterogeneidade nos cultivos *in vitro* é subestimada pressupondo existir um controle nas condições de laboratório, o que nem sempre é verificado em diversos trabalhos publicados.



**Figura 1.** Efeito de diferentes concentrações de BAP (mg.L<sup>-1</sup>) no número médio de brotações de *Schizolobium amazonicum* induzidas em meio MS, Embrapa Amazônia Oriental, Belém, PA, 2002.

**Figure 1.** Different BAP concentrations (mg.L<sup>-1</sup>) effect on average number of *Schizolobium amazonicum* shoots in MS medium, Embrapa Oriental, Amazon. Belém, -PA, 2002.

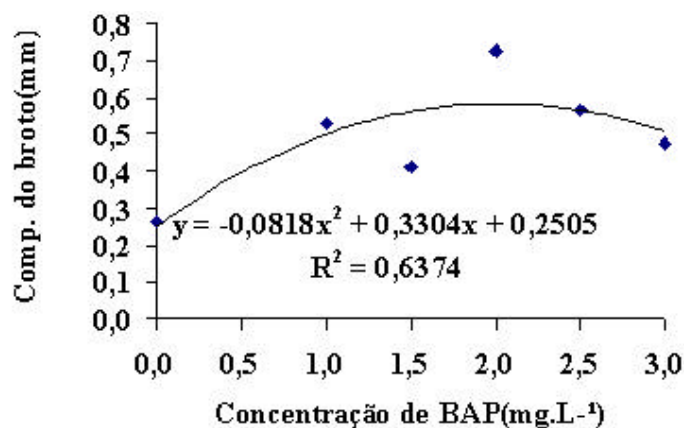
O efeito benéfico do BAP na multiplicação de brotações relaciona-se com a influência deste regulador de crescimento na divisão celular e na liberação das gemas auxiliares inibidas pela dominância apical. Os dados obtidos são concordantes com as afirmações de Barbosa et al. (1990) que identificaram ótimo estímulo ao desenvolvimento das gemas de macieira, em meio MS acrescido de BAP com as concentrações de 2,0 e 2,5 mg.L<sup>-1</sup>. Estes resultados coincidem também com os registrados por Pasqual e Barros (1992), em segmento caulinar de barbatimão (*Strynodendron adstringens* (Mart.)) e Correia & Graça (1995), com segmento caulinar de acácia negra (*Acácia mearsii* De Wild).

Altas concentrações de citocinina têm sido usadas para a proliferação de brotos de algumas espécies com resultados satisfatórios, como é o caso do pau-santo (*Kielmeyera coriacea*, Martius) estudado por Arello & Pinto (1993) em seus experimentos com segmento nodal, no qual utilizaram uma concentração de 5,0 mg.L<sup>-1</sup> de BAP associado com 0,1 mg.L<sup>-1</sup> de ANA. Por outro lado, o uso de baixas concentrações de BAP ao meio também tem sido indicado para espécies lenhosas, como *Eucalyptus globulus* ssp. Globulus Labill e sucupira branca [*Pterodon pubescens* (Benth.) Benth.], espécies estudadas por Ponte (1999) e Coelho (1999), respectivamente, utilizando concentrações mais baixas do que as usadas neste trabalho.

A taxa de multiplicação obtida no presente trabalho, em que foram obtidos no máximo 2,14 brotos por explante, provavelmente está relacionada à característica da própria planta de possuir caule ereto e uma pequena copa. Resultado similar foi obtido por Andrade et al. (2000) na propagação de aroeira (*Myracrodruon urundeuva* Fr. All) em que apenas um broto por explante foi obtido.

A curva de regressão para o comprimento das brotações em relação às concentrações encontra-se na Figura 2. Nota-se que a curva forma uma parábola, chegando ao ponto máximo na concentração de 2 mg.L<sup>-1</sup>. Esta tendência de diminuição do comprimento da brotação pode estar ligada ao fato de que as

citocininas estimulam a maior produção de partes aéreas até uma determinada concentração, o que varia de acordo com a espécie e, a partir desta, ocorre efeito tóxico, que se caracteriza pela falta de alongamento das culturas (Gartapaglia & Machado, 1998). Os mesmos autores citam que os sintomas que mais caracterizam a toxidez da citocinina no meio são: excessivo estufamento e falta de alongamento das brotações, redução no tamanho das folhas, encurtamento nos entrenós, engrossamento excessivo dos caules e vitrificação generalizada das culturas. Estes resultados equivalem ao observado por Chee & Poll (1989), que observaram redução do crescimento das brotações em concentrações mais elevadas.



**Figura 2.** Efeito de diferentes concentrações de BAP (mg.L<sup>-1</sup>) no comprimento de brotações de *Schizolobium amazonicum* induzidas em meio MS, Embrapa Amazônia Oriental, Belém, PA, 2002.

*Figure 2.* Different BAP concentrations (mg.L<sup>-1</sup>) effect on the length of *Schizolobium amazonicum* shoots in MS medium, Embrapa Oriental, Amazon. Belém, PA, 2002.

Apesar de não ter sido feita análise para as variáveis oxidação e calogênese, foi observado que os explantes, mesmo nas concentrações mais baixas, apresentaram essas formações. Há evidências de que espécies lenhosas liberam maior quantidade de compostos fenólicos ao meio, favorecendo a

oxidação. Além do que, a intensidade de oxidação depende do tipo e da idade fisiológica do explante, do meio de cultura, da presença dos reguladores de crescimento, dentre outros fatores.

No que concerne à formação de calos, ela ocorreu com menor frequência no meio

sem regulador de crescimento, entretanto, foi observado que, à medida que se aumentou a concentração do regulador, ocorreu uma maior incidência de calos. Isto se deve, provavelmente, ao desbalanceamento nos níveis de fitormônios contidos nos explantes. Segundo Santos (1998), elevadas concentrações de citocinina parecem reagir com a quantidade de auxina endógena do explante, o que leva à formação de calos provocando certa inibição no surgimento dos brotos.

Após três semanas de cultivo, o fraco padrão de desenvolvimento dos brotos pode ter sido ocasionado pela elevada concentração de sais meio do MS e presença de BAP. A transferência dos brotos para o meio MS com a metade da concentração dos sais e na ausência de regulador de crescimento induziu um maior crescimento dos mesmos, demonstrando que, para o paricá, a concentração dos sais deve ser reduzida à metade e que a presença da citocinina em subcultivos deve ser evitada, pois o regulador em excesso acaba por inibir o alongamento dos brotos. McCown e Sellmer citados, por Coelho (1999), explicam que baixa concentração de sais no meio de cultura jamais é prejudicial para o desenvolvimento de explantes.

#### 4 CONCLUSÕES

O regulador de crescimento BAP na concentração de 3 mg.L<sup>-1</sup> proporciona maior proliferação de brotos, com 2,14 brotos por explante.

O comprimento das brotações em função das concentrações de BAP não segue uma tendência linear, tendo uma faixa ótima entre 2,0 e 2,5 mg.L<sup>-1</sup>.

O maior comprimento dos brotos de paricá ocorre na presença do meio MS com a metade das concentrações dos sais e ausência de regulador de crescimento.

#### 5 AGRADECIMENTOS

Agradecemos à Tramontina Belém S/A, pelo apoio financeiro ao desenvolvimento do presente trabalho

#### 6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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

ARELLO, E. F.; PINTO, J. E. P. Propagação in vitro de *Kielmeyera coriacea* I. 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, jan. 1993.

BARBOSA, W.; CAMPO-DALL'ORTO, F. A.; OJIMA, M.; IGUE, T. Concentrações de 6-benzilaminopurina (BAP) na taxa de proliferação in vitro da macieira "gala". **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 25, n. 5, p. 747-751, maio 1990

CHEE, R.; POLL, R. M. Morphogenic responses to propaguls trimming spectral irradiance, and photoperiod of grapevine shoots recultured in vitro. **Journal of American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 114, n. 2, p. 350-354, 1989.

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, MG.

CORREIA, D.; GRAÇA, M. E. C. In vitro propagation of black wattle (*Acácia mearsii* De Wild). **IPEF**, Piracicaba, n. 48/49, p. 117-125, 1995.

- GASPAR, T.; KEVERS, C.; PENEL, C.; GREPIN, H.; REID, D. M.; THORPE, T. A. Plant hormones and plant growth regulators in plant tissue culture. **In Vitro Cell Development Biology** – Plant, Columbia, v. 32, p. 272-289, Oct./Dec. 1996.
- GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: EMBRAPA/CBAB, 1998. p. 183-260.
- HU, C. Y.; WANG, P. J. Meristem, shoot tip and bud culture. In: EVANS et al. **Handbook of plant cell cultures**. New York: Macmillan, 1983. v. 1, p. 177-227.
- IZQUIERDO, J. A.; LOPEZ F. Y. Análisis e interpretación estadística de la experimentación *in vitro* In: Roca, W. M.; Mroginski, L. A. **Cultivo de tejidos en la agricultura: fundamentos e aplicaciones**. Cali: CIAT, 1991. p. 375-399.
- LAMEIRA, O. A.; GOMES, A. P. do R.; LOPES, S. da C. **Efeito da sacarose e luminosidade sobre a germinação *in vitro* de embriões de cedro**. Manaus: Embrapa Amazônia Oriental, 2000. p.1-3. (EMBRAPA. Comunicado Técnico, n. 20).
- LOPES, S. da C. **Micropropagação de Mogno (*Swietenia macrophylla* King)**. 2000. 53 p. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) – Universidade Federal de Rio Grande do Sul, Pelotas, PE.
- MELO, J. T. de; SILVA, J. A. da; TORRES, R. A. de A.; SILVEIRA, C. E. dos S. da; CALDAS, L. S. espécies do cerrado. In: SANO, S. M.; ALMEIDA, S. P. de. (Ed.). **Cerrado: ambiente e flora**. Coleta, propagação e desenvolvimento inicial de Planaltina: EMBRAPA-CPAC, 1998. Cap. 5, p. 195-231.
- 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.
- PASQUAL, M.; BARROS, I de. Efeitos do ácido naftaleno acético e 6-benzilaminopurina sobre a proliferação de brotos *in vitro* em barbatimão (*Struphnodendron adstringens* (Mart.) coville). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. Brasília, v. 27, n. 7, p. 1017-1019, jul. 1992.
- PONTE, E. M. D. **Micropropagação de *Eucalyptus globulus* ssp. *Globulus Labill.*** 1999. 47 p. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Pelotas.
- PINTO, J. E. B. P.; ARELLO, E. F.; PINTO, C. A. B.; 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.
- SANTOS, M. R. A. dos. **Germinação, calogênese e caracterização de saponinas em *Smilax japecanga* Grisebach**. 1998. 81 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.