

**Efeito de Reguladores de Crescimento
na Micropropagação de Paricá por Meio
de Segmento Nodal**





*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Centro de Pesquisa Agroflorestal da Amazônia Oriental
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*

ISSN 1676-5265

Dezembro, 2005

Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 52

Efeito de Reguladores de Crescimento na Micropropagação de Paricá por meio de Segmento Nodal

Osmar Alves Lameira
Iracema Maria Castro Coimbra Cordeiro

Belém, PA
2005

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Amazônia Oriental

Trav. Dr. Enéas Pinheiro, s/n
Caixa Postal, 48 CEP: 66095-100 - Belém, PA
Fone: (91) 3204-1000
Fax: (91) 3276-9845
E-mail: sac@cpatu.embrapa.br

Comitê Local de Editoração:

Presidente – Gladys Ferreira de Souza
Secretário-Executivo: Francisco José Câmara Figueirêdo
Membros: Izabel Cristina D. Brandão
José Furlan Júnior
Lucilda Maria Sousa de Matos
Moacyr Bernardino Dias Filho
Vladimir Bonfim Souza
Walkymário de Paulo Lemos

Revisores Técnicos

Alexandre Moraes do Amaral - Cenargen
João Batista Teixeira - Cenargen
Maria das Graças Ferreira - Embrapa Rondônia

Supervisor editorial: Regina Alves Rodrigues
Supervisão Gráfica: Guilherme Leopoldo da Costa Fernandes
Revisor de texto: Marlúcia Oliveira da Cruz
Normalização bibliográfica: Célia Maria Lopes Pereira
Editoração eletrônica: Francisco José Farias Pereira

1ª edição

1ª impressão (2005): 300 tiragem

Todos os direitos reservados.

A reprodução não-autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei no 9.610).

Lameira, Osmar Alves

Efeito de reguladores de crescimento na micropropagação de paricá por meio de segmento nodal / por Osmar Alves Lameira e Iracema Maria Castro Coimbra Cordeiro. - Belém: Embrapa Amazônia Oriental, 2005.

15 p.; 21 cm. - (Embrapa Amazônia Oriental. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 52).

ISSN 1676 -5265

1. Cultura de Tecido. 2. Paricá. 3. Propagação *in vitro*. 4. Segmento Nodal. 5. Regulador de crescimento. 6. Micropropagação. I. Cordeiro, Iracema Castro Coimbra. II. Título. III. Série.

CDD - 635.05

© Embrapa 2005

Sumário

Resumo	5
Abstract	7
Introdução	9
Material e Métodos	10
Resultados e Discussão	10
Conclusão	14
Referências Bibliográficas	14

Efeito de Reguladores de Crescimento na Micropropagação de Paricá por meio de Segmento Nodal

*Osmar Alves Lameira*¹

*Iracema Maria Castro Coimbra Cordeiro*²

Resumo

O trabalho teve como objetivo testar concentrações de reguladores de crescimento na indução de brotações de paricá (*Schizolobium amazonicum* Huber ex Ducke) utilizando explantes provenientes de plântulas obtidas de germinação *in vitro*, com a finalidade de micropropagar a espécie. Explantes foram excisados e inoculados em meio MS, com a concentração de nitrato de amônio reduzido à $\frac{1}{4}$, suplementado com 0; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5 e 3,0 mg.L⁻¹ de BAP e KIN. Foram adicionados ao meio de cultura 3% de sacarose e 0,1% de ácido ascórbico. A cultura foi mantida em sala de crescimento, sob condições de 26°C \pm 1°C, fotoperíodo de 16 horas de luz branca fria e intensidade luminosa de 25 mmol.m⁻².s⁻¹ de irradiância. Os resultados demonstraram que o BAP foi mais eficiente que a KIN em média, no número e comprimento de brotos por explante *in vitro* de paricá, respectivamente, nas concentrações de 3 e 2 mg.L⁻¹.

Palavras-chave: Cultura de tecidos, *Schizolobium amazonicum*, propagação *in vitro*.

¹Eng. Agr. Doutor, Pesquisador da Embrapa Amazônia Oriental,

²Eng. Ftal, Doutoranda da Universidade Federal Rural da Amazônia

Effect of Growth Regulators in Micropropagation of Parica by Nodal Segments

Abstract

The objective of this paper was to test concentrations of growth regulators in the induction of shoots of parica (*Schizolobium amazonicum* former Huber Ducke) using explants of plantlets obtained by germination *in vitro*, with the micropropagation purpose the species. Explants were excised and inoculated on MS medium, with the concentration of nitrate of ammonium reduced to $\frac{1}{4}$, supplemented with 0; 1.0; 1.5; 2.0; 2.5 and 3.0 mg.L⁻¹ of BAP and KIN. It was added to the culture medium 3% of sucrose and 0,1% of ascorbic acid. The culture was maintained in growth room, under conditions 26°C + 1°C, photoperiod of 16 hours of light white cold and a luminous intensity of 25 mmol.m⁻².s⁻¹ of irradiance. The results demonstrated that BAP was more efficient than KIN on average, in the number and length of shoots for explant *in vitro* of parica, respectively, in the concentrations of 3 and 2 mg.L⁻¹.

Key - words: Tissue culture, *Schizolobium amazonicum*, *in vitro* propagation.

Introdução

A espécie *Schizolobium amazonicum* (Huber) Ducke é conhecida vulgarmente como Paricá, Pinho Cuiabano, Faveira, entre outros. Pertence à classe Dicotiledonea, família Leguminosae tribo Caesalpinieae (Vidal e Vidal, 2000). É uma árvore de floresta primária e secundária que ocorre naturalmente na Amazônia Brasileira e no Peru em mata primária e secundária tanto em solos de terra firme como em várzea alta (Pereira *et al.*, 1982). Pelo rápido crescimento, diversidade de uso e por se apresentar relativamente imune ao ataque de pragas e doenças, está sendo bastante utilizada em diferentes sistemas de plantios, como homogêneos, consorciados, enriquecimento de capoeiras e recuperação de áreas degradadas.

Em plantios de reflorestamento apresenta idade de rotação prevista para 14 anos, entretanto, a seleção de material genético de qualidade pode reduzir este tempo de rotação para oito anos ou menos. Em vista do exposto, a utilização de técnicas biotecnológicas apresenta-se como uma alternativa para multiplicação deste material de qualidade, livre de patógenos e vírus. Dentre essas técnicas, a micropropagação é a que apresenta aplicação mais difundida e concreta, visto que já está sendo utilizada em nível comercial em diversos países, inclusive no Brasil (Grattapaglia e Machado, 1998).

Na literatura, a maioria dos protocolos desenvolvidos em cultura de tecidos de espécies florestais envolve espécies de *Pinus* e *Eucalyptus*, entretanto, instituições de pesquisa e empresas comerciais vêm desenvolvendo estudos com espécies tropicais para obtenção em massa de plantas com características de interesse. O cultivo *in vitro* da espécie possibilita a produção de plantas uniformes que venham suprir a demanda futura e ao mesmo tempo dar suporte a projetos de biotecnologia.

No contexto, o presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito de reguladores de crescimento na indução de brotações a partir de segmentos nodais de plântulas assépticas de *S. amazonicum* germinadas *in vitro*, com a finalidade de micropropagar a espécie.

Material e Métodos

As atividades foram realizadas no Laboratório de Recursos Genéticos e Biotecnologia da Embrapa Amazônia Oriental, Belém-Pará, utilizando-se explantes de plântulas assépticas cultivadas *in vitro*. O meio de cultura básico utilizado foi MS (Murashige e Skoog, 1962) com a concentração de nitrato de amônia reduzido à metade, suplementado com 0; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5 e 3,0 mg.L⁻¹ de 6-benzilaminopurina (BAP) e Cinetina (KIN), solidificado com 0,6% de ágar, acrescido de 30 g.L⁻¹ de sacarose e 0,1% de ácido cítrico. O pH do meio foi ajustado para 5,8 antes da autoclavagem por 15 minutos, à temperatura de 121 °C. Em câmara de fluxo laminar, previamente esterelizada com álcool a 70%, segmentos nodais medindo 10mm de comprimento foram inoculados em tubos de ensaio (20 x 150 mm) contendo 15 ml de meio de cultura. A cultura foi mantida em sala de crescimento, sob condições de 26°C \pm 1°C, fotoperíodo de 16 horas de luz branca fria e intensidade luminosa de 25 mmol.m⁻².s⁻¹ de irradiância.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado com doze tratamentos, envolvendo as doses dos reguladores de crescimento e quatro repetições sendo cada unidade experimental constituída de cinco tubos de ensaio com um explante em cada. A coleta dos dados foi efetuada no décimo quinto dia após o cultivo inicial, com a contagem de número e comprimento de brotações. A análise estatística foi feita através das análises de variação e de regressão. Para variável número de brotos os dados foram transformados para $\sqrt{0,5 + x}$ e os dados comprimento dos brotos não sofreram transformação.

Resultados e Discussão

Nas Tabelas 1 e 2, os resumos das análises de variância feita para as variáveis, número médio e comprimento de brotações em função das concentrações de BAP e KIN, respectivamente, demonstraram que ocorreu diferença significativa ao nível de 5% de probabilidade para as duas variáveis analisadas com os seus respectivos reguladores de crescimento.

Tabela 1. Resumo da análise da variância para o número e comprimento de brotações de paricá em função das concentrações de BAP. Embrapa Amazônia Oriental. Belém – PA. 2005.

Causas da Variação (mg)	G.L		Quadrados Médios		F	
	Nº de brotos	Comp. de brotos	Nº de brotos ¹	Comp. de brotos	Nº de brotos	Comp. de brotos
Conc. BAP	5	5	1,01929015	0,63135914	10,57**	4,15*
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.

¹Dados transformados em $\sqrt{0,5 x}$.

Tabela 2 – Resumo da análise de variância para o número e comprimento de brotações de paricá em função das concentrações de KIN. Embrapa Amazônia Oriental, Belém – PA. 2005.

Causas da Variação (mg)	G.L		Quadrados Médios		F	
	Nº de brotos ¹	Comp. de brotos	Nº de brotos ¹	Comp. de brotos	Nº de brotos	Comp. de brotos
Conc. KIN	5	5	0,23677734	0,63135914	1,85*	4,52**
Resíduo	114	99	0,12777902	0,15219505		
CV(%)			31,63	51,93		
Média			1,13	0,62		

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

¹Dados transformados em $\sqrt{0,5 x}$.

Os tratamentos que resultaram em maior número médio de brotações foram os que continham concentrações de 3 mg.L⁻¹ de BAP e 2 mg.L⁻¹ de KIN obtendo-se em média 2,14 e 1,11 brotos por explante, respectivamente (Figura 1 e Figuras 2A e 2B). A baixa taxa de multiplicação obtida no presente trabalho, provavelmente está

relacionada à característica genética da própria planta. Estes resultados coincidem com os registrados, respectivamente por Pasqual e Barros (1992) e Correia e Graça (1995) com segmento caulinar de barbatimão [*Strynodendron adstringens* (Mart.)] e acácia negra (*Acacia mearnsii* de Wild). Resultados similares foram encontrados por Andrade *et al.* (2000) na propagação de aroeira (*Myracrodruon urundeuva* Fr. All), quando conseguiram apenas um broto por explante.

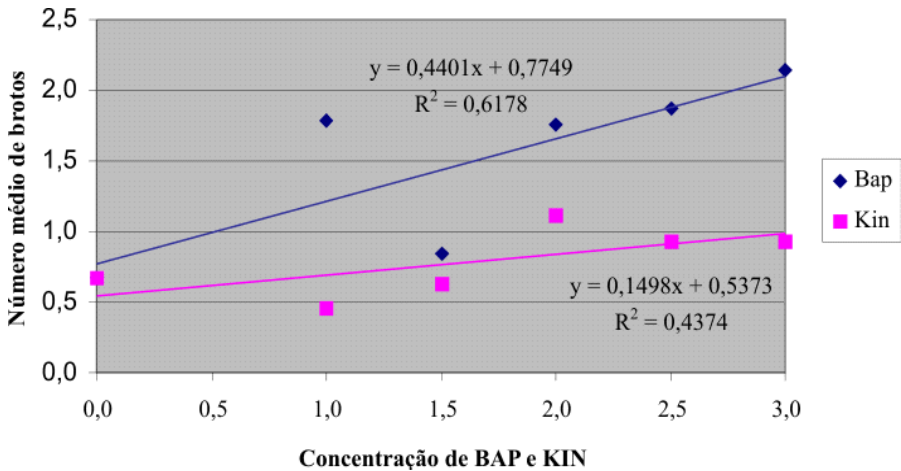
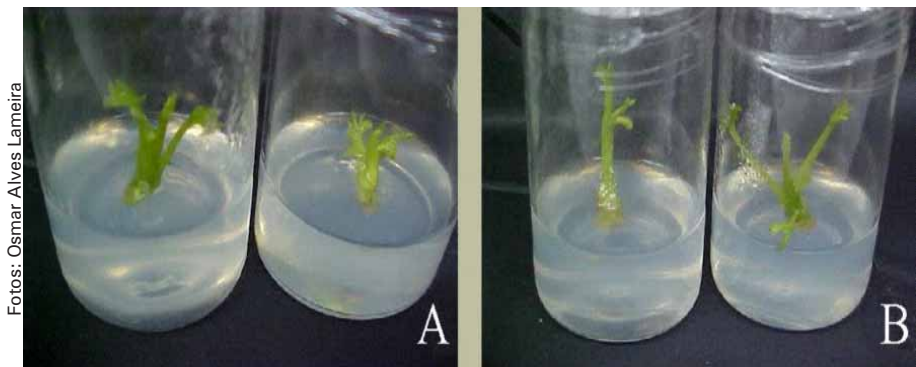


Figura 1- Efeito de diferentes concentrações (mg.L⁻¹) de BAP e KIN no número médio de brotos de paricá.



Fotos: Osmar Alves Lameira

Figura 2. Brotações de paricá a partir de segmentos nodais em meio MS suplementado com 3 mg.L⁻¹ BAP (A) e 2 mg.L⁻¹ KIN (B).

Embora na Figura 1 o número médio de brotos obtidos por explante tenha apresentado uma tendência de aumento linear à medida que há o aumento da concentração de BAP e KIN, através da equação de regressão pode ser observado que na presença de BAP os tratamentos contendo as concentrações 1,0 e 1,5mg.L⁻¹ não seguiram essa tendência. Para esta diferença de comportamento deve-se considerar que os explantes utilizados no trabalho foram provenientes de sementes de genótipos variados, podendo ocorrer alta variabilidade do material. Deve-se ressaltar que a capacidade de regeneração e crescimento *in vitro* pode estar associada não apenas ao genótipo, mas também à atividade fisiológica na planta matriz, sob o controle de diversos fatores endógenos e ambientais (Izquierdo e Lopez, 1991).

A curva de regressão obtida para o comprimento dos brotos em relação às concentrações de BAP e KIN é apresentada na Figura 3. Para o BAP, foi observado que a curva formou uma parábola chegando ao ponto máximo na concentração de 2 mg.L⁻¹. A curva de regressão formada na presença de KIN mostrou comportamento ascendente até o ponto máximo atingido com a concentração de 2,0 mg.L⁻¹. Pode-se observar ainda que o menor tamanho das brotações ocorreu no tratamento com 1,0 mg.L⁻¹ de KIN. Esses resultados demonstram que as citocininas estimulam a maior produção de partes aéreas até determinada concentração, variando de acordo com a espécie, e a partir desta, ocorre um efeito inibidor, caracterizado pela falta de alongamento das brotações (Grattapaglia e Machado, 1998). Usando concentrações semelhantes de KIN no meio WPM, Oltramari *et al.* (2002) obtiveram melhor média de comprimento das brotações com a espécie *Acca sellowiana* (Berg).

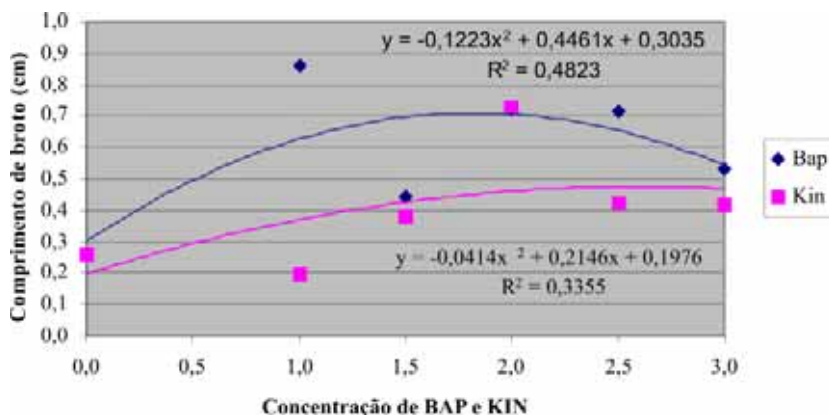


Figura 3. Efeito de diferentes concentrações (mg.L⁻¹) de BAP e KIN no comprimento de brotos de paricá.

Os brotos obtidos foram individualizadas e inoculados em meio MS com a metade das concentrações de sais e na ausência de regulador de crescimento para manutenção da cultura. Posteriormente, aos 45 dias de cultivo, as brotações que apresentavam boa formação da parte aérea foram transferidas para o meio de enraizamento.

Conclusão

O BAP é mais eficiente que a KIN em média, no número e comprimento de brotos por explante *in vitro* de paricá, respectivamente, nas concentrações de 3 e 2 mg.L⁻¹.

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 Agrotécnica**, v.24, n.1, p.174-180, jan./mar. 2000.

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

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A. C.; CALDAS. L. S.; BUSO, J. A. (Ed.). **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília, DF: Embrapa –SPI: Embrapa-CNPQ, 1998. p.183-260.

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.

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

OLTRAMARI, A. C.; VESCO, L. D.; PEDROTTI E. L.; GUERRA, M. P.; DUCROQUET, J. P. H. J.Desenvolvimento de um protocolo de micropropagação da goiabeira serrana. In: ENCONTRO SUL BRASILEIRO DE BIOTECNOLOGIA. 3., 1997, Florianópolis. **Anais ... Florianópolis: UFSC**, 1997. p. 8.

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**, v.27, n.7, p.1017-1019, jul. 1992.

PEREIRA, A. P.; MELO, C. F. M. de.; ALVES, S. M., O paricá (*Schizolobium amazonicum* HUBER), características gerais da espécie e suas potencialidades de aproveitamento na indústria de papel e celulose. **Revista Instituto Florestal**, v.16, n.2, p. 1340-1344, 1982.

VIDAL, W. N.; VIDAL, M. R. R. **Taxonomia vegetal**. Viçosa: UFV, 2000. 89p. (UFV. Cadernos Didáticos, 57).

Embrapa

Amazônia Oriental

CGPE 5985

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA,
PECUÁRIA E ABASTECIMENTO

