

EFEITO DA CONCENTRAÇÃO DE CINETINA PARA OBTENÇÃO DE BROTAÇÕES EM SEGMENTOS NODAIS DE PARICÁ(*Schizolobium amazonicum* Huber Ex Ducke)¹

Iracema Maria Castro Coimbra Cordeiro², Osmar Alves Lameira³, Sebastião da Cunha Lopes⁴, Lana Roberta Sousa Reis⁵, Iulla Naiff Rabelo de Souza Reis⁵

Palavras-chave: Micropropagação, Cinetina, Regulador de Crescimento, Cultura de Tecidos

INTRODUÇÃO

A cultura de tecidos além de ser utilizada para a propagação massal de plantas, apresenta-se como uma ferramenta biotecnológica no auxílio do melhoramento florestal via engenharia genética. O sucesso deste programa depende das técnicas de cultura de células, tecidos ou órgãos (Ferreira *et al.*, 1998), todavia é necessário estabelecer um protocolo para o estabelecimento da cultura.

Grande parte do sucesso da micropropagação depende dos meios nutritivos utilizados na cultura. Estes meios baseiam-se nas exigências das plantas quanto aos nutrientes minerais, com algumas modificações que fornecem as substâncias essenciais, e controlam em grande parte o padrão de desenvolvimento *in vitro*.

As citocininas, são reguladores que participam de um grande número de processos fisiológicos que promovem a maturação dos cloroplastos, retardam a senescência das folhas e anulam a dominância apical, porém, deve-se fornecer concentrações variáveis dependendo da necessidade da espécie que se deseja multiplicar (Garrtapaglia e Machado, 1998). Dentre estas a cinetina (KIN) tem sido eficiente na promoção de proliferação de partes aéreas quando utilizada isoladamente ou em interação com uma auxina.

Este trabalho objetivou avaliar o efeito de diferentes concentrações de cinetina na indução de brotações de paricá a partir de explantes obtidos de plântulas assépticas germinadas *in vitro*, com a finalidade de micropropagar a espécie.

¹Parte da Dissertação de Mestrado do primeiro autor, financiada com recursos da Tramontina Belém S.A./Embrapa Amazônia Oriental.

²Engenheira Florestal, MsC. cordeiro@canal13.com.br

³Engenheiro Agrônomo, Dr. Pesquisador da Embrapa Amazônia Oriental, Caixa Postal 48 – CEP 66017- 970- Belém (PA). osmar@cpatu.embrapa.br

⁴Engenheiro Agrônomo, MSc, Bolsista do CNPq

⁵Graduanda Agronomia, Universidade Federal Rural da Amazônia

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Recursos Genéticos e Biotecnologia da Embrapa Amazônia Oriental. Foram utilizados como fonte de explante segmentos nodais de plântulas produzidas *in vitro*.

Os explantes foram cultivados em meio de cultura MS (Murashige e Skoog, 1962) com a concentração de nitrato de amônia reduzido a $\frac{1}{4}$, solidificado com ágar a 6 mg/l e suplementado com 0; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5 e 3,0 mg/L de KIN (cinetina), acrescido de 30g/L sacarose e 0,1% de ácido cítrico. O pH dos meios de cultura foram ajustados para 5,8. Tubos de ensaio de 20 x 150 mm contendo 15ml de meio de cultura foram autoclavados à 121°C por 15 minutos. Em seguida, os explantes medindo 10mm de comprimento foram inoculados em câmara de fluxo laminar, em condições assépticas. A cultura foi mantida em sala de crescimento, sob condições 26°C \pm 2°C, fotoperíodo de 16 h de luz e irradiância de 25 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado com seis tratamentos e quatro repetições sendo cada unidade experimental constituída de cinco tubos com um explante em cada.

A coleta dos dados foi efetuada no décimo quinto dia do cultivo com a contagem de número e comprimento de brotações. A análise estatística foi feita através da análise de variação e teste 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

A análise de variância do número e comprimento de brotações, encontra-se na Tabela 1. Os resultados mostram haver diferenças significativas ao nível de 5% de probabilidade, para as duas variáveis em relação às concentrações de cinetina utilizadas no experimento.

Embora tenha ocorrido diferença significativa no número de brotos formados, o tratamento mais eficiente (2 mg.L⁻¹) apresentou apenas uma média de 1,18 broto por explante.

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

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. 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 $\sqrt{0,5+x}$

A linha de regressão mostrou tendência linear crescente com o aumento da concentração de KIN no meio de cultura, indicando que provavelmente em concentrações maiores poderia apresentar melhores resultados. Porém, verifica-se alta amplitude de variação no número de brotos por explante. Este fato muito provavelmente está relacionado a fatores genéticos, uma vez que cada explante apresenta características únicas e as necessidades para cultivo *in vitro* também tendem a ser únicas (Figura 1). Deve-se ressaltar que a capacidade de regeneração e crescimento *in vitro* parece estar associada não apenas ao genótipo mas também a atividade fisiológica na planta matriz, sob o controle de diversos fatores endógenos e ambientais (Izquierdo e Lopez, 1991).

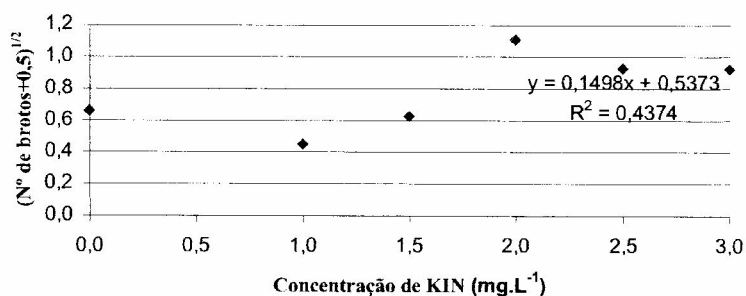


Figura 1 - Efeito de diferentes concentrações (mg.L⁻¹) de KIN no número médio de brotações de paricá induzidos em meio MS. Embrapa Amazônia Oriental, Belém – PA. 2002.

Barve e Mehta (1993) trabalhando com este mesmo regulador em *Commiphora wightii* (mirra) relataram que em concentrações acima (18 μM) altos índices de brotações foram obtidos. Lameira (1997) em seu estudo com *Cordia verbenácea* L. (erva-baleeira), arbusto perene, verificou que a KIN a 5 μmol associado com 0,01 μmol de ANA foi mais favorável a multiplicação *in vitro* quanto ao número de brotações.

De acordo com Pierik (1990) altas concentrações de citocininas (1 a 10 mg L^{-1}) no meio de cultura podem induzir a formação de brotos adventícios, porém normalmente o enraizamento é inibido.

A curva de regressão para comprimento das brotações em relação às concentrações testadas, encontra-se na Figura 2. Nota-se que a curva indica um 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 ocorre no tratamento com 1,0 mg.L^{-1} deste regulador de crescimento. Usando 5 μM de KIN no meio WPM, Oltramari *et al* (2002) obtiveram melhor média de comprimento das brotações com a espécie *Acca sellowiana* (Berg) (goiabeira serrana).

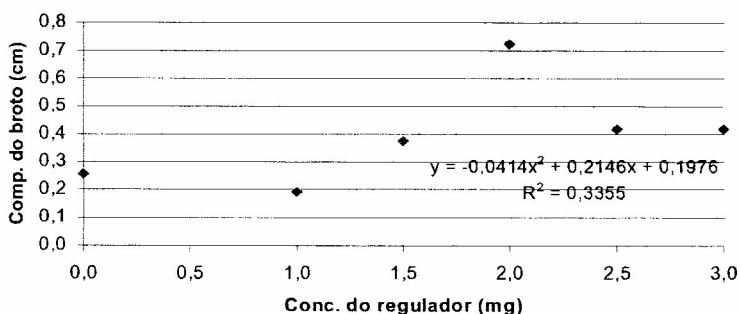


Figura 2 - Efeito de diferentes concentrações (mg.L^{-1}) de KIN no comprimento de brotos de paricá induzidos em meio MS modificado. Embrapa Amazônia Oriental, Belém – PA. 2002.

O aparecimento das brotações ocorreu após 6 dias do início do cultivo. Com vinte dias de cultivo, 86 % dos explantes apresentavam brotações. Durante o período de três semanas de cultivo foi observada a presença de calos friáveis, de lenticelas e o início de oxidação nos explantes (Figura 3A e 3B), sendo necessário à transferência dos brotos para novo meio de cultura.

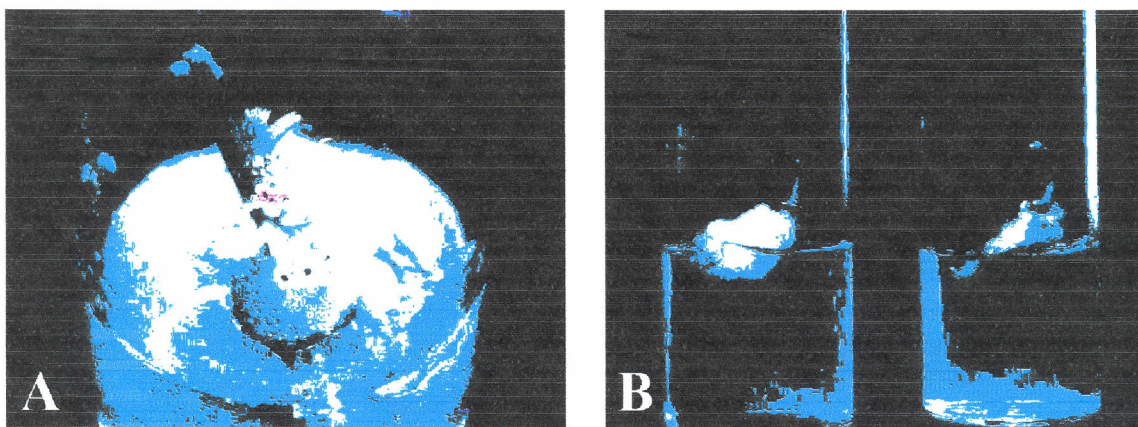


Figura 3 - Brotações de paricá a partir de segmentos nodais em meio MS modificado suplementado com KIN. **A** – brotação com presença de calo e lenticelas; **B** – brotação com a presença de calos e início de oxidação na base do explante. Embrapa Amazônia Oriental, Belém – PA. 2002.

CONCLUSÕES

- A concentração de 2 mg.L^{-1} do regulador de crescimento de KIN é a mais eficiente na multiplicação de brotos de paricá.
- O comprimento médio de brotos de paricá apresenta comportamento ascendente atingindo seu ponto máximo com a concentração de 2 mg.L^{-1} de KIN.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BARVE, D.M. e MEHTA, A.R. Clonal propagation of nature elite tree of *Commiphora wightii*. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Dordrecht, v. 35, p.237-244. 1993.
- FERREIRA, M. E., CALDAS, L. S., PEREIRA, E. A. Aplicações da cultura de tecidos no melhoramento de plantas. In: TORRES, A.C., CALDAS, L.N., BUSO, J. A (Eds.). **Cultura de Tecidos e transformação Genética de Plantas**, Brasília: Embrapa-SPI/Embrapa-CNPH, 1998. p.21-43.
- GRATTAPAGLIA, D., MACHADO, M. A. Micropropagação, In : TORRES, A. C., CALDAS, BUSO. J. A. (Eds). **Cultura de Tecidos e Transformação Genética de Plantas**, Brasília: EMBRAPA-SPI/Embrapa_CNPH, 1998. p183-260.
- 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. p. 375-399, 1991.

LAMEIRA, O. A. **Propagação in vitro e in vivo, dinâmica de crescimento de células, nutrição e identificação de flavonóides em erva-baleeira** (*Cordia verbenácea* L.). Lavras:UFLA, 1997. 88p. (Tese de Doutorado em Fitotecnia).

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., DAL VESCO, L.L., PEDROTTI E.L., DUCROQUET, J.P.H.J., NODARI, R.O., GUERRA, M.P., Protocolo de micropropagação da goiabeira serrana (*Acca sellowiana* (Berg) Burret). UFSC - Departamento de Fitotecnia/Centro de ciências agrárias(CCA).. Florianópolis-SC 2002.p..61-68. (Resumo internet)

PIERIK, R.L.M. **Cultivo in vitro de las plantas superiores**. Tradução por Luis Ayerbe Mateo-Sagasta. 3ª ed. Madrid: EDICIONES Mundi-Prensa, 1990. 326p. Cap. 12, Tradução de: In vitro culture of higer plants.