

Cultura *in vitro* de Embriões Zigóticos de Paricá a Partir de Diferentes Concentrações de Sacarose

Iulla Naiff Rabelo de Souza Reis¹, Osmar Alves Lameira², Iracema Maria Castro Coimbra Cordeiro³, Deivison Mendes Pinheiro⁴, Fernando da Costa Brito Lacerda⁵, Joseane de Nazaré Oliveira Cardoso⁶

Introdução

O paricá (*Schizolobium parahyba* var. *amazonicum* (Huber ex Ducke) Barneby), preferencialmente propagado por semente, é uma espécie rústica pouco exigente em adubação e de fácil adaptabilidade [1], razão pela qual vem sendo bastante utilizada em diferentes modalidades de plantio no estado do Pará. No entanto, há grande variação de crescimento e de produtividade nesses plantios devido, principalmente, a ausência de material genético melhorado. Nesse sentido, pesquisas vêm sendo desenvolvidas visando definir metodologia de micropropagação da espécie com vistas ao melhoramento dos plantios.

O embrião originado de um processo normal de fecundação pode ser facilmente separado e cultivado sob condições assépticas em meio de cultura adequado, mantendo-se geneticamente estável, produzindo descendentes idênticos a ele. Para a remoção do embrião, basta desinfestar apenas a superfície externa da semente, pelo fato de que o embrião está alojado em região estéril da semente. Assim, o índice de contaminação *in vitro* é muito baixo em relação às demais culturas. As plantas cultivadas *in vitro* requerem uma fonte de energia exógena, pois não dispõem de condições adequadas para a realização da fotossíntese [2], e a sacarose tem sido a fonte de carbono mais utilizada, estando presente em meios de cultura em concentrações que variam de 20 a 40 g.L⁻¹ [3]. O trabalho teve como objetivo testar diferentes concentrações de sacarose na germinação *in vitro* de embriões zigóticos de paricá.

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).

Foram testadas 4 concentrações de sacarose (0, 15, 30 e 45 g.L⁻¹) adicionadas ao meio de cultura básico MS [4], com as concentrações dos sais reduzidas a metade, ágar (0,6%) e pH 5,8. Os embriões maduros foram extraídos das sementes e imediatamente inoculados em frascos contendo 40 ml do meio de cultura e mantidos em sala de crescimento na temperatura de 24 ± 1°C, sob fotoperíodo de 16h luz branca fria e irradiância de 25 μmol.m⁻².s⁻¹. O delineamento experimental adotado foi inteiramente casualizado, com 4 tratamentos e 5 repetições, cada uma constituída de um frasco contendo 3 embriões.

A avaliação foi realizada aos 30 dias de cultivo, levando em consideração as variáveis: comprimento da haste caulinar, comprimento da raiz principal, número de raízes, peso da matéria fresca da haste caulinar e da raiz e percentual de explantes que apresentaram o 1º par de folhas. Os dados foram submetidos a análise de variância e quando efeito significativo, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade através do programa estatístico Sisvar. Antes da análise, os dados de número de raízes e percentual de explantes que apresentaram o 1º par de folhas foram transformados para $(X + 0,5)^{1/2}$ e $\arcsen(X/100)^{1/2}$, respectivamente.

Resultados e Discussão

As plântulas formadas a partir de embriões inoculados em meio MS com as concentrações dos sais reduzidas a metade adicionado de 45 g.L⁻¹ de sacarose apresentaram maior comprimento da haste caulinar, com 5,7 cm em média, entretanto, não houve diferença significativa em relação ao tratamento com sacarose na concentração de 30 g.L⁻¹ (4,7 cm).

Para embriões de *Astrocaryum ulei* oriundos de frutos maduros, a suplementação do meio com 30 e 45 g.L⁻¹ de sacarose proporcionou valores de altura de plântulas estatisticamente superiores à concentração de 15 g.L⁻¹ [5].

1. Mestre em Agronomia, Universidade Federal Rural da Amazônia. Av. Tancredo Neves, 2501, Montese, Belém-PA, CEP 66077-530. Bolsista CAPES. E-mail: naiff_agro@yahoo.com.br.

2. Orientador/Pesquisador, Dr. da Embrapa Amazônia Oriental. Trav. Dr. Enéas Pinheiro s/nº, Caixa Postal 48, Belém-PA, CEP 66095-100.

3. Doutoranda em Sistemas Agroflorestais. Universidade Federal Rural da Amazônia. Av. Tancredo Neves, 2501, Belém-PA, CEP 66077-530.

4. Graduando do 4º semestre de Agronomia, Universidade Federal Rural da Amazônia. Av. Tancredo Neves, 2501, Montese, Belém-PA, CEP 66077-530.

5. Graduando do 4º semestre de Engenharia Florestal, Universidade Federal Rural da Amazônia. Av. Tancredo Neves, 2501, Montese, Belém-PA, CEP 66077-530.

6. Graduando do 8º semestre de Agronomia, Universidade Federal Rural da Amazônia. Av. Tancredo Neves, 2501, Montese, Belém-PA, CEP 66077-530.

Apoio financeiro: CAPES

A necessidade de adição de sacarose no meio para cultura de embriões já foi relatada por vários autores, em distintas espécies de plantas [6, 7, 8], principalmente em cultura de embriões em estádios iniciais de desenvolvimento (pró-embriões). Por outro lado, Nogueira *et al.* [9] verificou que não há necessidade de sacarose para a germinação *in vitro* de embriões de murici-pequeno.

Conforme mostra a Tabela 1, não houve diferença estatística para o peso de matéria fresca da haste caulinar entre os tratamentos com 15, 30 e 45 g.L⁻¹ de sacarose, com valores superiores ao observado na ausência desta substância. O maior peso de matéria fresca da raiz foi constatado no tratamento com 45 g.L⁻¹ de sacarose, no entanto, não diferiu estatisticamente dos tratamentos contendo sacarose nas concentrações de 15 e 30 g.L⁻¹, e estes, por sua vez, também não apresentaram diferença significativa em relação ao tratamento sem adição de sacarose.

Os embriões inoculados na presença de 30 e 45 g.L⁻¹ de sacarose formaram plântulas com maior número de raízes, apresentando respectivamente, 12,47 e 12,73 raízes em média, não diferindo estatisticamente entre si. Já os embriões cultivados na ausência de sacarose formaram apenas radícula (Tabela 1).

No estudo realizado por Torres *et al.* [10] com desenvolvimento de embriões de *Heliconia rostrata* foi observado que, em meio suplementado com sacarose, nas concentrações de 10, 20 e 30 g.L⁻¹, não houve a presença de raiz principal e quando a concentração de sacarose foi aumentada para 60 g.L⁻¹, a porcentagem de plântulas formadas foi reduzida para 5,9%.

No presente trabalho, os embriões de paricá cultivados em meio MS com 45 g.L⁻¹ de sacarose formaram o maior número de plântulas apresentando o 1º par de folhas, com um percentual de 93,3%, que por sua vez, não diferiu dos tratamentos com 15 e 30 g.L⁻¹ de sacarose, ambos com um percentual de 53,3% de plântulas que apresentaram o 1º par de folhas aos 30 dias, sendo que estes não diferiram significativamente do tratamento em que não se adicionou sacarose ao meio de cultura, o qual não formou nenhuma folha (Figura 2).

Segundo Pereira [5], para embriões obtidos de frutos maduros, 15 g.L⁻¹ de sacarose no meio foi suficiente para se alcançar os melhores índices de germinação de *Astrocaryum ulei*. Ribeiro *et al.* [11], estudando concentrações de sacarose entre 0 e 60 g.L⁻¹ observaram elevado índice de sobrevivência de embriões de Laranja-pêra em todas as concentrações de sacarose utilizadas, evidenciando que esta substância não é necessária para o início do desenvolvimento dos embriões cultivados *in vitro* para esta espécie. Nos estudos de Ferreira *et al.* [3], obteve-se resultados

satisfatórios com a utilização de 30 g.L⁻¹ de sacarose no desenvolvimento de eixos embrionários de cupuaçu.

De acordo com Hu & Ferreira [8], embriões excisados no estágio maduro ou próximo a este são quase autotróficos e, geralmente, dependendo da espécie, não há necessidade de suplementação de fonte de energia, fato que não ocorreu com o paricá, já que mesmo sendo embrião maduro, não houve desenvolvimento satisfatório em meio na ausência de sacarose (Figura 3A).

De uma maneira geral, as plântulas obtidas a partir de embriões zigóticos de paricá cultivados na presença de 15 g.L⁻¹ de sacarose apresentaram as folhas pouco desenvolvidas, em relação às concentrações de 30 e 45 g.L⁻¹ (Figuras 3B, 3C e 3D).

Referências

- [1] MELO, C. F. M. de. 1973. Relatório ao Instituto Brasileiro de Desenvolvimento Florestal sobre a viabilidade do aproveitamento papelero do Paricá (*Schizolobium amazonicum*). Belém: EMBRAPA-CPATU. 6 p.
- [2] GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. 1990. Micropropagação. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S. Técnicas e aplicações da cultura de tecidos de plantas. Brasília, DF: ABCTP/EMBRAPA-CNPq. p.99-169.
- [3] FERREIRA, M. G. R.; CÁRDENAS, F. H. N.; CARVALHO, C. H. S. C.; CARNEIRO, A. A.; DANTAS FILHO, C. F. 2002. Resposta de eixos embrionários de cupuaçu (*Theobroma grandiflorum* Schum.) à concentração de sais, doses de sacarose e renovação do meio de cultivo. Revista Brasileira de Fruticultura, Jaboticabal, v. 24, n. 1, p. 246-248.
- [4] MURASHIGE, T.; SKOOG, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiologia Plantarum, Copenhagen, v. 15, p. 473-497.
- [5] PEREIRA, J.E.S.; MACIEL, T.M.S.; COSTA, F.H.da S.; PEREIRA, M.A.A. 2006. Germinação *in vitro* de embriões zigóticos de murmurú (*Astrocaryum ulei*). Ciência & Agrotecnologia, Lavras, v. 30, n. 2, p. 251-256.
- [6] RIETSEMA, J.; SANTINAS, S.; BLAKESLEE, A.F. 1953. The effect of sucrose on the growth of *Datura stramonium* embryos *in vitro*. American Journal of Botany, v.40, p.538-545.
- [7] RAGHAVAN, V.; TORREY, J.G. 1963. Growth and morphogenesis of globular and older embryos of *Capsella* in culture. American Journal of Botany, v.50, n.6, p.540-551.
- [8] HU, C.Y.; FERREIRA, A.G. 1998. Cultura de Embriões. In: TORRES, A.T.; CALDAS, L.S.; BUSO, J.A. (Eds). Cultura de tecidos e transformação genética de plantas. Brasília: Embrapa/SPI, p.371-393.
- [9] NOGUEIRA, R.C.; PAIVA, R.; CASTRO, A.H. de; VIEIRA, C.L.; ABBADE, L.C.; ALVARENGA, A.A. 2004. Germinação *in vitro* de murici-pequeno (*Byrsonima intermedia* A. Juss.). Ciência e Agrotecnologia. Lavras, v.28, n.5, p.1053-1059.
- [10] TORRES, A.C.; DUVAL, F.D.; RIBEIRO, D.G. BARROS, A.F.F.; ARAGÃO, F.A.D. 2005. Efeito da sacarose, cinetina, isopentenil adenina e zeatina no desenvolvimento de embriões de *Heliconia rostrata in vitro*. Horticultura Brasileira, v. 23, n. 3.
- [11] RIBEIRO, V. G.; PASQUAL, M.; RAMOS, J. D.; VICHATO, M.; SANÁBIO, D. 1998. Cultivo *in vitro* de embriões de Laranja Pêra : concentrações do meio MS e sacarose. Ciência e Agrotecnologia, Lavras, v. 22, n. 4, p. 429-434.

Tabela 1 – Médias do peso da matéria fresca (PMF) da haste caulinar (HC) e da raiz, e número médio de raízes de plântulas oriundas de embriões zigóticos de paricá. Embrapa Amazônia Oriental, Belém-PA, 2007.

Meio ½ MS	PMF (mg)		Número médio de raízes
	HC	Raiz	
Sacarose (g.L ⁻¹)			
0	136,00 b	16,00 b	0,00 c
15	257,34 a	83,34 ab	6,73 b
30	251,34 a	73,34 ab	12,47 a
45	297,30 a	122,00 a	12,73 a

Médias seguidas por letras distintas entre si comparam os tratamentos, ao nível de 5% de probabilidade pelo Teste de Tukey. ½ MS: meio de cultura Murashige & Skoog com as concentrações reduzidas a metade.

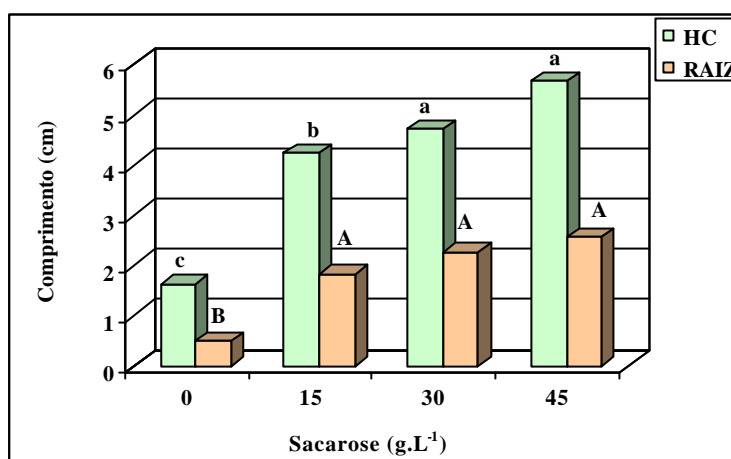


Figura 1 – Comprimento da haste caulinar (HC) e da raiz de plântulas oriundas de embriões zigóticos de paricá cultivados em meio MS com as concentrações dos sais reduzidas a metade, adicionado de diferentes concentrações de sacarose. Embrapa Amazônia Oriental, Belém-PA, 2007. Letras distintas entre si comparam: minúsculas, o comprimento da HC e maiúsculas, o comprimento da raiz, ao nível de 5% de probabilidade pelo Teste de Tukey.

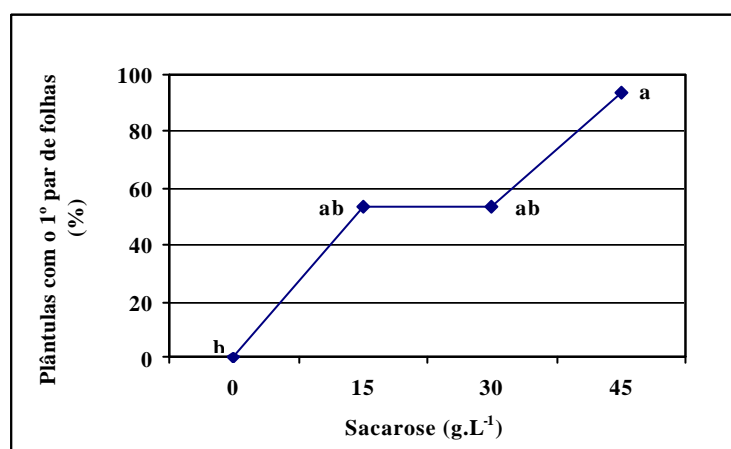


Figura 2 – Percentual de plântulas oriundas de embriões zigóticos de paricá que apresentaram o 1º par de folhas aos 30 dias de cultivo. Embrapa Amazônia Oriental, Belém-PA, 2007. Letras distintas entre si comparam o peso da matéria fresca da haste caulinar e da raiz, ao nível de 5% de probabilidade pelo Teste de Tukey.

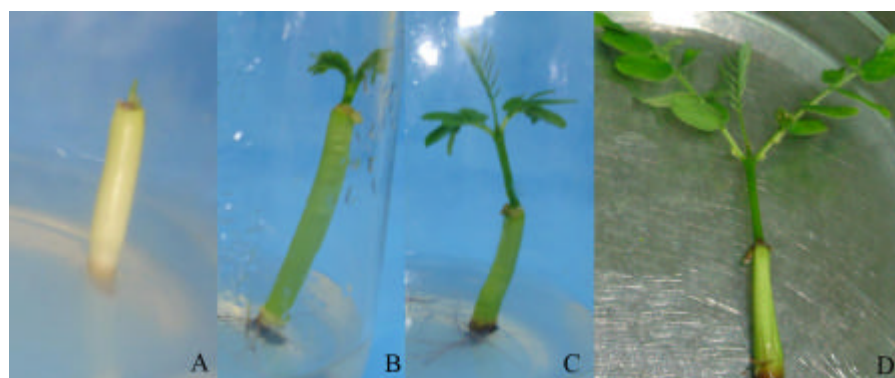


Figura 3 – Plântulas obtidas a partir de embriões zigóticos de paricá aos 30 dias de cultivo em meio ½ MS com diferentes concentrações de sacarose: 0 (A); 15 g.L⁻¹ (B); 30 g.L⁻¹ (C); e 45 g.L⁻¹ (D). Embrapa Amazônia Oriental, Belém-PA, 2007.