

GERMINAÇÃO IN VITRO DE PARICÁ

Schizolobium amazonicum Huber

Foto cedida pelos autores

Obtenção de plântulas assépticas para iniciar a micropropagação

INTRODUÇÃO

O *Schizolobium amazonicum* Huber, vulgarmente conhecido como paricá, é uma das espécies de madeira da região Amazônica que foi identificada por Costa et al., (1998) como de grande potencial para plantios em áreas degradadas, reflorestamento e em sistemas agroflorestais. Para garantir o pleno sucesso da sua utilização em plantios comerciais, vêm sendo desenvolvidas pesquisas em diversas linhas com vistas a propiciar maior produtividade de sua madeira.

As sementes de paricá apresentam elevado percentual de germinação (Nepstad et al., 1982), principalmente se as sementes forem jovens e submetidas a processos mecânicos, físicos ou químicos que abreviem o processo. No entanto, nesse vegetal, a multiplicação via semente, que é o processo mais empregado, tem como desvantagem contribuir para uma grande falta de uniformidade nos povoamentos florestais. Visando reduzir a variabilidade desses povoamentos, é que se buscam alternativas na micropropagação. Nesse sentido, Hartmann e Kester (1976) afirmam que a multiplicação de forma assexual é indiscutivelmente a técnica que oferece vantagens de gerar material clonal que possibilita superar os problemas com a propagação por meio de semente.

Germinação – Do Latim germinatio-, que pode ser definida como o início do desenvolvimento de um novo indivíduo vegetal a partir de uma semente colocada sob condições favoráveis (Larousse, 1998) dando origem a uma plântula normal (Filho et al., 1987). Labouriau (1983) define botanicamente, como um fenômeno biológico com

uma série de conversões metabólicas que levam ao rompimento do tegumento pela radícula. Do ponto de vista dos tecnólogos de semente, o processo é reconhecido desde que as plântulas apresentem tamanho suficiente para que possam avaliar a normalidade de suas partes e a sua possibilidade de sobrevivência.

Conforme Borges e Rena (1993), para ocorrer a retomada do crescimen-



Figura 1. Germinação in vitro de sementes de Paricá em meio sólido com 5 dias de cultivo. Embrapa Amazônia Oriental. Belém - PA, 2002

to das estruturas essenciais do embrião (germinação), a semente deve estar madura, ser bem constituída e ter conservado o poder germinativo e, ao mesmo tempo, deve receber, do meio exterior, água e oxigênio em quantidade suficiente para assegurar um intenso metabolismo. Por outro lado, Mayer

**Iracema Maria Castro
Coimbra Cordeiro**
Eng. Florestal Mestranda/FCAP
cordeiro@canal13.com.br

Osmar Alves Lameira, Dr.
Eng. Agro. Doutor/Pesquisador
Embrapa Amazônia Oriental
Belém - PA
osmar@cepatu.embrapa.br

Sebastião da Cunha Lopes
Eng. Agro. MSc Bolsista/CNPq

Michelle Soares Rios
Graduanda/Bolsista CNPq

Tabela 1. Composição do meio básico MS (Murashige e Skoog, 1962)

Composto	Concentração (mg. L ⁻¹)	Solução de Estoque		Volume (SE) /1000ml
		Concentração	mg/1000ml	
Macronutrientes				
NH ₄ NO ₃	1.650	50 X	82.500	20 ml
KH ₂ PO ₄	170	50 X	8.500	
KNO ₃	1.900	50 X	95.000	20 ml
MgSO ₄ .7H ₂ O	370	50 X	18.500	
CaCl ₂ .2H ₂ O	440	50 X	22.000	20 ml
FeEDTA				
FeSO ₄ .7H ₂ O	27,8	100 X	2.780	10 ml
Na ₂ EDTA	37,3	100 X	3.730	
Micronutrientes				
MnSO ₄ .4H ₂ O	22,3	100 X	2.230	
ZnSO ₄ .7H ₂ O	8,6	100 X	860	
H ₃ BO ₃	6,2	100 X	620	
KI	0,83	100 X	83	10 ml
NaMoO ₄ .2H ₂ O	0,25	100 X	25	
CuSO ₄ .5H ₂ O	0,025	100 X	2,5	
CoCl ₂ .6H ₂ O	0,025	100 X	2,5	
Vitaminas			(mg/100ml)	
Tiamina-HCl	0,10	500 X	5,00	
Piridoxina-HCl	0,50	500 X	25,00	
Ácido nicotínico	0,50	500 X	25,00	2 ml
Glicina	2,00	500 X	100,00	
Mio-inositol	100,00	500 X	5.000,00	
Fonte de carbono				
Sacarose	30.000	3%		
PH				5,8

e Poljakoff-MAYBER (1989) afirmam que fatores como composição química e balanço hormonal influenciam sobremaneira no processo germinativo.

Temperatura, disponibilidade de água, luz, são fatores ambientais que influenciam consideravelmente no processo de germinação, sendo que a quantidade desses fatores varia de acordo com as espécies e cultivares. De acordo com Carvalho e Wakagawa (1988), quando a temperatura é elevada, ocorre maior absorção de água, afetando significativamente a germinação. Por outro lado, Evanari (1965) considera o elemento luz essencial ao processo, visto que é indicador de classificação de espécies. O mesmo autor designa a sensibilidade das sementes à luz como fotoblastismo positivo ou negativo. Desse modo, Gomes (1999) afirma que condições ambientais apropriadas para o processo de germinação podem ser fornecidas em laboratórios através da multiplicação *in vitro*.

Considerando que as sementes de

paricá, uma vez escarificadas, possuem eficiência de germinação independente do uso do meio de cultura, o presente trabalho teve como objetivo induzir a germinação de paricá *in vitro* em dois diferentes meios de cultura, visando à obtenção de plântulas como fonte de explantes saudáveis para o processo inicial de micropropagação.

MATERIAL E MÉTODOS

Local de Condução do Experimento e Procedência das Sementes

O experimento foi conduzido no Laboratório de Recursos Genéticos e Biotecnologia da Embrapa Amazônia Oriental. As sementes de paricá utilizadas eram de procedência das populações do município de Ji-Paraná, no Estado de Rondônia e foram doadas pela empresa Tramontina Belém S.A.

Assepsia das Sementes

As sementes de paricá foram esca-

rificadas mecanicamente com lixa e colocadas em becker com 100 ml de água. Na bancada do laboratório foram submetidas a várias lavagens com água corrente e detergente comercial. Na câmara de fluxo laminar, previamente esterilizada com álcool a 70%, as sementes foram imersas em solução de hipoclorito de sódio (NaOCl) a 3%, por dez minutos, sendo cinco minutos em agitação e lavadas por cinco vezes com água destilada e autoclavada. Após a lavagem, as sementes foram distribuídas em placas de Petri e posteriormente, inoculadas.

Meio de Cultura e Condições Ambientais

Para o tratamento um, o meio de iniciação foi composto do meio de cultura básico MS estabelecido por Murashige e Skoog, 1962 (Tabela 1), contendo a metade das concentrações de sais de macro e micronutrientes, suplementadas com 3 mg.L⁻¹ de ácido giberélico-AG₃, adicionadas com 0,1%

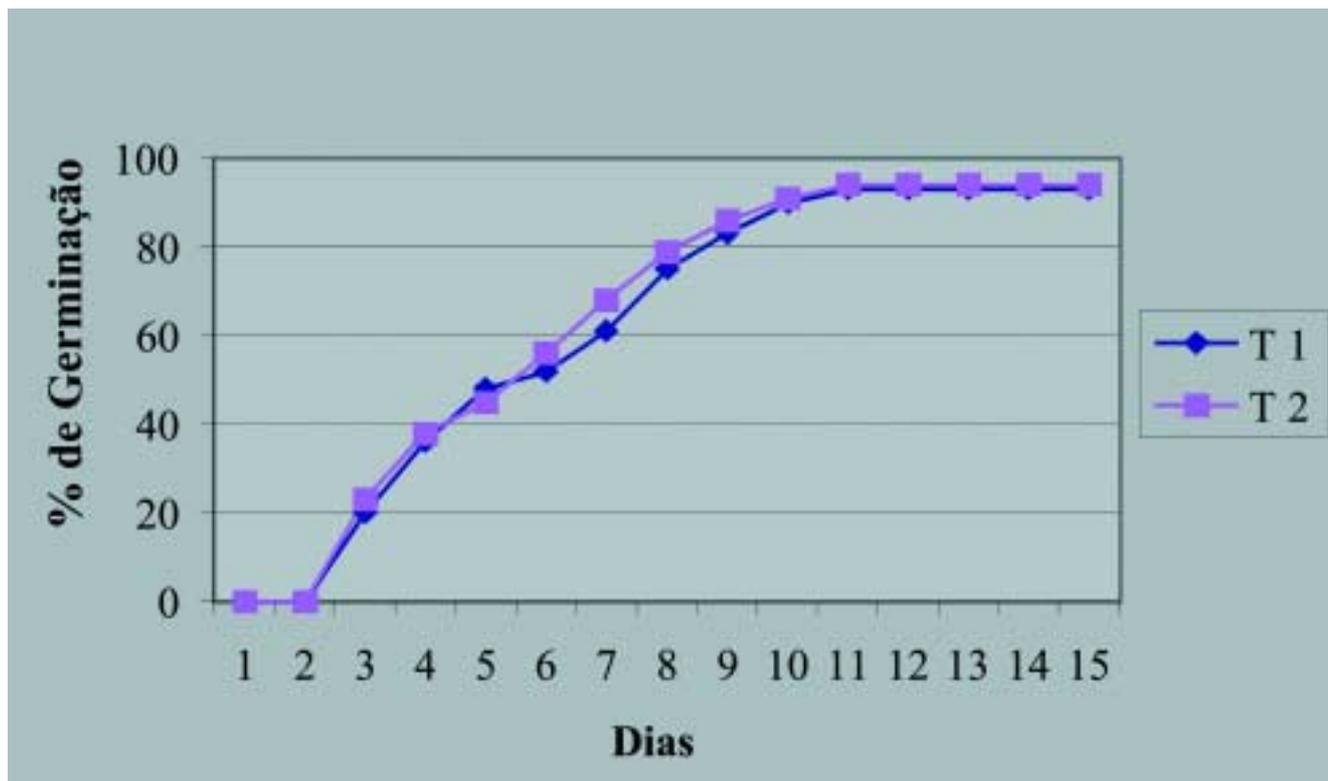


Figura 2. Número de plântulas de Paricá germinadas in vitro após quinze dias de inoculadas. Embrapa Amazônia Oriental. Belém - PA, 2002

de polyvinylpyrrolidone (PVP) e 0,6% de agar, e, no tratamento dois, foi utilizado 0,1% de PVP e 0,6% de agar. O pH dos meios de cultura foi ajustado para 5,8 antes da autoclavagem, utilizando-se NaOH (Hidróxido de sódio) e/ou HCl (Ácido clorídrico) em solução de 0,5 N. Os meios de cultura foram distribuídos na quantidade de 10 ml por tubo de ensaio de 20 x 150 mm. A autoclavagem foi realizada a 120°C e 1,2 atm, durante 15 minutos. As sementes foram inoculadas em tubos de ensaio, em câmara de fluxo laminar previamente esterilizada com álcool 70%, com auxílio de placas de Petri e pinças, esterilizadas em autoclave durante 20 minutos. Após a inoculação das sementes, os tubos de ensaio foram tampados com forminhas de alumínio de dimensão 24 x 16 mm e

lacrados com parafilm e levadas para sala de crescimento sob condições de cultivo de 16 horas de luz, com uma intensidade luminosa de $25\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ de irradiância e 8 horas no escuro.

Delineamento Experimental

O delineamento experimental adotado foi completamente casualizado utilizando-se dois tratamentos que constaram de 100 sementes para cada tratamento, divididas em dez repetições. Cada unidade experimental foi constituída de dez (10) tubos de ensaio contendo uma semente por tubo.

As observações foram feitas diariamente até o décimo quinto dia após a inoculação. Os dados referentes ao número de sementes germinadas e a oxidação presente nos tubos foram

tabulados. A análise estatística da variável de resposta 1, nº de sementes germinadas, foram transformadas pelo Arco seno $\sqrt{x+0,5}$, e para a variável de resposta 2, oxidação, foi utilizado o percentual.

Resultados e Discussão

De acordo com a análise de variância, conforme Tabela 2, não houve diferença significativa entre os dois tratamentos utilizados, levando à confirmação do alto poder germinativo da espécie se comparada com espécies florestais que não apresentam boa germinação in vitro ou levam período mais longo para germinar, como é o caso do Pau rosa (*Aniba roseodora* Ducke) e da Sucupira branca (*Pterodon pubescens* Benth) estudadas por França et al. (1997) e Coelho (1999), respectivamente.

O teste de germinação in vitro de sementes escarificadas de paricá possibilita detalhamento do comportamento da semente em diferentes meios de cultura. Geralmente, as sementes que sofrem escarificação apresentam altos

Tabela 2- Resumo da Análise de Variância do Experimento

Fonte de Variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Meios de Cultura	1	17.0017	17.0017	0,1489 ^{NS}
Erro Experimental	18	2054,99	114.16	-
Total	19	20719917	-	-

NS – Não Significativo a 5% de probabilidade pelo teste F

índices de germinação e desenvolvimento quando comparadas com outros métodos de superação de dormência comumente utilizados em laboratórios.

A partir do terceiro dia após a inoculação, as sementes começaram a germinar com o aparecimento do eixo embrionário. O epicótilo das plântulas apresenta crescimento rápido, sendo possível observar o surgimento de plântulas a partir do quinto dia (Figura 1). Resultados semelhantes foram obtidos por Lopes (2000), com o mogno (*Swietenia Macrophylla* King), no qual verificou que o surgimento de plântulas *in vitro*, em meio MS suplementado com vitaminas, inicia no sexto dia pós-inoculação.

No quinto dia, foi observado que havia diferença quanto ao surgimento das radículas em relação aos dois diferentes tipos de meio de cultura, entretanto, no décimo primeiro dia quando 94% das sementes já haviam germinado, as plântulas apresentavam uniformidade nas radículas.

Nesse experimento, o cultivo das sementes de paricá *in vitro* apresentou eficiente germinação, não apresentando contaminação, demonstrando que a aplicação de NaOCl no momento da assepsia eliminou a possibilidade de ocorrência de patógenos.

A percentagem de germinação *in vitro* ao longo de quinze dias de cultivo foi de 94% para o tratamento um e 93% para o tratamento dois. De maneira geral, a germinação na proporção de plântulas emergidas foi uniforme e apresentou um aumento linear para os dois meios utilizados (Figura 2). Similaridade de resultados foi obtida por Lameira et al. (2000), em experimento com sementes de paricá com 96% e 98% de germinação.

Embora não tenha ocorrido diferença estatística entre os tratamentos, é bom ressaltar que o tratamento na ausência de AG₃ apresenta uma certa vantagem quanto à redução de custos em relação ao tratamento contendo esse regulador de crescimento.

A presença de PVP foi altamente eficiente no controle da oxidação em sementes de paricá. Acredita-se que o principal efeito do PVP no meio de cultura esteja relacionado com a capacidade de inibir a liberação de produtos fenólicos, os quais são prejudiciais aos tecidos cultivados *in vitro*. Segundo Siqueira e Inoque (1991), o processo de

oxidação ocorre, principalmente, com a intoxicação dos tecidos por fenóis liberados por tecidos recém-feridos, o que provavelmente não ocorreu nesse trabalho.

Os resultados obtidos proporcionaram a produção de explantes a partir de plântula *in vitro* para serem utilizados no processo inicial de micropropagação.

CONCLUSÕES

Nas condições do presente trabalho, concluiu-se que:

a) As sementes de paricá apresentam eficiente germinação *in vitro* independente do meio de cultura utilizado.

b) A presença de AG₃ no meio básico MS contendo a metade das concentrações de sais de macro e micronutrientes não se faz necessário para induzir a emergência de plântulas de paricá *in vitro*.

c) A germinação *in vitro* de paricá proporciona a produção de explantes assépticos para serem utilizados no processo inicial de micropropagação.

O trabalho foi desenvolvido com o apoio financeiro da empresa Tramontina Belém S.A.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BORGES, E.E. de L. & RENA, A.B. **Germinação de sementes**. In: AGUIAR, I.B. de; PIÑA-RODRIGUES, F.C.M.; FIGLIOLIA, M.B. Sementes florestais tropicais. Brasília: ABRATES – Comitê Técnico de Sementes Florestais. 1993. C.3.P.83-135.

CARVALHO, N.M. de; NAKAGAWA, J. **Sementes: Ciência, Tecnologia e Produção**. 3.ed. Campinas: Fundação Cargill, 1988, 429p.

COELHO, M.C.F. **Germinação de sementes e propagação *in vitro* de sucupira branca [Pterodon pubescens (Benth.) Benth.]** Lavras: UFLA, 1999. 119p. Dissert.(Mestrado em Fitotecnia)

COSTA, D.H.M.; REBELO, F.K.; D'AVILA, J.L.; SANTOS, M.A.S. dos.; LOPES, M.L.B., Alguns Aspectos Silviculturais sobre o paricá. Belém, 1998.23p. BASA - Série rural.2.

EVENARI, M. Light and seed dormancy. In: W. Ruhland (ed.) **Encyclo-**

pedia of Plant Physiology. Berlin: Spriger-Verlaag, 1965, v. 15, t.2, p.8044-847.

FILHO, M.J.; CÍCERO, M.S.; SILVA, W.R. da. **Avaliação da qualidade das sementes**. Piracicaba: FEALQ, 1987.320P.

FRANÇA, R.B.; SANTOS, D.S.B.; MOTA, M.G. da C.; VIEIRA, I.M. da S., CABRAL, B.L.R. Indução e crescimento de plântulas de pau-rosa (*Aniba roseadora* Ducke) *in vitro*. In: REUNIÃO DOS BOTÂNICOS DA AMAZÔNIA, 2, Salinópolis, Pará, 1997. **Resumos...** Salinópolis, 1997. P. 54

GOMES, G. A. C. **Propagação *in vitro* de moreira (*Maclura tinctoria*)** Lavras: UFLA, 1999. 92p. il. Dissertação (Mestrado)- UFLA, 1999.

HARTMANN, H.T. & KESTER, D.E., Propagacion de Plantas, princípios e práticas. Ed México Continental. 1976,810p.

LABOURIAU, L. G. **A germinação das sementes**. OEA: Washington, 1983. 174p.

LAMEIRA, O.A.; GOMES, A.P.do R.; LOPES, S. da C.; LEÃO, N.V.M. Efeito da escarificação sobre a germinação de sementes de paricá (*Schizolobium amazonicum*) *in vitro*. EMBRAPA, Comunicado Técnico 21. Belém, Pará, 2000.

LAROUSSE, **Grande Enciclopédia Delta**. Nova Cultural, vol.11,pg.2701,1998.

LOPES, S. da C. **Micropropagação de Mogno (*Swietenia macrophylla* King)**. Pelotas: UFP, 2000. 53p. Dissert.(Mestrado em Fisiologia vegetal)

MAYER, A. M. POLJAKOFF-MAYBER, A. **The germination of seeds**. New York: Pergamon Press, 1989. 210p.

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.

NEPSTAD, D. & PEREIRA, C., Conceitualização: Extensão e contextualização de áreas alteradas da região amazônica, In: Seminário Sobre Recuperação de Áreas Degradadas. Woods Hole Reserch Center/ EMBRAPA - CPATU/ SUDAM. 1982.

SIQUEIRA, E.R. de, INOQUE, M.T. Controle de oxidação na cultura de tecidos do coqueiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. Brasília, v.26, n 7, p.949-953, jul. 1991.