

# Indução da Calogênese em Paricá (*Schizolobium parahyba* var. *amazonicum* (Huber ex Ducke) Barneby) Através da Adição de AIB e BAP

Iulla Naiff Rabelo de Souza Reis<sup>1</sup>, Osmar Alves Lameira<sup>2</sup>, Iracema Maria Castro Coimbra Cordeiro<sup>3</sup>

## Introdução

O *Schizolobium parahyba* var. *amazonicum* (Huber ex Ducke) Barneby pertence a família Leguminosae, e é vulgarmente conhecido como paricá, paricá-grande, bandarria, faveira, faveira-branca, pinho-cuiabano e guapuruvu-da-amazônia, entre outros. Ocorre na Amazônia brasileira, venezuelana, colombiana, peruana e boliviana. No Brasil, é encontrado nos estados do Amazonas, Pará, Mato Grosso e Rondônia, em solos argilosos de florestas primárias e secundárias, tanto em terra firme quanto em várzea alta. Em função de seu rápido crescimento, Peck [1] incluiu-o na seleção de espécies leguminosas para plantios florestais e agroflorestais na Região Amazônica.

Apesar da facilidade de se obter muda pelo método convencional, os plantios com a espécie precisam ser formados com plantas com características de interesse como fuste reto e crescimento uniforme, para melhorar seu rendimento. Assim, o desenvolvimento de metodologias de propagação vegetativa tem sido apontada como alternativa potencial para produção de mudas de paricá, pela possibilidade de multiplicar fragmentos vegetais e se obter milhares de mudas geneticamente iguais à planta mãe e uniformização dos plantios.

Teoricamente, quando um segmento de tecido vegetal devidamente desinfestado ou assepticamente cultivado é transferido para um meio de cultura apropriado e mantido sob condições adequadas, algumas células se dividem e após intensa proliferação dão origem a uma massa não diferenciada de células [2]. A formação dessa massa, denominada calo, é uma etapa básica para o desenvolvimento de sistemas de propagação massiva de plantas por organogênese ou embriogênese somática.

Aos meios de culturas geralmente são adicionados reguladores de crescimento com o objetivo de suprir as possíveis deficiências dos explantes em relação aos fitohormônios endógenos, sendo as auxinas e citocininas as classes mais utilizadas. Segundo Caldas *et al.* [3], a formação de raiz, parte aérea e calo em cultura de tecidos é regulada pela disponibilidade e interação entre estas classes de reguladores de crescimento.

O objetivo do trabalho foi induzir a produção de calos *in vitro* em segmentos apicais e intercotiledonares de paricá através da adição de ácido indol-butírico (AIB) e

6-benzilaminopurina (BAP) ao meio de cultura.

## Material e Métodos

O experimento foi desenvolvido no laboratório de Biotecnologia e Recursos Genéticos da Embrapa Amazônia Oriental (Belém/PA). Como fontes de explantes foram utilizados segmentos apicais e intercotiledonares de plântulas de paricá germinadas *in vitro*.

O meio de cultura básico MS [4], constou de  $\frac{1}{4}$   $\text{NH}_4\text{NO}_3$ ,  $\frac{1}{2}$  Fe-EDTA e os demais componentes em suas concentrações normais, sacarose 3%, ágar 0,8%, e suplementado com o antioxidante polivinilpirrolidone (PVP) a 0,1%. O pH do meio 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 20 minutos. Os explantes foram inoculados em tubos de ensaio, em câmara de fluxo laminar previamente esterelizada com álcool 70%, com auxílio de placas de Petri e pinças, esterelizadas em autoclave durante 20 minutos. Após a inoculação dos explantes, os tubos de ensaio foram tampados com papel alumínio e vedados com parafilme. As culturas foram mantidas no escuro em sala de crescimento na temperatura de  $24 \pm 1^\circ\text{C}$ .

O delineamento experimental adotado foi inteiramente casualizado, em arranjo fatorial 4 x 2 (quatro combinações de AIB com BAP e duas fontes de explante), com quatro repetições, totalizando 32 unidades experimentais, sendo que cada parcela constou de quatro tubos de ensaio contendo um explante por tubo. A avaliação do experimento foi realizada aos 30 dias de cultivo, onde se observou o percentual de explantes com calos, a textura dos mesmos (friáveis ou compactos), coloração, oxidação, e a cobertura de calos no explante, onde levou-se em consideração os percentuais de 25, 50, 75 e 100% da área coberta com calos.

Os dados foram submetidos a análise de variância e as médias comparadas pelo teste SNK ao nível de 5% de probabilidade através do programa estatístico Sisvar. Para a análise estatística os dados de percentual de explantes com calos, cobertura de calos no explante e oxidação foram transformados para  $\text{arcseno}(Y/100)^{1/2}$ .

1. Engenheira agrônoma, mestranda 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/n°, Caixa Postal 48, Belém-PA, CEP 66095-100.

3. Engenheira florestal, doutoranda em Sistemas agroflorestais Universidade Federal Rural da Amazônia. Av. Presidente Tancredo Neves, 2501, Belém-PA, CEP 66077-530.

## Resultados e Discussão

Os tratamentos em que não se utilizou regulador de crescimento apresentaram o menor percentual de explantes com calos (50,15%) para ambos os explantes. Ficou evidenciado que nas três combinações testadas de AIB e BAP, 100% dos segmentos intercotiledonares apresentaram calogênese. Quanto aos segmentos apicais, a combinação de 0,5 mg.L<sup>-1</sup> de AIB com 1 mg.L<sup>-1</sup> de BAP e 1 mg.L<sup>-1</sup> de AIB com 1,5 mg.L<sup>-1</sup> de BAP apresentaram a mesma taxa de explantes com calos (91,75%), no entanto não diferiram significativamente da combinação de 1 mg.L<sup>-1</sup> de AIB com 0,5 mg.L<sup>-1</sup> de BAP (66,75%), conforme ilustra a Fig. 1. Conforme afirmou Santos [5], segmentos foliares e nodais de *Coffea arabica* e *Coffea canephora* inoculados em meio desprovido de reguladores não apresentaram calogênese. Da mesma forma Soares [6] verificou que explantes foliares inoculados na ausência de 2,4-D não formaram calos em ingazeiro (*Inga vera* Willd. Subsp. *Affinis* (DC.) T.D. Penn.).

Segmentos apicais inoculados em meio MS adicionados de 0,5 mg.L<sup>-1</sup> de AIB com 1 mg.L<sup>-1</sup> de BAP apresentaram melhor desempenho, com 80% da área coberta por calos, mas não diferiram dos tratamentos em que se combinou 1 mg.L<sup>-1</sup> de AIB com 0,5 mg.L<sup>-1</sup> de BAP e 1 mg.L<sup>-1</sup> de AIB com 1,5 mg.L<sup>-1</sup> de BAP, com 70% de cobertura por calos. A menor eficiência foi verificada quando não se utilizou regulador de crescimento, com apenas 35% de formação de calos. Já segmentos intercotiledonares na presença de 0,5 mg.L<sup>-1</sup> de AIB com 1 mg.L<sup>-1</sup> de BAP, 1 mg.L<sup>-1</sup> de AIB com 0,5 mg.L<sup>-1</sup> de BAP e 1 mg.L<sup>-1</sup> de AIB com 1,5 mg.L<sup>-1</sup> de BAP não apresentaram diferença significativa entre si, com 95, 100 e 95% da área coberta com calos, respectivamente. Sem a adição de reguladores de crescimento houve apenas 25%. Observou-se também que houve diferença significativa entre as fontes de explante quando se utilizou 1 mg.L<sup>-1</sup> de AIB com 0,5 mg.L<sup>-1</sup> de BAP e 1 mg.L<sup>-1</sup> de AIB com 1,5 mg.L<sup>-1</sup> de BAP, onde os segmentos intercotiledonares foram superiores em relação aos segmentos apicais (Fig. 2).

Segundo Cerqueira [7], em meios com concentrações de 1; 2 e 4 mg.L<sup>-1</sup> de AIB houve apenas 25% de área coberta com calos em segmentos foliares de *Tridax procumbens*. Já para os segmentos caulinares, 2 e 4 mg.L<sup>-1</sup> de AIB proporcionaram respectivamente 50 e 25% da área coberta com calos, e na presença de 1 mg.L<sup>-1</sup> de AIB, não ocorreu formação de calos.

Os calos formados em segmentos intercotiledonares na ausência de reguladores de crescimento apresentaram coloração bege escuro e de textura compacta. Segmentos apicais inoculados em meio MS suplementado com 0,5 mg.L<sup>-1</sup> de AIB com 1 mg.L<sup>-1</sup> de BAP formaram calos com melhor aspecto visual, de coloração bege claro e

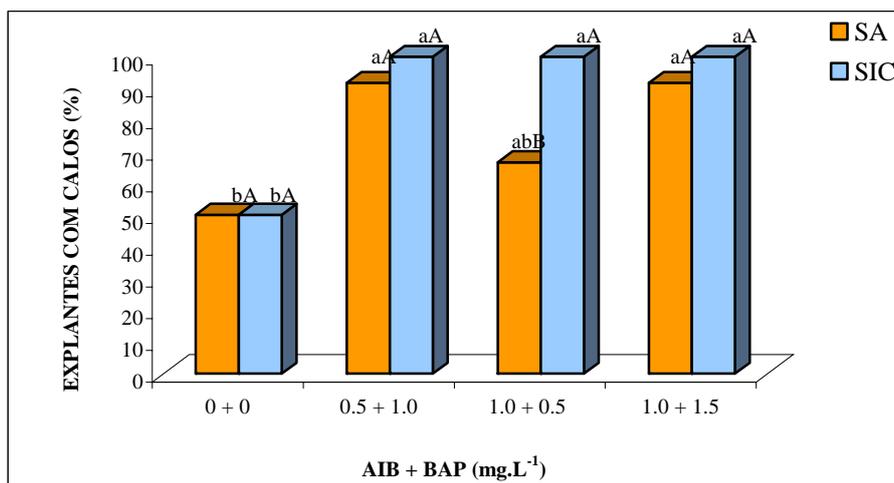
friáveis. Os demais tratamentos apresentaram calos de coloração bege médio e textura friável. Notou-se que em segmentos apicais não houve oxidação. Por sua vez, segmentos intercotiledonares inoculados em meio MS na ausência de reguladores de crescimento apresentaram o maior percentual de oxidação, com 85,8 %, enquanto que na presença de 0,5 mg.L<sup>-1</sup> de AIB com 1 mg.L<sup>-1</sup> de BAP houve apenas 5,82 % de oxidação, não diferindo significativamente de segmentos apicais nessa mesma concentração (Tab. 1).

Os tratamentos em que foi utilizado 1; 2 e 4 mg.L<sup>-1</sup> de AIB combinados com 2 mg.L<sup>-1</sup> de BAP em *Tridax procumbens* produziram calos de consistência um pouco compacta. Quanto à coloração, verificou-se que quando se utilizou AIB, os calos exibiram coloração amarela tanto para segmentos foliares quanto para segmentos caulinares, conforme Cerqueira [7].

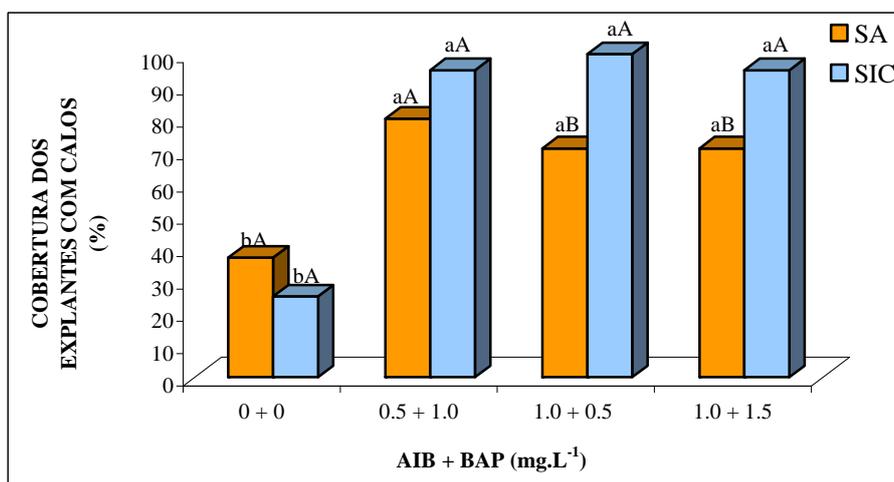
Nos estudos de Santos [5] sobre *Coffea arabica* e *Coffea canephora* foi verificado que a concentração de 1 mg.L<sup>-1</sup> de AIB foi a que proporcionou maior formação de calos nos explantes foliares da cultivar Rubi (41%), em relação a concentração de 0,5 mg.L<sup>-1</sup>. Em relação aos explantes nodais, o uso de AIB na concentração de 1 mg.L<sup>-1</sup> promoveu a maior formação de calos nas cultivares Apoatã (28%) e Topázio (56%). Para a cultivar Rubi, a maior produção de calos (97%) foi obtida usando 0,5 mg.L<sup>-1</sup>. O autor verificou também que o uso de BAP, em condições isoladas, não apresentou formação de calos em segmentos foliares.

## Referências

- [1] PECK, R.B. 1979. Informe sobre o desenvolvimento de sistemas agrossilvopastoris na Amazônia: *Relatório sobre consultoria ao CPATU de 15.09.70 a 15.12.79*. Belém: EMBRAPA-CPATU. 79p.
- [2] ASASU, N.T. & PARANJOTHY, K. 1975. Tissue culture as an aid in crop improvement. In: RAJARAO, J.C.; & PARANJOTHY, K. (Ed.). NATIONAL PLANT TISSUE CULTURE SYMPOSIUM, Kuala Lumpur. *Proceedings...* Kuala Lumpur: Rubber Research Institute of Malaysia. p.1-7.
- [3] CALDAS, L.S.; HARIDASAN, P. & FERREIRA, M.E. 1990. Meios nutritivos. In: TORRES, A.C.L & CALDAS, L.S. (eds.) *Técnicas e aplicações da cultura de tecidos de plantas*. Brasília: ABCTP/EMBRAPA-CNPH. p.37-49.
- [4] MURASHIGE, T. & SKOOG, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bio-assays with tobacco tissue cultures. *Physiology Plant*, 1: 437-496.
- [5] SANTOS, C.G. 2001. *Micropropagação e caracterização bioquímico-anatômica em Coffea arabica e Coffea canephora*. Dissertação de Mestrado, Curso de Pós-graduação em Agronomia, UFLA, Lavras.
- [6] SOARES, G. de A. 2003. *Aspectos do cultivo in vitro do ingazeiro (Inga vera Willd. Subsp. Affinis (DC) T. D. Penn)*. Dissertação de Mestrado, Curso de Pós-graduação em Agronomia, UFLA, Lavras.
- [7] CERQUEIRA, E.S. 1999. *Propagação e calogênese in vitro em erva-de-touro (Tridax procumbens L.), uma planta medicinal*. Dissertação de Mestrado, Curso de Pós-graduação em Agronomia, UFLA, Lavras.



**Figura 1.** Percentagem de explantes de paricá (*Schizolobium parahyba* var. *amazonicum*) que formaram calos, submetidos a diferentes concentrações de AIB e BAP. Embrapa Amazônia Oriental – Belém, 2006. Letras minúsculas comparam as combinações de AIB com BAP dentro de cada fonte de explante (SA – segmento apical ou SIC – segmento intercotiledonar), e letras maiúsculas comparam as fontes de explante dentro de cada combinação de AIB com BAP, ao nível de 5% pelo Teste de SNK.



**Figura 2.** Cobertura de calos nos explantes de paricá (*Schizolobium parahyba* var. *amazonicum*) inoculados em meio MS suplementado com diferentes concentrações de AIB e BAP. Embrapa Amazônia Oriental – Belém, 2006. Letras minúsculas comparam as combinações de AIB com BAP dentro de cada fonte de explante (SA – segmento apical ou SIC – segmento intercotiledonar), e letras maiúsculas comparam as fontes de explante dentro de cada combinação de AIB com BAP, ao nível de 5% pelo Teste de SNK.

**Tabela 1.** Respostas de variáveis qualitativas em calos de segmentos apicais e intercotiledonares de plântulas de paricá (*Schizolobium parahyba* var. *amazonicum*) germinadas *in vitro* inoculados em meio MS adicionado de diferentes concentrações de AIB e BAP. Embrapa Amazônia Oriental – Belém, 2006.

| AIB<br>(mg.L <sup>-1</sup> ) | BAP<br>(mg.L <sup>-1</sup> ) | Coloração* |     | Textura** |     | Oxidação (%) |         |
|------------------------------|------------------------------|------------|-----|-----------|-----|--------------|---------|
|                              |                              | SA         | SIC | SA        | SIC | SA           | SIC     |
| 0                            | 0                            | BM         | BE  | CF        | CC  | 0 aB         | 85,8 aA |
| 0,5                          | 1,0                          | BC         | BM  | CF        | CF  | 0 aA         | 5,82 cA |
| 1,0                          | 0,5                          | BM         | BM  | CF        | CF  | 0 aB         | 32,5 bA |
| 1,0                          | 1,5                          | BM         | BM  | CF        | CF  | 0 aB         | 22,9 bA |

Médias seguidas por letras minúsculas comparam as combinações de AIB com BAP dentro de cada fonte de explante (SA – segmento apical ou SIC – segmento intercotiledonar), e médias seguidas por letras maiúsculas comparam as fontes de explante dentro de cada combinação de AIB com BAP, ao nível de 5% pelo Teste de SNK. \* BC (bege claro); BM (bege médio); BE (bege escuro). \*\* CF (calos friáveis); CC (calos compactos).