

# EFEITOS DE VARIAÇÕES DAS CONCENTRAÇÕES DOS SAIS DE NITROGÊNIO E FÓSFORO DO MEIO NUTRITIVO 'MS' SOBRE O CRESCIMENTO DE PLÂNTULAS DE *Derris urucu* (Killip et Smith) Macbride

Bárbara Rodrigues de Quadros<sup>1</sup>, Heráclito Eugênio Oliveira da Conceição<sup>2</sup>, José Eduardo Brasil Pereira Pinto<sup>3</sup>, Ana Karolina da Silva Ripardo<sup>1</sup>, Rafaela Feio Cabral<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Estudante do Curso de Agronomia da Universidade Federal Rural da Amazônia, Cx. Postal 917, CEP 66077-530, Belém-PA

<sup>2</sup> Engenheiro Agrônomo, Pesquisador, Dr. Embrapa Amazônia Oriental, Cx. Postal 48, CEP 66095-100, Belém-PA, e-mail: [heraclito@cpa.embrapa.br](mailto:heraclito@cpa.embrapa.br)

<sup>3</sup> Professor Titular, Universidade Federal de Lavras, Cx. Postal 37, CEP 37000-000, Lavras-MG

## INTRODUÇÃO

O meio nutritivo mais utilizado em cultura de tecidos vegetais é o 'MS' de Murashige e Skoog (1962), embora a concentração de nutrientes deste meio nutritivo deva ser melhor estudada devido a respostas diferentes obtidas por diversas espécies de plantas (Pierik, 1987). Os meios nutritivos utilizados para a cultura *in vitro* de plantas fornecem as substâncias essenciais para o crescimento dos tecidos e controlam, em parte, o padrão de desenvolvimento *in vitro*. As mesmas vias bioquímicas e metabólicas básicas que funcionam nas plantas em condições *in vivo* são conservadas nas células cultivadas *in vitro*, embora alguns processos como a fotossíntese, possam ser inativadas pelas condições de cultivo e pelo estado de diferenciação das células.

Os macronutrientes são incluídos nos meios nutritivos na forma de sais inorgânicos, sendo que o nitrogênio e o enxofre podem ser adicionados, também, como componentes de suplementos orgânicos (aminoácidos, por exemplo) (Murashige e Skoog, 1962; Caldas, Haridasan e Ferreira, 1998). É usual suprir-se o nitrogênio na forma de íons  $\text{NH}_4^+$  e  $\text{NO}_3^-$ , embora algumas plantas possam se desenvolver em soluções contendo N somente na forma de nitrato (George e Sherrigton, 1984). O balanço entre os íons, nitrato e amônio, tem merecido maior destaque nos estudos realizados sobre crescimento e multiplicação *in vitro* (Santiago et al., 1999). O fósforo é absorvido pelas plantas na forma de íon  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$  e é nesta forma que é acrescentado nos meios de cultura de tecidos vegetais. No meio 'MS', o fosfato de potássio monobásico é usado na concentração de 1,25 mM. Este nível é considerado baixo para algumas culturas, sendo recomendado à suplementação com um nível igual de fosfato de sódio monobásico (Murashige, 1974).

Estudos sobre nutrição mineral de timbós são raros, assim sendo, este trabalho foi conduzido com objetivo de se determinar os efeitos de variações das concentrações dos sais de N e P do meio nutritivo 'MS' sobre o crescimento de plântulas de timbó-vermelho (*D. urucu*), em condições de cultivo *in vitro*.

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram usadas plântulas de timbó-vermelho (*D. urucu*) oriundas de sementes de exemplares do clone 37 do banco de germoplasma da Embrapa Amazônia Oriental, com 15 dias de idade, oriundas de germinação *in vitro*. As sementes foram germinadas em meio nutritivo 'MS' contendo a metade da concentração dos sais, 3% de sacarose, sem regulador de crescimento, pH ajustado para  $5,7 \pm 0,1$  antes da autoclavagem e mantidas em sala de crescimento a  $26,0 \pm 1,0$  °C, umidade relativa do ar de  $70 \pm 5\%$ , fotoperíodo de 16 h sob irradiância de  $25 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ , durante 15 dias. Após este período, as plântulas foram transferidas para tubos de ensaio de 200 x 25 mm, contendo 15 mL de cada meio nutritivo dos tratamentos de nutrição mineral relacionados no Quadro 1. Os meios nutritivos continham 3% de sacarose e 0,55% de agar, pH ajustado para  $5,7 \pm 0,1$  antes da autoclavagem e as plântulas foram mantidas em condições semelhantes a anterior, durante 45 dias.

QUADRO 1 – Tratamentos usados no experimento com timbó-vermelho.

Tratamento	Composição dos tratamentos <sup>1</sup>
T.01	'MS' com metade da concentração dos sais das soluções D, E e F + N-NO <sub>3</sub> /2 + 0,0 mg/L de N-NH <sub>4</sub> + P-KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> /2.
T.02	'MS' com metade da concentração dos sais das soluções D, E e F + 0,0 mg/L de N-NO <sub>3</sub> + N-NH <sub>4</sub> /2 + P-KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> /2.
T.03	'MS' com metade da concentração dos sais das soluções D, E e F + N-NO <sub>3</sub> /2 + N-NH <sub>4</sub> /2 + P-KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> /2.
T.04	'MS' com metade da concentração dos sais das soluções D, E e F + N-NO <sub>3</sub> + N-NH <sub>4</sub> + P-KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> /2.
T.05	'MS' com metade da concentração dos sais das soluções D, E e F + N-NO <sub>3</sub> /2 + 0,0 mg/L de N-NH <sub>4</sub> + P-KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> .
T.06	'MS' com metade da concentração dos sais das soluções D, E e F + 0,0 mg/L de N-NO <sub>3</sub> + N-NH <sub>4</sub> /2 + P-KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> .
T.07	'MS' com metade da concentração dos sais das soluções D, E e F + N-NO <sub>3</sub> /2 + N-NH <sub>4</sub> /2 + P-KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> .
T.08	'MS' com metade da concentração dos sais das soluções D, E e F + N-NO <sub>3</sub> + N-NH <sub>4</sub> + P-KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> .

<sup>1</sup> Solução D = CaCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O; Solução E = H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>; KI; Na<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub>.2H<sub>2</sub>O; CoCl<sub>2</sub>.6H<sub>2</sub>O e Solução F = MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O; MnSO<sub>4</sub>.4H<sub>2</sub>O; ZnSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O; CuSO<sub>4</sub>.5H<sub>2</sub>O.

Os efeitos dos tratamentos foram avaliados pelas seguintes variáveis de respostas: altura da planta (AP), comprimento do sistema radicular (CSR) e número de folhas (NF)

O delineamento experimental usado foi o inteiramente casualizado, em esquema fatorial 8 x 2 (8 formulações de meios nutritivos e 2 épocas de coleta de material vegetal), com 3 repetições, cada uma contendo 4 tubos de ensaio com 15 mL dos meios nutritivos de nutrição mineral. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância para as variáveis de respostas em questão (Banzatto e Kronka, 1995).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados das análises de variâncias dos dados detectaram efeitos significativos diferenciados para todos os fatores, indicando que os meios de cultura (M) e as épocas de avaliação (EA) tiveram influências determinantes sobre o crescimento, em plântulas de timbó-vermelho cultivadas *in vitro*, durante 45 dias. Os efeitos das variações de concentrações dos sais de N e P do meio nutritivo 'MS' sobre o crescimento de plântulas de timbó-vermelho são apresentados na Tabela 1.

TABELA 1 – Altura de plântula (AP, em cm), comprimento do sistema radicular (CSR, em cm) e número de folhas (NF) de plântulas de *Derris urucu* sob condições *in vitro*, em várias formulações de meio nutritivo 'MS', cultivadas durante 45 dias.

Tratamentos	Variáveis de respostas <sup>1</sup>		
	AP	CSR	NF
T.01	4,3980 bc	4,4456 ab	6,4738 b
T.02	4,0683 c	3,7910 b	6,4043 b
T.03	5,0077 abc	4,4627 ab	6,2809 b
T.04	4,3833 bc	4,4665 ab	6,1470 b
T.05	5,8864 abc	5,0613 a	7,0294 ab
T.06	6,3007 ab	4,9664 a	6,8933 ab
T.07	6,9429 a	4,7590 a	7,7256 a
T.08	6,1229 ab	4,3133 ab	6,8207 ab

<sup>1</sup> Médias seguidas por letras distintas, nas colunas diferem entre si a 0,05 de probabilidade pelo teste de Tukey.

Na Tabela 1, observam-se que houve reduções de crescimento de plântulas de timbó-vermelho de acordo com os tratamentos, medidos em termos de AP, CSR e NF. Reduções significativas de crescimento foram observadas para AP de timbó-vermelho cultivadas com supressão das concentrações das fontes de N-amoniacoal e N-nitrato, ou ainda, com o total das fontes de N, associadas à metade da concentração de P-KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>. O CSR do timbó-vermelho foi reduzido significativamente quando cultivado em meio nutritivo formulado com supressão de N-nitrato na presença da metade da concentração de P-KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>. O CSR não foi afetado tanto pela ausência da fonte de N-amoniacoal como no aumento das concentrações de N, no meio de cultura quando associada à metade da concentração de P do meio nutritivo 'MS'. Resultados semelhantes, também foram observados para todas as variações nas concentrações de N, associadas à concentração normal de P. O NF de plântulas de timbó-vermelho foi reduzido pela supressão das concentrações das fontes de N-amoniacoal e N-nitrato, ou ainda, com a metade ou o total das fontes de N, associadas à metade da concentração de P-KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>. Por outro lado, o NF não foi afetado pelas variações das concentrações dos sais de N do meio nutritivo associadas a concentração normal de P-KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>.

Em geral, observou-se que os tratamentos usados promoveram efeitos diferenciados no crescimento de plântulas de timbó-vermelho. Esses efeitos foram caracterizados pela redução do crescimento, principalmente quando os tratamentos foram constituídos pela supressão das fontes de N-amoniacoal ou N-nitrato, ou ainda de ambas, todas essas associadas à metade da concentração de P-KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>. No entanto, observa-se na Tabela 1, que o crescimento do timbó-vermelho foi mais influenciado pela supressão da fonte de N-nitrato do que o N-amoniacoal, ambas associadas à metade da concentração de P-KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>. Esses resultados concordam em parte, com os relatados por alguns autores, como exemplo Santiago et al. (1999) com plantas de pimenta longa, Carneiro (1997) com explantes primários da bananeira Maçã e Hasegawa, Yabe e Morita (1995) com plântulas de (*Petasites japonicus*). O efeito de diferentes formas inorgânicas do nitrogênio sobre o crescimento e desenvolvimento de tecidos de plantas é marcante: o nitrato, como única fonte de nitrogênio, sustenta uma boa taxa de crescimento em muitas espécies, como cenoura, fumo, *Populos*, roseira e várias outras (Caldas, Haridasan e Ferreira, 1998), no entanto, a maioria delas necessita de nitrogênio nítrico e amoniacoal, sendo necessário encontrar o balanço ideal de NH<sub>4</sub><sup>+</sup> / NO<sub>3</sub><sup>-</sup> para o ótimo crescimento e desenvolvimento *in vitro*, o total de N requerido é de 168 a 840 mg/L, e a quantidade de NH<sub>4</sub><sup>+</sup> varia de 108 a 360 mg/L e a de NO<sub>3</sub><sup>-</sup> de 372 a 2.480 mg/L (George e Sherrigton, 1984).

## CONCLUSÕES

Os efeitos de variações das concentrações dos sais de N e P do meio nutritivo 'MS' sobre o crescimento em plântulas de *D. urucu*, durante 45 dias de cultivo *in vitro*, apresentam respostas diferenciadas;

Os efeitos das variações das concentrações dos sais de N e P do meio nutritivo 'MS' resultaram em reduções de crescimento de plântulas de *D. urucu*, principalmente quando os tratamentos foram constituídos pela supressão das fontes de N-amoniacoal ou N-nitrato, ou ainda de ambas, todas essas associadas à metade da concentração de P-KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BANZATTO, D.A.; KRONKA, S. do N. **Experimentação agrícola**. 3.ed. Jaboticabal: FUNEP, 1995. 247p.
- CALDAS, L.S.; HARIDASAN, P. e FERREIRA, M.E. Meios nutritivos. In: TORRES, A.C.; CALDAS, L.S. e BUSO, J.A. (eds.). **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. EMBRAPA-CBAB, 1998. v.1, p.87-132.
- CARNEIRO, I.F. **Adequação de técnicas de cultura *in vitro* na obtenção de mudas de bananeira (*Musa AAB*) cultivar Maçã**. Goiânia: UFG, 1997. 106p. (Tese – Doutorado em Agronomia).
- GEORGE, E.F. e SHERRINGTON, P.D. **Tissue culture media: plant propagation by tissue culture**. Eastern Press, 1984. 709p.
- HASEGAWA, T.; YABE, K. e MORITA, M. Production system of micropropagated nursery by tissue culture in Japanese butterbur. III. In vitro preservation of cultured plants on modified MS medium and MS medium containing growth regulator. **Research Bulletin of the Aichi Ken Agricultural Research Center**. 27:159-166, 1995.
- MURASHIGE, T. & SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, v.15, p. 473-497, 1962.
- MURASHIGE, T., Plant propagation through tissue culture. **Annual Review of Plant Physiology**, v.25, p.135-166, 1974.
- PIERIK, R.L.M. **In vitro culture of higher plants**. Netherlands: Martinus Nijhoff Publishers, 1987. 344p.
- SANTIAGO, E.J.A. de; CONCEIÇÃO, H.E.O. da; CARVALHO, J.G. de; et al. Growth of the pepper (*Pipiper hispidinervium* DC.) submitted to different levels of N and P in vitro. **In Vitro Cellular & Developmental Biology**, Largo Drive West, v.35, n.3 (Part II), p.50-A, March, 1999.