



14º Seminário de Iniciação Científica da EMBRAPA
10 e 11 de agosto de 2010
Embrapa Amazônia Oriental, Belém-PA

**EFEITO DE DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE NITROGÊNIO NO
DESENVOLVIMENTO E ENRAIZAMENTO *IN VITRO* DE *Psychotria ipecacuanha* –
RUBIACEAE**

Giselly Mota da Silva¹, Osmar Alves Lameira², Carla Viviane de Freitas Nonato³

¹Bolsista do PIBIC/CNPq/EMBRAPA e acadêmica de Agronomia 9º Semestre UFRA. gisellymota@yahoo.com.br

²Pesquisador Dr. da Embrapa Amazônia Oriental. osmar@cpatu.embrapa.br

³Estagiária da Embrapa Amazônia Oriental e acadêmica de Agronomia 9º Semestre UFRA. carlinha.nonato@yahoo.com.br

Resumo: *Psychotria ipecacuanha* (Brot.) Stokes, é uma planta medicinal ameaçada de erosão genética devido ao intenso processo extrativista sofrido ao longo dos anos. O objetivo deste trabalho foi avaliar diferentes concentrações de nitrogênio e seus efeitos no crescimento e enraizamento do acesso 589 de ipecacuanha, visando aumentar o intervalo entre os subcultivos, para a conservação *in vitro* da espécie. Foram utilizados os seguintes tratamentos: Concentração normal do meio MS, 1/2 de NH₄NO₃ e KNO₃ normal, 1/4 de NH₄NO₃ e KNO₃ normal, 1/2 de KNO₃ e NH₄NO₃ normal, 1/4 de KNO₃ e NH₄NO₃ normal. Posteriormente, os brotos foram transferidos para os mesmos tratamentos adicionados de 2 mg.L⁻¹ de AIB, visando o enraizamento. Para a característica crescimento, o resultado mais expressivo foi observado na 1/2 de KNO₃, quando os brotos atingiram uma média de 1,80 cm de altura, tiveram um crescimento menor em relação a concentração normal e as plântulas se apresentaram mais vigorosas, quando comparadas aos demais tratamentos de menor crescimento. Com relação á porcentagem de enraizamento, os tratamentos mais eficientes foram obtidos na concentração normal e na 1/2 de NH₄NO₃ e KNO₃, atingindo uma média de 79,16%, 77,77% e 55,55% de enraizamento, respectivamente. Por tanto, quando se dilui o KNO₃ à metade de sua concentração normal, consegue-se diminuir o crescimento dos brotos, aumentando assim o intervalo entre os subcultivos, além de favorecer o desenvolvimento de raízes.

Palavras-chave: germoplasma, *in vitro*, subcultivos

Introdução

Psychotria ipecacuanha (Brot.) Stokes, conhecida popularmente como ipeca, é uma planta reconhecida mundialmente como medicinal, pois possui em suas raízes o alcalóide emetina, utilizado no combate à disenteria amebiana, além de possuir propriedade adstringente, espectorante e antiinflamatória (COSTA et al., 2000).



14º Seminário de Iniciação Científica da EMBRAPA
10 e 11 de agosto de 2010
Embrapa Amazônia Oriental, Belém-PA

A espécie está ameaçada de extinção por ter sofrido intenso processo extrativo nos dois séculos passados, sendo uma espécie passível de se adequar a um sistema de cultivo economicamente viável (LAMEIRA, 2002).

A conservação *in vitro* baseia-se na técnica de cultura de tecidos de plantas de propagação vegetativa, isto é, aqueles que podem se multiplicar por partes da planta. São coleções de germoplasma mantidos em laboratório em condições que reduzem o crescimento das amostras.

O crescimento e a morfogênese de células e tecidos de plantas cultivadas "in vitro" são marcadamente influenciados pela disponibilidade e pela forma na qual o Nitrogênio é suplementado no meio de cultivo (NAGAO, PASQUAL e RAMOS, 1994).

Entre os acessos já conservados *in vitro* pela Embrapa Amazônia Oriental, o 589 foi o que apresentou maior rapidez quanto ao crescimento. Por tanto o objetivo do trabalho foi avaliar diferentes concentrações de nitrogênio inorgânico e seus efeitos no crescimento e enraizamento do acesso 589 de ipecacuanha, visando aumentar o intervalo entre os subcultivos, para a conservação *in vitro* da espécie.

Material e Métodos

O experimento foi realizado no laboratório de Recursos Genéticos e Biotecnologia da Embrapa Amazônia Oriental, utilizando plântulas de ipeca do acesso 589, cultivadas *in vitro* em meio MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962) contendo 2 mg.L⁻¹ de BAP .

Para conduzir o experimento, o meio MS foi adaptado para as concentrações de nitrogênio, cujas fontes são NH₄NO₃ e KNO₃, obtidas de acordo com diluições das quantidades existentes no meio básico MS: normal, 1/2 e 1/4.

Foram utilizados os seguintes tratamentos: Concentração normal, 1/2 de NH₄NO₃ e KNO₃ normal, 1/4 de NH₄NO₃ e KNO₃ normal, 1/2 de KNO₃ e NH₄NO₃ normal, 1/4 de KNO₃ e NH₄NO₃ normal; adicionados em frascos contendo 30 mL de meio de cultura e sacarose à 3%, sendo o pH ajustado para 5.8 antes da autoclavagem. As plântulas foram repicadas e os explantes inoculados.

Com 120 dias os brotos foram individualizados e inoculados aos mesmos tratamentos adicionados de 2 mg.L⁻¹ de AIB, após 15 dias esse material foi transferido para a metade da concentração do meio MS, sendo levados para sala de crescimento sob fotoperíodo de 16h.luz.dia⁻¹, com intensidade luminosa de 25µmol.m².s⁻¹ de irradiância e temperatura de 25±3°C, por um período de 60 dias.

Utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado com 4 repetições, em que cada parcela



14º Seminário de Iniciação Científica da EMBRAPA
10 e 11 de agosto de 2010
Embrapa Amazônia Oriental, Belém-PA

consistiu-se de dois frascos. As médias de crescimento de brotos e percentagem de enraizamento foram avaliados pelo programa estatístico Sisvar, comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Resultados e Discussão

A análise de variância demonstrou que houve diferença significativa, ao nível de 5%, pelo teste F, entre os tratamentos contendo diferentes níveis de nitrogênio inorgânico, para ambas as características avaliadas.

De acordo com a Tabela 1, verifica-se que os brotos que apresentaram maior tamanho foram aqueles que se desenvolveram no meio com a concentração normal de nitrogênio, atingindo uma média de 2,88 cm de comprimento. Enquanto que os crescimentos mais lentos foram observados quando o KNO_3 foi diluído à 1/4 de sua concentração normal, cuja média de comprimento foi de 0,84 cm. No entanto as plântulas desenvolvidas nessa concentração perderam sua viabilidade, pois apresentaram amarelecimento e queda prematura das folhas. De acordo com Lemos et al. (2002), o método do crescimento lento na conservação *in vitro* consiste em reduzir o metabolismo da planta sem afetar sua viabilidade.

O melhor resultado foi observado com a diluição do KNO_3 à metade, quando os brotos atingiram uma média de 1,80 cm de comprimento, apesar deste não ter diferido estatisticamente do NH_4NO_3 diluído à 1/4, mas foi a diluição limite, onde os brotos tiveram um crescimento menor em relação a concentração normal e as plântulas se apresentaram mais vigorosas, quando comparadas aos demais tratamentos de menor crescimento.

Tabela 1 Média da percentagem de enraizamento em plântulas de ipeca do acesso 589, em diferentes concentrações de nitrogênio

Concentrações de nitrogênio	Comprimento de brotos (cm)	Enraizamento (%)
NH_4NO_3 e KNO_3 normal	2,88 A	79,16 A
NH_4NO_3 1/2	2,35 B	55,55 A
NH_4NO_3 1/4	1,94 C	45,83 AB
KNO_3 1/2	1,80 C	77,77 A
KNO_3 1/4	0,84 D	0,00 B

Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Com relação à percentagem de enraizamento (Tabela 1), os tratamentos mais eficientes, foram obtidos na concentração normal e na 1/2 de NH_4NO_3 e KNO_3 , os quais não diferiram estatisticamente



14º Seminário de Iniciação Científica da EMBRAPA
10 e 11 de agosto de 2010
Embrapa Amazônia Oriental, Belém-PA

entre si, atingindo uma média de 79,16%; 77,77% e 55,55% de enraizamento, respectivamente. No entanto, a redução de ambas as fontes de nitrogênio à 1/4 de sua concentração normal não foi favorável ao processo de enraizamento, sendo o KNO_3 o mais limitante, já que nenhuma plântula inoculada nesse tratamento enraizou.

Maldaner et al. (2006), afirmou que os níveis de nutrientes inorgânicos nos substratos de cultivos *in vitro* influenciam vários processos metabólicos nas culturas, apresentando efeito sobre o crescimento e a diferenciação de tecidos. No entanto a redução na concentração pode reduzir o metabolismo da planta, sem afetar sua viabilidade

Conclusão

Quando se dilui o KNO_3 à metade de sua concentração normal, consegue-se diminuir o crescimento dos brotos, aumentando assim o intervalo entre os subcultivos, além de favorecer o desenvolvimento de raízes, obtendo-se, dessa forma, uma melhor conservação *in vitro* do acesso 589 de ipecacuanha.

Referências Bibliográficas

- COSTA, M.P.; PINTO, J.E.B.P.; FRANÇA, S.C.; LAMEIRA, O.A.; CONCEIÇÃO, H.O.; SANTIAGO, E.J.A. Crescimento e teor de emetina em plantas de Ipeca (*Cephaelis ipecacuanha* A. Richard.) obtidas *in vitro* e submetidas às condições de soluções nutritivas em casa-de-vegetação. **Ciênc. agrotec.**, Lavras, v.24, n.1, p.46-53, 2000.
- LAMEIRA, O.A. **Cultivo da Ipecacuanha [Psychotria ipecacuanha (Brot.) Stokes]**. Belém: Embrapa Amazonia Oriental, 2002. 4p (Circular Técnica, 28).
- LEMO, E.E.P.; FERREIRA, M.S.; ALENCAR, L.M.C.; NETO, C.E.R.; ALBUQUERQUE, M.M. Conservação *in vitro* de germoplasma de cana-de-açúcar. **Pesq. agropec. bras.** v. 37, n.10, 2002.
- MALDANER, J.; NICOLOSO, F.T.; SANTOS, E.S.; FLORES, R.; SKREBSKY, E.C. N. **Sacarose e nitrogênio na multiplicação *in vitro* de *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen.** Ciencia Rural, v.36, n.4, jul-ago, 2006.
- MURASHIGE, T. SKOOG, F. A. A revised medium for rapid growth and bioassays with tabacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, v.15, p.473-497, 1962.
- NAGAO, E.O.; PASQUAL, M.; RAMOS, J.D. Efeito da sacarose e do nitrogênio inorgânico sobre a multiplicação “*in vitro*” de brotações de porta-enxerto de Citros. **Bragantina**, Campinas, v.53, n. 1, p. 25-31, 1994.