

Efeito do 2,4-D na Indução de Calos em Paricá a Partir de Segmentos Nodais e Cotiledonares

Iulla Naiff Rabelo de Souza Reis¹, Osmar Alves Lameira², Iracema Maria Castro Coimbra Cordeiro³, Joseane de Nazaré Oliveira Cardoso⁴, Sérgio Augusto Oliveira Alves⁵

Introdução

O paricá (*Schizolobium parahyba* var *amazonicum* (Huber ex Ducke) Barneby) ocorre em floresta primária e secundária de terra firme, de crescimento extremamente rápido [1]. De acordo com Melo [2], a espécie pode fornecer boa matéria-prima para a obtenção de celulose para papel, com fácil branqueamento e excelente resistência obtida com o papel branqueado. Segundo Falesi & Santos [3], a cultura do paricá vem despertando interesse entre produtores rurais e madeireiros devido ao valor comercial da madeira para a produção de laminados de excelente qualidade, como também pelo crescimento rápido da espécie, principalmente nos primeiros anos.

De acordo com Mantell *et al.* [4], calos são definidos como tecidos constituídos por células não diferenciadas, que se desenvolvem como resposta a uma lesão química ou física sob determinadas condições hormonais. Os calos podem ser obtidos a partir de um fragmento de tecido de determinada planta e possuem a capacidade de se diferenciar em tecidos, órgãos e até embriões, podendo regenerar plantas inteiras [5, 6, 7]. Nem todas as células em um explante contribuem para a formação de calos, no entanto, o mais importante é que existem certos tipos de células de calos que são competentes para regenerar estruturas organizadas, enquanto outros tipos de células não parecem ser competentes para expressar a totipotencialidade [8].

O presente trabalho teve como objetivo induzir calos em segmentos nodais e cotiledonares em paricá, na presença de 2,4-D.

Material e métodos

Como fontes de explante foram utilizadas plântulas germinadas *in vitro* com 20 dias de cultivo. Os tratamentos testados foram constituídos de 4 concentrações de 2,4-D (0, 2, 4 e 6 mg.L⁻¹) e 2 fontes de explante (segmento nodal – SN e segmento cotiledonar – SC).

Os segmentos nodais, medindo em torno de 0,5 cm, foram inoculados na posição horizontal, enquanto que segmentos cotiledonares de aproximadamente 0,5 cm² foram inoculados com a superfície adaxial voltada para o meio de cultivo. Ambos os explantes foram inoculados em frascos contendo 40 mL de meio de cultura básico MS [9] com as concentrações de NH₄NO₃ e Fe-EDTA reduzidas a metade (demais componentes em suas concentrações normais), sacarose (3%), ágar (0,6%), pH 5,8, e suplementado com o antioxidante ácido cítrico (0,1%), na presença ou ausência de 2,4-D, e mantidos no escuro em sala de crescimento sob temperatura de 24 ± 1°C.

O delineamento experimental adotado foi inteiramente casualizado, em arranjo fatorial 4 x 2 (4 concentrações de 2,4-D e 2 fontes de explante), com 4 repetições, totalizando 32 unidades experimentais, sendo que cada parcela foi constituída por um frasco contendo 3 explantes. Aos 20 dias após a instalação do experimento, avaliaram-se o percentual de explantes com calos; área dos explantes cobertas por calos, levando em consideração as seguintes notas: 1, 2, 3 e 4 para os explantes que apresentavam, respectivamente, 25, 50, 75 e 100% da área coberta com calos; a textura (friável ou compacta); coloração dos calos e oxidação. 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. Para a análise estatística, os dados de percentual de explantes com calos foram transformados para arcsen (X/100)^{1/2}.

Resultados e Discussão

A formação de calos iniciou-se a partir de décimo dia de cultivo nos dois explantes. Conforme a Figura 1, não houve indução de calos em segmentos cotiledonares na ausência de reguladores de crescimento, enquanto que 90% dos segmentos nodais formaram calos sob essa mesma condição.

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

5. Mestre em Botânica Tropical, Museu Emílio Goeldi. Av. Tancredo Neves, 1901, Terra Firme, Belém-PA, CEP 66077-530.

Essa diferença de resposta entre explantes extraídos da mesma planta é justificada pelo fato de que segmentos nodais apresentam maior atividade meristemática em relação aos cotilédones, que contêm maior número de células diferenciadas.

Lima [10] não verificou formação de calos em sangra d'água (*Croton urucurana* Baill) na ausência de 2,4-D, enquanto que Mesquita [11] constatou que na ausência de reguladores de crescimento, 35% dos explantes foliares lechieira (*Litchi chinensis* Sonn.) formaram calos.

Segundo Watt [12], a indução de calos de *Eucalyptus* foi obtida em meio MS com concentrações de 1 a 5 mg.L⁻¹ de 2,4-D, na ausência de luz. Nos estudos de Santos [13] sobre *Coffea arabica* e *Coffea canephora* verificou-se que para os explantes nodais, a produção de calos não apresentou diferença significativa nas diferentes concentrações de 2,4-D utilizadas (0; 0,5 e 1 mg.L⁻¹). Na investigação de Goleniowski *et al.* [14] com *Ambrosia tenuifolia*, observaram que concentrações de 2,4-D em meio de cultura entre 0,02 e 2 mg.L⁻¹ resultaram em boa produção de calos, e doses mais elevadas foram menos eficientes. Rodrigues [15] induziu calos em diversos tipos de explantes (segmentos nodais, ápices, discos foliares, epicólitos e cotilédones) de cupuaçu (*Theobroma grandiflorum* Willdenow wx. Sprengel) e verificou que os cotilédones foram os mais responsivos à formação de calos na presença de 2,4-D.

A concentração de 6 mg.L⁻¹ de 2,4-D proporcionou maior cobertura por calos (71%), diferindo estatisticamente dos demais tratamentos. Em relação aos segmentos cotiledonares não foi observada diferença significativa entre os tratamentos em que houve suplementação de 2,4-D (Figura 2).

De acordo com a Figura 2, segmentos nodais apresentaram maior área coberta por calos em todas as concentrações de 2,4-D estudadas, sendo significativamente superiores aos segmentos cotiledonares.

Mesquita [11] constatou que na concentração de 4 mg.L⁻¹ de 2,4-D a quantidade de calos formada foi bastante reduzida em lechieira, e que a ocorrência de calos com maior volume foi obtida quando se utilizou concentrações de 2 e 6 mg.L⁻¹ 2,4-D, respectivamente. Segundo Soares [16], a concentração de 3 mg.L⁻¹ de 2,4-D foi a mais eficiente em relação a maior área coberta por calos (80%) em *Inga vera* subsp. *Affinis*. Na pesquisa de Santos [17] sobre indução de calos em salix (*Salix humboldtiana* Willd), o maior percentual de calos friáveis (90%) foi obtido na presença de 6 mg.L⁻¹ de 2,4-D, sendo que concentrações mais elevadas reduziram o percentual de calos formados.

Os calos formados em explantes de paricá, iniciados a partir do quinto dia de cultivo apresentaram-se translúcidos até o décimo quinto dia, assumindo no momento da avaliação coloração bege, e a partir daí cores mais escuras até a total oxidação após 35 dias de inoculação. Este fato pode ter ocorrido em função da

exaustão de nutrientes ou liberação de substâncias fenólicas no meio de cultivo, sendo que a transferência para novo meio de cultura deve ser feita em torno de 20 dias após a inoculação. Quanto à textura, os calos foram predominantemente friáveis.

Referências

- [1] DUCKE, A. 1939. As leguminosas da Amazônia brasileira. Serviço floresta. Ministério da Agricultura. Serviço de Publicidade Agrícola. Rio de Janeiro. p.88.
- [2] MELO, C. F. M. de. 1973. Relatório ao Instituto Brasileiro de Desenvolvimento Florestal sobre a viabilidade do aproveitamento papelheiro do Paricá (*Schizolobium amazonicum*). Belém: EMBRAPA-CPATU. 6 p.
- [3] FALESI, I. C., SANTOS, J. C. dos. 1996. Produção de mudas de paricá (*Schizolobium amazonicum* Huber). Belém: FCAP. 16 p.
- [4] MANTELL, S.H.; MATTHEWS, J.A.; MCKEE, R.A. 1994. Princípios de biotecnologia em plantas: uma introdução à engenharia genética. 344p.
- [5] PIERIK, R.L.M. 1990. Cultivo *in vitro* de las plantas superiores. Martins Nijoff. 326p.
- [6] TORRES, A.C.; CALDAS, L.S. 1990. Técnicas e aplicações de cultura de tecidos de plantas. Brasília: ABCTP/EMBRAPA. 433p.
- [7] PAIVA, R.; PAIVA, P.D. O. 2001. Textos acadêmicos: cultura de tecidos. Lavras: FAEPE/UFLA. 97p.
- [8] PINTO, J.E.B.P.; LAMEIRA, O.L. 2001. Micropropagação e metabólitos secundários *in vitro* de plantas medicinais. Lavras: UFLA/FAEPE. 102p.
- [9] 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.
- [10] LIMA, E.C. 2004. Micropropagação, calogênese e anatomia foliar de sangra d'água (*Croton urucurana* Baill). Dissertação de Mestrado, Curso e Pós-graduação em Agronomia, UFLA, Lavras, 105p.
- [11] MESQUITA, A.C. 1999. Estabelecimento *in vitro* de lechieira (*Litchi chinensis* Sonn) através do cultivo de segmentos foliares e nodais e análise bioquímica de calos. Dissertação de Mestrado, Curso e Pós-graduação em Agronomia, UFLA, Lavras, 67p.
- [12] WATT, M.P.; BLAKEWAY, R.; TERMIGNONI, R.; JAIN, S.M. 1999. Somatic embryogenesis in *Eucalyptus grandis* and *E. dunni*. In: JAIN, S.M.; GUPTA, P.K.; NEWTON, R.J. (Ed.). Somatic embryogenesis in woody plants. Boston: USA, v.5, p.63-78.
- [13] SANTOS, C.G. 2001. Micropropagação e caracterização bioquímico-anatômica em *Coffea arabica* e *Coffea canephora*. Dissertação de Mestrado, Curso e Pós-graduação em Agronomia, UFLA, Lavras, 110p.
- [14] GOLENIOWSKI, M.E.; SILVA, G.L.; TRIPPI, V.S. 1992. Effect of phytohormones on sesquiterpene lactone production in callus culture of *Ambrosia tenuifolia*. *Phytochemistry*, Oxford, v.31, n.7, p.2359-2361.
- [15] RODRIGUES, E.F. 2000. Desenvolvimento de eixo embrionário *in vitro* e calogênese de cupuaçu (*Theobroma grandiflorum* Willdenow wx. Sprengel) e estabelecimento do ápice caulinar de bacuri (*Platonia insignis* Martius). Tese de Doutorado, Curso e Pós-graduação em Agronomia, UNESP, Jaboticabal, 60p.
- [16] 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 e Pós-graduação em Agronomia, UFLA, Lavras, 90p.
- [17] SANTOS, B.R.; PAIVA, R.; MARTINOTTO, C.; NOGUEIRA, R.C.; PAIVA, P.D. de O. 2005. Indução de calos friáveis em explantes foliares de *Salix* (*Salix humboldtiana* Willd). *Ciência Rural*, Santa Maria, v.35, n.3, p.510-514.

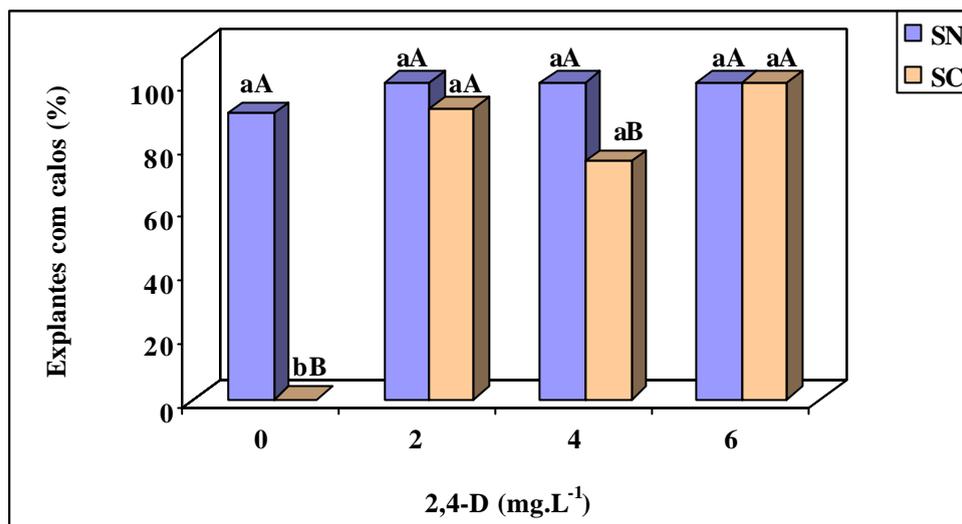


Figura 1 – Percentual de segmentos nodais (SN) e cotiledonares (SC) que formaram calos, em meio MS adicionado de 2,4-D. Embrapa Amazônia Oriental, Belém-PA, 2007. Letras distintas entre si comparam: minúsculas, as médias entre concentrações de 2,4-D e maiúsculas, as médias entre explantes, ao nível de 5% de probabilidade pelo Teste de Tukey.

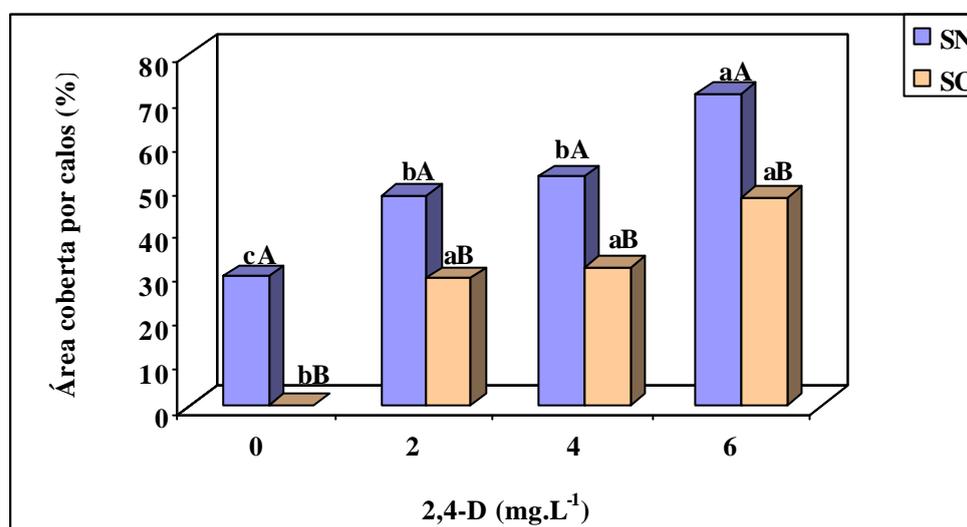


Figura 2 – Área coberta por calos em segmentos nodais (SN) e cotiledonares (SC) inoculados em meio MS adicionado de 2,4-D. Embrapa Amazônia Oriental, Belém-PA, 2007. Letras distintas entre si comparam minúsculas, as médias entre concentrações de 2,4-D e maiúsculas, as médias entre explantes, ao nível de 5% de probabilidade pelo Teste de Tukey.