



Indução *In Vitro* de Múltiplos Brotos em Eixos Embrionários de *Arachis hypogaea* L. Utilizando-se Citocinina 6-Benzilaminopurina(BAP)

Julita Maria Frota Chagas Carvalho¹
Juliana Pereira de Castro²
Cristiane Miranda Furtado³
Taís de Moraes Falleiro Suassuna⁴
Pollyana Karla da Silva⁵
Tatiana da Silva Santos⁶
José Wellington dos Santos⁷

O amendoim cultivado (*Arachis hypogaea* L.) é uma das leguminosas produtoras de grãos mais plantada em todo o mundo, devido ao seu alto conteúdo de proteína e óleos insaturados. É cultivado extensivamente na China, Índia e Estados Unidos, além de diversos países da América Latina e África (CONAB, 2002).

O cultivo de tecidos se baseia principalmente no aproveitamento da totipotência das células vegetais, ou seja, na capacidade de produzir órgãos, como brotos e/ou raízes (organogênese) ou embriões somáticos, que regenerem uma planta completa (embriogênese somática) em meio de cultura favorável, podendo ser iniciado com qualquer parte da planta: gemas, raízes, folhas, células isoladas, protoplastos, semente, embrião zigótico, antera etc. A escolha de um ou outro explante dependerá dos objetivos desejados e da disponibilidade e capacidade de resposta do material (CARVALHO, 1999).

A técnica de cultivo *in vitro* de embriões zigóticos vem sendo praticada pelos melhoristas de plantas há quase um século (CARTAXO, 2003), usada para regenerar embriões de sementes sem capacidade de germinação, sendo utilizada como fonte de explantes com tecido de elevada totipotência (HU et al., 1998).

A citocinina 6-bezilaminopurina (BAP) é muito eficaz para promover multiplicação em diversas espécies e parece ser a citocinina por excelência para multiplicação de partes aéreas e indução de gemas adventícias (HU e WANG, 1983). Mansur (2001), ao estudar a regeneração de espécies silvestres de amendoim utilizando o hormônio BAP na concentração de 1,9mgL⁻¹ e o explante eixo embrionário, obteve alta frequência de regeneração, com formação satisfatória de brotos.

O conhecimento da capacidade de regeneração de

¹ Orientadora, Eng. Agr. Dr. em Biotecnologia, Embrapa Algodão, Rua Osvaldo Cruz, 1143, Centenário, CEP 58107-720 Campina Grande, PB. E-mail: julita@cnpa.embrapa.br.

² Graduada em Ciências Biológicas UEPB, Bolsista CNPQ nível 1A.

³ Mestranda da UFRN.

⁴ Eng. Agr. Dr. em Genética e Melhoramento de plantas, E-mail: tais@cnpa.embrapa.br

⁵ Graduada em Ciências Biológicas UEPB, Bolsista CNPQ nível 1A.

⁶ Graduada em Estatística UEPB.

⁷ Agr. Ms. em Estatística, E-mail: jwsantos@cnpa.embrapa.br

plantas de amendoim, via indução de superbrotamento, poderá auxiliar em distintas etapas de conservação, avaliação ou multiplicação de germoplasma da espécie.

Objetivou-se, com este trabalho, induzir a formação de múltiplos brotos em eixos embrionários de amendoim (cultivar BR-1) utilizando-se a citocinina 6-benzilaminopurina (BAP), determinando o melhor meio nutritivo suplementado com o fitoregulador em diferentes concentrações, para a formação de múltiplos brotos de amendoim.

O trabalho foi realizado no Laboratório de Biotecnologia da Embrapa Algodão. Sementes da cultivar BR-1 foram desinfestadas em solução de NaOCl a 1,8% e uma gota de tween 20 permanecendo sob agitação durante vinte minutos; em seguida, sob condição de fluxo laminar, o material vegetal foi lavado quatro vezes em água bidestilada estéril, na qual permaneceu imerso durante 24 horas na última água bidestilada estéril; posteriormente, foram excisados das sementes, em câmara de fluxo laminar, os eixos embrionários, e inoculados em meio MS (MURASHIGE e SKOOG, 1962) suplementado com 0,0; 0,5; 1; 2 e 3 mgL⁻¹ de BAP.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com 15 repetições e um eixo embrionário por tubo. As avaliações foram realizadas após 28 dias de cultivo através do critério número de brotos por explante; após a coleta dos dados procedeu-se à análise de variância, com os dados transformados em $y = \sqrt{x+1}$. A comparação das médias foi feita pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade (GOMES, 1985).

A partir da indução de superbrotamento da variedade de amendoim BR-1 (Tabela 1), constatou-se que o eixo embrionário produziu múltiplos brotos, provavelmente, devido ao fato de que embriões cultivados são explantes com tecido de elevada totipotência (HU et al., 1998) e, quando inoculados em meio suplementado com BAP, segundo Hu e Wang (1983), induzem à formação de grandes números de brotos e alta taxa de reprodução em muitos sistemas de micropopagação.

Pôde-se observar, ainda, que os meios de cultura suplementados com o fitoregulador BAP nas

concentrações de 0,5; 1; 2 mgL⁻¹ resultaram em menos brotações, além de não apresentarem diferenças significativas entre si, enquanto no meio contendo 3 mgL⁻¹ de BAP foram constatando os maiores índices de brotos por explante. Mansur (2001), ao estudar a regeneração de espécies silvestres de amendoim utilizando este mesmo fitoregulador, notou formação de múltiplos brotos na maioria das espécies estudadas.

Tabela 1. Valores médios da indução de múltiplos brotos em eixos embrionários da cultivar de amendoim Br-1, utilizando-se citocinina 6-benzilaminopurina (BAP)

Tratamento	Nº de brotos/explante
T0-MS	1,41c
T1-MS + 0,5mg.L ⁻¹	1,80b
T2-MS + 1mg.L ⁻¹	1,83b
T3-MS + 2mg.L ⁻¹	1,88b
T4-MS + 3mg.L ⁻¹	2,19a
F _{tratamento}	20,83**
CV%	30,41

Médias seguidas das mesmas letras não são significativamente diferentes entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade

** Significativo(p<0,01) pelo testeF

Conclusão

- O meio de cultivo MS suplementado com citocinina 6-bezilaminopurina (BAP) induz à formação de múltiplos brotos em eixos embrionários
- O maior número de brotos foi obtido em meio MS suplementado com 3 mg/L⁻¹ de BAP

Referências Bibliográficas

- CARTAXO, G.M.C. **Cultivo *in vitro* de embrião zigótico e crioconservação de sementes de girassol (*Helianthus annuus* L.)** 2003, 60f. Monografia (Licenciatura em Ciências Biológicas)- Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 2003.
- CARVALHO, J.M.F.C. **Técnicas de micropopagação**. Campina Grande: Embrapa CNPA, 1999. 39p (Embrapa CNPA. Documento, 64).
- CONAB. **Conjuntura/ Semanal**.Especiais 16-2009. Brasília, 2002.

GOMES, F.P. **Curso de estatística experimental**. 11 ed. Piracicaba: Nobel, 1985. 466p

HU, C.Y.; WANG, P.J. Meristem, shoot tip, and bud cultures. In EVANS, D.A.; SHARP, W.R.; AMMIRATO, P.V. YAMADA, Y., (ed) **Handbook of plant cell culture**. New York: Macmillan, 1983.v.1, p.177-227.

HU, C.Y.; FERREIRA, A.G. Cultura de Embriões. In: TORRES, A.C.; CALDAS, L.S.; BUSO, J.A. **Cultura de tecido e transformação Genética**. Brasília:

Embrapa-SPI / Embrapa-CNPH, 1908 v.1. p. 371-393.

MANSUR, E. Resgate de acessos inviáveis e preservação *in vitro* de germoplasma de *Arachis*. In: SIMPÓSIO DE RECURSOS GENÉTICOS PARA A AMÉRICA LATINA E CARIBE, 3. 2001, Londrina. **Anais...** Londrina: IAPAR, 2001.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F.A. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. **Physiologia Plantarum**, v. 15, p. 473-497, 1962.

Comunicado Técnico, 276

Exemplares desta edição podem ser adquiridos na:
Embrapa Algodão
Rua Osvaldo Cruz, 1143 Centenário, CP 174
58107-720 Campina Grande, PB
Fone: (83) 3315 4300 Fax: (83) 3315 4367
e-mail: sac@cnpa.embrapa.br
1ª Edição
Tiragem: 500

**Ministério da Agricultura,
Pecuária e Abastecimento**



Comitê de Publicações

Presidente: Napoleão Esberard de Macêdo Beltrão
Secretária Executiva: Nivia M.S. Gomes
Membros: Cristina Schetino Bastos
Fábio Akiyoshi Suinaga
Francisco das Chagas Vidal Neto
José Américo Bordini do Amaral
José Wellington dos Santos
Luiz Paulo de Carvalho
Nair Helena Castro Arriel
Nelson Dias Suassuna

Expedientes: Supervisor Editorial: Nivia M.S. Gomes
Revisão de Texto: Nisia Luciano Leão
Tratamento das ilustrações: Oriel Santana Barbosa
Editoração Eletrônica: Oriel Santana Barbosa