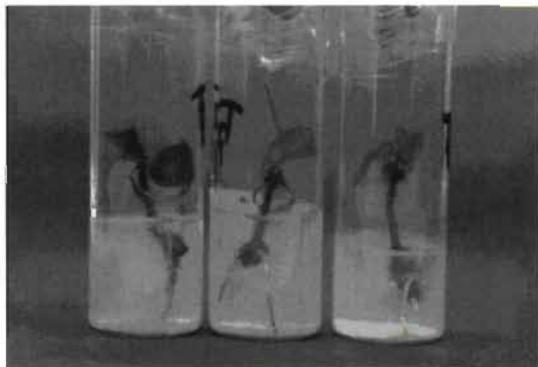


Efeito de Reguladores de Crescimento na Indução de Brotações *In Vitro* de Mogno





ISSN 1676-5265

Dezembro, 2005

*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Centro de Pesquisa Agroflorestal da Amazônia Oriental
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*

Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 51

Efeito de Reguladores de Crescimento na Indução de Brotações *In Vitro* de Mogno

Osmar Alves Lameira
Iracema Maria Castro Coimbra Cordeiro
Alane Andreza S. de Meneses

Belém, PA
2005

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Amazônia Oriental

Trav. Dr. Enéas Pinheiro, s/n
Caixa Postal, 48 CEP: 66095-100 - Belém, PA
Fone: (91) 3204-1000
Fax: (91) 3276-9845
E-mail: sac@cpatu.embrapa.br

Comitê de Publicações

Presidente: Leopoldo Brito Teixeira
Secretário-Executivo: Francisco José Câmara Figueirêdo
Membros: Izabel Cristina D. Brandão
José Furlan Júnior
Lucilda Maria Sousa de Matos
Moacyr Bernardino Dias Filho
Vladimir Bonfim Santos
Walkymário de Paulo Lemos

Revisores Técnicos

Jonny Everson S. Pereira - Embrapa Acre
Luiz Pedro B. Cid - Cenargen

Supervisor editorial: Regina Alves Rodrigues
Supervisão gráfica: Guilherme Leopoldo da Costa Fernandes
Revisão de texto: Regina Alves Rodrigues
Normalização bibliográfica: Regina Alves Rodrigues
Editoração eletrônica: Francisco José Farias Pereira

1ª edição

1ª impressão (2005): 300 tiragem

Todos os direitos reservados.

A reprodução não-autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei no 9.610).

Lameira, Osmar Alves.

Efeito de reguladores de crescimento na indução de brotações *in vitro* de mogno / por Osmar Alves Lameira, Iracema Maria Castro Coimbra Cordeiro e Alane Andreza S. de Meneses - Belém: Embrapa Amazônia Oriental, 2005.

15p.:il; 21cm. - (Embrapa Amazônia Oriental. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 51).

ISSN 1676 -5265

1. Cultura de tecido. 2. Mogno,. 3. Brotação *in vitro*. 4. Regulador de Crescimento. 5. Propagação. 6. Indução de brotação. I. Cordeiro, Iracema Maria Castro Coimbra. II. Meneses, Andreza S. de. III. Título. IV. Série.

CDD - 635.05

Sumário

Resumo	5
Abstract	7
Introdução	8
Material e Métodos	9
Resultados e Discussão	9
Conclusão	13
Referências Bibliográficas	14

Efeito de Reguladores de Crescimento na Indução de Brotações *In Vitro* de Mogno

Osmar Alves Lameira¹

Iracema Maria Castro Coimbra Cordeiro²

Alane Andreza S. de Meneses³

Resumo

O presente trabalho teve como objetivo comparar concentrações de reguladores de crescimento na indução de brotações em explantes de mogno (*Swietenia macrophylla* King). Como explantes foram utilizados segmentos caulinar apical e nodal com aproximadamente 20 mm de comprimento, retirados de plântulas germinadas *in vitro*. O meio utilizado foi MS, contendo 3% de sacarose e 0,7% de ágar, suplementado com 0,0; 0,01; 0,5 e 1,0 mg.L⁻¹ de ANA e 1,0; 2,0; 3,0; e 4,0 mg.L⁻¹ de BAP. O meio de cultura foi mantido em sala de crescimento sob condições de 25 ± 1 °C em fotoperíodo de 16 horas de luz proveniente de tubos fluorescentes com irradiância de 52 mmol.m⁻².s⁻¹. O tratamento contendo 1,0mg.L⁻¹ de BAP + 0,01mg.L⁻¹ de ANA e o segmento nodal como explante foram os mais eficientes para a indução de brotações *in vitro*.

Termos para indexação: *Swietenia macrophylla*, cultura de tecidos, segmento caulinar.

¹Eng. Agrôn., D. Sc., Pesquisador da Embrapa Amazônia Oriental, Trav. Dr. Enéas Pinheiro, s/n, Caixa Postal, 48, CEP: 66095-100, Belém, PA, E-mail:

²Eng. Ftal., doutoranda Universidade Federal Rural da Amazônia.

³Graduanda do Curso de Eng. Ftal. da UFRA.

Effect of Growth Regulators on Shoots Induction In Vitro of Mahogany

Abstract

The present work aimed to compare concentrations of growth regulators for shoots induction in explants of mahogany (*Swietenia macrophylla* King). As explants were used apical and nodal segments with approximately 20 mm length, obtained from plantlets germinated in vitro. The medium used was MS with 3% of sucrose and 0,7% agar supplemented with 0,0; 0,01; 0,5 and 1,0 mg.L⁻¹ of NAA and 1,0; 2,0; 3,0; and 4,0 mg.L⁻¹ of BAP. The cultures were maintained at 25 ± 1 °C, with 16-hour photoperiod and irradiance of 52 mmol.m⁻².s⁻¹ provided by cool white fluorescent lamp. The treatment containing 1,0mg.L⁻¹ of BAP + 0,01mg.L⁻¹ of NAA and with explants nodal segments were more efficient for shoots induction in vitro.

Index terms: *Swietenia macrophylla*, tissue culture, caulinar segment.

Introdução

As dificuldades de regeneração natural e a forte pressão de exploração que vem sofrendo o mogno (*Swietenia macrophylla* King), nas áreas de sua ocorrência natural, têm levado a estudos de novas alternativas para sua propagação.

A propagação do mogno por meio de sementes esbarra em problemas como dificuldade de coleta, principalmente, pelo elevado porte arbóreo e pelo fato das sementes perderem sua viabilidade em curto espaço de tempo. A micropropagação do mogno pode ser uma alternativa que auxilia a preservação e a produção de material genético de alta qualidade (Lameira et al. 2005).

Pelas dificuldades de descontaminação de explantes, provenientes de campo, tem-se preferido a utilização de explantes oriundos de sementes germinadas em condições assépticas visando à determinação de protocolos de micropropagação (Pinto et al. 1994; Campos & Pais, 1996; Coelho, 1999; Del Ponte, 1999).

As auxinas e citocininas são os mais importantes reguladores de crescimento para a indução de morfogênese em tecidos e órgãos de plantas (George & Sherrington, 1984). Estes dois reguladores, segundo esses autores, são regulados pelas suas interações, visto que concentrações relativamente altas de auxinas favorecem a iniciação radicular, enquanto reprimem a formação de gemas. A ação inversa, ou seja, altas doses de citocininas induzem a iniciação de gemas e suprimem o enraizamento (George & Sherrington, 1984).

A citocinina 6-benzilaminopurina (BAP) é a mais utilizada, induzindo a formação de grande número de brotos e alta taxa de multiplicação em trabalhos de micropropagação (George, 1994). No entanto, o ácido naftaleno acético (ANA) e o ácido indolbutírico (AIB) são as auxinas comumente utilizadas no meio de multiplicação de muitas espécies (Leite, 1992; Huang et al. 1994; Campos & Pais, 1996).

O presente trabalho teve como objetivo comparar concentrações de BAP e ANA, em diferentes tipos de explantes na indução de brotações *in vitro* de mogno.

Material e Métodos

As atividades foram realizadas no Laboratório de Recursos Genéticos e Biotecnologia da Embrapa Amazônia Oriental, Belém, PA, utilizando explantes de plântulas assépticas cultivadas *in vitro*, conforme metodologia de Lameira et al. (2005).

O meio de cultura básico utilizado foi MS (Murashige & Skoog, 1962) com 3% de sacarose e solidificado com 0,7% de ágar. O pH do meio foi ajustado para 5,8 antes da autoclavagem, por 15 minutos, à temperatura de 121 °C. Os fatores utilizados foram tipos de explante (apical e nodal) e os reguladores de crescimento ANA nas concentrações de 0,0; 0,01; 0,5 e 1,0 mgL⁻¹ e BAP nas concentrações de 1,0; 2,0; 3,0 e 4,0 mgL⁻¹. Em câmara de fluxo laminar, previamente esterelizada com álcool a 70%, os explantes com 20 mm de comprimento foram inoculadas em tubos de ensaio (100x20 mm) contendo 15 ml de meio, e o segmento nodal por causa do seu tamanho continha de uma a duas gemas. Após a inoculação, os explantes foram mantidos em sala de crescimento sob condições de 25 ± 1 °C, fotoperíodo de 16 horas de luz branco fria e intensidade luminosa de 52 mmol.m⁻².s⁻¹ de irradiância.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado em esquema fatorial, envolvendo dois tipos de explantes e quatro concentrações de BAP e ANA com quatro repetições, sendo cada unidade experimental constituída de cinco tubos de ensaio contendo um explante em cada. As variáveis analisadas foram número e comprimento de brotos maior que 0,5 cm e número de brotos menor ou igual a 0,5 cm, ambas transformadas em $\sqrt{x + 0,5}$, e avaliadas durante 30 dias. As médias foram comparadas pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade.

Resultados e Discussão

Na Tabela 1, os dados da análise de variância mostram que para número e comprimento de brotações houve significância para o fator explante, interação entre os fatores ANA e BAP, assim como interação entre os três fatores testados. Não ocorreu significância para os reguladores de crescimento e nem para a interação entre os reguladores de crescimento e o explante.

Tabela 1. Análise da variação do efeito ANA e BAP para número e comprimento de brotações em explantes de mogno (*Swietenia macrophylla*). Embrapa Amazônia Oriental, Belém, PA, 2005.

Causa da variação	GL	QM	
		Número de brotações ¹	Comprimento
ANA (A)	3	0,076 ns	0,054 ns
BAP (B)	3	0,26 ns	0,18 ns
Explante (C)	1	22,74 **	18,45**
AxB	9	0,79 **	0,68**
AxC	3	0,056 ns	0,043 ns
BxC	3	0,0076 ns	0,0072 ns
AxBxC	9	1,22 **	1,13**
Resíduo	96	0,133	0,085
Total	127		
C.V. (%)		19,1	18,3

ns- Não-Significativo a 5% de probabilidade, pelo teste F.

** Significativo a 1% de probabilidade, pelo teste F.

1- Dados transformados em $\sqrt{x + 0,5}$.

Segmentos nodais foram mais eficientes que segmentos apicais como explante para número e comprimento de brotos (Tabela 2). Acredita-se que a formação de brotações pequenas e em menor número no ápice é causada pela plântula de mogno, quando emergida, apresentar poucas gemas foliares, muito próximas umas das outras e com epicótilo fino na zona apical. Estas observações estão de acordo com vários autores que verificaram que o segmento nodal é o explante mais eficiente para propagação de espécies lenhosas, em relação ao número de brotações (Pinto et al. 1994; Quezada, 1996; Coelho, 1999; Del Ponte, 1999). Sudarsono & Goldy (1991) verificaram para *Vitis rotundifolia* que o maior número de brotações surgiram em explantes basais, em decorrência deste explante possuir maior número de gemas axilares pré-existentis.

Tabela 2. Média de número e comprimento de brotos formados em segmentos nodal e apical de mogno (*Swietenia macrophylla*), após 30 dias de cultivo. Embrapa Amazônia Oriental, Belém, PA, 2005.

Tipo de explante	Número de brotos	Comprimento (cm)
segmento nodal	4,9a	2,5a
segmento apical	1,7b	0,6b

Médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem significativamente pelo teste Duncan a 5% de probabilidade.

Na Fig. 1, demonstra-se a interação entre todos os níveis de ANA e BAP em relação ao segmento nodal, uma vez que pela análise de variância houve somente interação destes reguladores para este explante. Quando o explante nodal foi submetido à auxina ANA na concentração de 0,5 mgL⁻¹, foi observado que com o aumento na concentração de BAP o número de brotações aumentou até atingir o máximo de 6,6 brotações em 3,0 mgL⁻¹, diminuindo em seguida. O mesmo comportamento foi verificado para ANA a 0,01 mgL⁻¹, porém formando 2,5 brotações. Para as outras duas concentrações de ANA houve comportamento diferente, visto que ambas mantiveram-se constantes quando combinadas com as concentrações de 1,0 e 2,0 mgL⁻¹ de BAP, vindo a diminuir acentuadamente quando houve a combinação com a concentração de 3,0 mgL⁻¹, enquanto que na ausência de ANA foi observado aumento no número de brotações para o último nível de BAP.

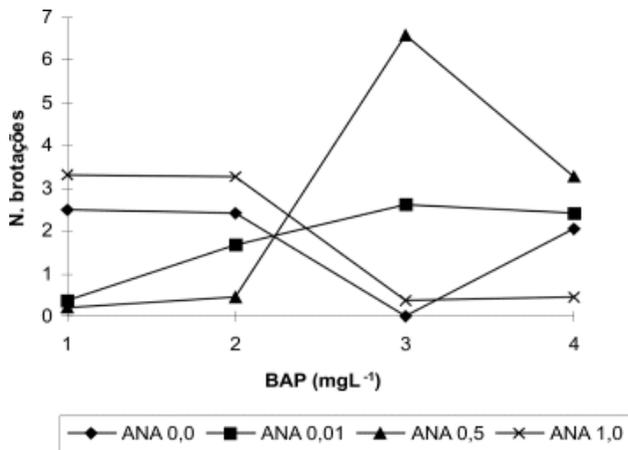


Fig. 1. Número de brotações formados em segmento nodal de mogno (*Swietenia macrophylla*) cultivado *in vitro*, nas diferentes concentrações de ANA e BAP. Embrapa Amazônia Oriental, Belém, PA, 2005.

Durante as avaliações, foram observadas que as brotações surgidas nos segmentos apicais não se desenvolviam, dificultando a contagem do número de brotações, bem como o comprimento dos brotos.

Quezada (1996) ao utilizar BAP em diferentes concentrações, para multiplicação de macieira (*Malus domestica*), verificou que o número de brotações surgidas crescia até 3,5 mg.L⁻¹, atingindo o máximo e em seguida decrescia. O mesmo foi observado por Leite (1995) ao testar esta mesma citocinina em pereira (*Pyrus communis*), cultivar Bartlett.

Para variável número de brotos menor ou igual a 5 cm, os dados foram coletados somente em segmentos nodais, uma vez que não houve formação destas estruturas no segmento apical. Os resultados mostram que ocorreu interação entre as concentrações de ANA e BAP, em 5% de probabilidade.

A análise de regressão mostrou-se significativa ($P < 0,05$) para os níveis de ANA, dentro da concentração de BAP (4,0 mg.L⁻¹) e também nos níveis de BAP, dentro da concentração de ANA (0,01 mg.L⁻¹). Para ambas interações, a regressão mostra um comportamento linear decrescente. O maior número de brotos ocorreu na ausência de ANA (Fig. 2A), enquanto que na Fig. 2B é demonstrado que o número de brotos decresceu com o aumento da concentração de BAP.

O tratamento que induziu maior número de brotos foi a combinação de 0,01 mg.L⁻¹ de ANA com a menor concentração de 1,0 mg.L⁻¹ de BAP, alcançando em média 4,7 brotos (Fig. 2B.). Foi observado que na combinação 4,0 mg.L⁻¹ de BAP com 0,01 mg.L⁻¹ de ANA, ocorreu redução no número médio de brotos de 3 para 1,2 (Fig. 2A).

Esses resultados evidenciam que a formação de brotos nos segmentos nodais de mogno está relacionada com a baixa concentração de BAP e que se faz necessário à presença de baixa concentração de ANA no meio de multiplicação. Esses resultados são discordantes de Coelho (1999), que obteve maior número de multibrotações em segmentos nodais de *Pterodon pubescens* (Benth.) Benth., árvore típica dos cerrados, na concentração de 1,0 mg.L⁻¹ de BAP e na ausência de ANA. Embora nem sempre sejam necessárias no meio de multiplicação, as auxinas são utilizadas no intuito de estimular o crescimento das partes aéreas (Quoirin & Lepoivre, 1974).

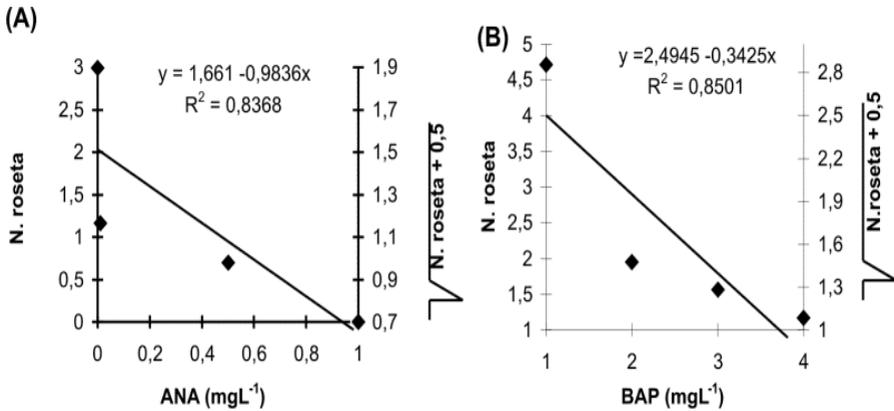


Fig. 2. Efeito da concentração de ANA e BAP na indução de rosetas em segmento nodal de mogno (*Swietenia macrophylla*). (A)- Níveis de ANA dentro de BAP (4,0 mg.L⁻¹); (B)- Níveis de BAP dentro de ANA (0,01 mg.L⁻¹). Embrapa Amazônia Oriental, Belém, PA, 2005.

A formação de brotos ocorreu pelo fato de que a concentração de auxina no meio de multiplicação, freqüentemente, é baixa em relação à concentração de citocinina, para manter um balanço auxina/citocinina menor que um. Concentrações excessivas de auxina podem inibir a multiplicação e favorecer o enraizamento ou formação de calo (Grattapaglia & Machado, 1998). As brotações obtidas foram enraizadas em meio com metade dos sais básicos de MS, suplementado com 2,0 mgL⁻¹ de ANA e aclimatadas em casa de vegetação.

Conclusão

O tratamento contendo 1,0 mgL⁻¹ de BAP + 0,01 mgL⁻¹ de ANA é o mais eficiente na indução de brotações *in vitro* de mogno, quando é utilizado o segmento nodal como fonte de explante.

Referências Bibliográficas

CAMPOS, P. S., PAIS, M. S. *In vitro* micropropagation of the macarronesiar evergreen tree *Persea indica* (L.) K, Spreng. **In vitro Cellular Developmental Biology**, v. 32, p.184-189, jul./sep. 1996.

COELHO, M. C. F. **Germinação de sementes e propagação *in vitro* de sucupira branca [*Pterodon pubescens* (Benth.) Benth.]**. Lavras: UFLA, 1999. 119f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia)- Curso de pós-graduação em fitotecnia, UFLA, 1999.

DEL PONTE, E. M. **Micropropagação de *Eucalyptus globulus ssp. Globulus* Labill.**: Pelotas/RS. Pelotas: Universidade Federal de Pelotas, 1999. 47f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal)- Curso de Pós-graduação em Agronomia, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 1999.

GEORGE, E. F.; SHERRINGTON, P. D. **Plant propagation by tissue culture**. Eversley: Exegetics, 1984. 709p.

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J.A. (Ed.). **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília, DF: Embrapa-SPI: Embrapa-CNPq, 1998. p. 183-260.

HUANG, F. H.; AL-KHAYRI, J. M.; GBUR, E. E. Micropropagation of *Acacia mearnsii*. **In Vitro Cellular Developmental Biology**, v.30, p.70-74, 1994.

LAMEIRA, O. A.; LOPES, S. C.; NOGUEIRA, R. C.; CORDEIRO, I. M. C. C.; PINTO, J. E. B. P.; REIS, L. R. S. Efeito de diferentes concentrações de reguladores de crescimento sobre a micropropagação de mogno (*Swietenia macrophylla* King) por meio de explantes juvenis. **Plant Cell Culture Micropropagation**, v.1, n.2, p.53-58, 2005.

LEITE, D. **Micropropagação de pereira (*Pyrus spp.*) cultivar Carrick**. Pelotas: Universidade Federal de Pelotas, 1992. 78f. Dissertação (Mestrado em Fruticultura) - Curso de Pós-graduação em Agronomia, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 1992.

LEITE, G. B. **Efeito de reguladores de crescimento, substrato, sacarose e intensidade luminosa na micropropagação de pereira (*Pyrus communis* L.) cv. Bartlett e do clone OHxF97.** Pelotas: Universidade Federal de Pelotas, 1995. 78f. Dissertação (Mestrado em Fruticultura) - Curso de Pós-graduação em Agronomia, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 1995.

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

PINTO, J. E. B. P.; ARELLO, E. F.; PINTO, C. A. B. P. Uso de diferentes explantes e concentrações de benzilaminopurina na multiplicação *in vitro* de brotos de *Kielmeyera coriacea*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 29, n. 6, p. 867-873, jun. 1994.

QUEZADA, A. C. **Micropropagação da macieira (*Malus domestica* Borkh) cv. Fred Hough.** Pelotas: Universidade Federal de Pelotas, 1996. 82f. Dissertação (Mestrado em Fruticultura) - Curso de Pós-graduação em Agronomia, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 1996.

QUOIRIN, M.; LEPOIVRE, P. Etude de milieux adaptés aux cultures *in vitro* de *Prunus*. **Acta Horticulture**, v.12, p.165-171, 1974.

SUDARSONO, R.; GOLDY, R. G. Growth regulator and axillary bud position effects on *in vitro* establishment of *Vitis rotundifolia*. **HortScience**, v.26, n.3, p.304-307, 1991.

Embrapa

Amazônia Oriental

CGPE 5982

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA,
PECUÁRIA E ABASTECIMENTO

