



# MULTIPLICAÇÃO *IN VITRO* DE EXPLANTES DE IPÊ - ROXO (*TABEBUIA IMPETIGINOSA* (MART.) STANDL.)

J. P. R. Martins<sup>1</sup>

T. R. Batista<sup>1</sup>; L. C. de A. Rodrigues<sup>1</sup>; D. A. Nogueira<sup>1</sup>; R. Paiva<sup>2</sup>; S. Barbosa<sup>1</sup>; B. R. Santos<sup>1</sup>

1 - Universidade Federal de Alfenas, Departamento de Ciências Biológicas e da Terra, Rua Gabriel Monteiro 700, 37130 - 000, Alfenas, Minas Gerais, Brasil. (35)3299 - 1419 jprmartins@yahoo.com.br

2 - Universidade Federal de Lavras, Departamento de Biologia, Caixa Postal: 3037, 37200 - 000. Lavras, Minas Gerais, Brasil.

## INTRODUÇÃO

O Cerrado brasileiro constitui um bioma caracterizado por apresentar grande biodiversidade vegetal, sendo muitas espécies endêmicas (Myers *et al.*, 2000), o que o torna uma das savanas mais ricas do mundo. Ocupa cerca de 23% do território nacional e a sua distribuição abrange os estados de Goiás, Tocantins, Distrito Federal e parte dos estados da Bahia, Ceará, Maranhão, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Piauí, Rondônia e São Paulo. Contudo, pode ser encontrado em pequenas áreas isoladas nos estados Amapá, Amazonas, Pará e Paraná (Ribeiro & Walter, 1998).

Dentre as várias espécies nativas do cerrado, os Ipês, da família Bignoniacea, apresentam propriedades medicinais e efeito ornamental (Machado *et al.*, 2002), além de serem muito utilizados na construção civil, carpintaria e construção de instrumentos musicais devido à natureza rígida da madeira (Pauletti *et al.*, 2003).

Essas espécies, dentre elas o Ipê - roxo, produzem metabólitos com propriedades farmacológicas, como o Lapachol. Este conhecido por suas propriedades antiinflamatória, analgésica, antibiótica e anti - neoplásica (Araújo *et al.*, 2002).

Por todas as utilizações e as ações medicamentosas o Ipê - roxo teve sua exploração intensificada. Assim, a *Tabebuia impetiginosa* encontra - se em processo de extinção, estando na relação das espécies para a conservação genética *ex situ*, no Instituto Florestal de São Paulo (Siqueira & Nogueira, 1992).

Cabral *et al.*, (2003) relatam que há dificuldades no estabelecimento de técnicas de cultivo para *Tabebuia*, visando à produção de mudas, devido a baixa viabilidade das sementes com o decorrer do tempo. O curto período de viabilidade das sementes de Ipê - roxo e sua floração anual são fatores que limitam a manutenção de um banco de sementes, o que, conseqüentemente, limita os estudos nessa espécie. Sabe - se, entretanto, que muitos fatores inibem a germinação imediata, tais como: denso tapete gramináceo

e queimas periódicas, falta de sincronia entre a época de produção de sementes e a estação chuvosa (Souza *et al.*, 2005). Oliveira *et al.*, (2004) observaram em lotes de sementes de *Tabebuia serratifolia* e *T. impetiginosa* um percentual de sementes vazias de 12% e 8% respectivamente, além de um percentual significativo (17%) de sementes com embriões com defeitos.

O cultivo *in vitro*, por meio da micropropagação, é um método viável para multiplicação de diversas espécies nativas, proporcionando a formação de populações de plantas homogêneas, possibilitando a produção de mudas com alta sanidade e vigor (Souza *et al.*, 2007). Nehra *et al.*, (2005) mencionam que essa técnica oferece várias vantagens, dentre elas a multiplicação de clones, propagação de espécies de interesse econômico, além de poder atuar na preservação de florestas naturais.

## OBJETIVOS

O presente trabalho teve por objetivo avaliar o efeito do BAP (6 - Benzilaminopurina) na indução de brotações em segmentos nodais de Ipê - roxo *in vitro* para a obtenção de um maior número de plântulas viáveis e de boa qualidade para futuros programas de revegetação.

## MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado no Laboratório de Biotecnologia e Genética Vegetal da Universidade Federal de Alfenas (UNIFAL - MG). Foram coletados no município de Alfenas - MG sementes de Ipê - roxo que foram estabelecidas *in vitro* para obtenção de plântulas matrizes, das quais segmentos nodais foram extraídos e utilizados como explantes. Esses foram inoculados em frascos de 600 mL contendo 20 mL meio de cultura WPM, suplementado com diferentes concentrações de BAP (0; 1,0; 2,0; 4,0; e 8,0 mg L<sup>-1</sup>) e 30 g L<sup>-1</sup> de sacarose. O meio foi solidificado com 6 g L<sup>-1</sup> de ágar e o pH

ajustado em 5,8 antes da autoclavagem a 120°C, durante 20 minutos. Após inoculação na câmara de fluxo laminar, o material foi incubado em sala de crescimento a 25°C + 2 e fotoperíodo de 12 horas.

A avaliação foi realizada 45 dias após a inoculação, observando - se o número de brotações por explante e o número de gemas por broto. O delineamento estatístico foi inteiramente casualizado, com três repetições por tratamento, sendo cada parcela composta por um frasco contendo três explantes cada, totalizando 9 explantes por tratamento. Os dados obtidos foram submetidos à análise estatística por meio do teste Kruskal - Willis.

## RESULTADOS

De acordo com os resultados observados, a utilização isolada do BAP não foi estatisticamente significativa na indução de brotações e gemas em segmentos nodais de Ipê - roxo, porém, observou - se qualitativamente que, a indução foi maior no tratamento com 1,0 mg L<sup>-1</sup> de BAP, com médias de brotações e gemas por explante de 4,4 e 5,77 respectivamente, quando comparado aos outros tratamentos, sendo o meio de cultivo que não empregou citocinina com as menores médias de formação de brotos (1,2) e gemas (2,33). Na ausência do regulador, foi observado a formação de brotos. Este resultado indica que, provavelmente, o nível endógeno de citocinina foi suficiente para assegurar esta resposta. Moura *et al.*, (2001), observou maior percentual de brotações em explantes de Laranjeira - pêra (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck) na ausência de BAP, o que difere dos resultados obtidos neste experimento, pois a presença do regulador influenciou positivamente na indução das brotações.

O maior número de brotações e gemas foi observado quando foi empregado 1,0 mg L<sup>-1</sup> de BAP. Resultados consonantes foram obtidos por Santos *et al.*, . (2006) ao induzir brotações em segmentos nodais de Pequiizeiro (*Caryocar brasiliense* Camb.) quando empregou 1,0 mg L<sup>-1</sup> de BAP. Chitra & Padmaja (1999), encontraram respostas semelhantes ao induzirem brotações em ápices caulinares de Amora (*Morus indica* L. cultivar M - 5). Ambos verificaram um decréscimo no número de brotações a partir de concentrações superiores a 1,0 mg L<sup>-1</sup> e que a adição de citocininas assegurou melhores respostas na indução da organogênese *in vitro*.

Chaves *et al.*, . (2005) obteve maior número de brotações em *Fasalis* (*Physalis peruviana* L.) em concentrações relativamente baixas de BAP (0,3 mg L<sup>-1</sup>), resultado parecido aos observados no presente trabalho.

Nos tratamentos que empregaram concentrações superiores a 1,0 mg L<sup>-1</sup> de BAP, foi observado na base do explante a formação de calos em 50% dos segmentos, sendo o tratamento com 8,0 mg L<sup>-1</sup>, a maior presença (66,6%) desses, os quais apresentaram consistência pouco friável e coloração palha escuro. Trabalhando com explantes de Faia (*Fagus grandifolia*), Barker *et al.*, (1997) obtiveram resultados parecidos, pois observaram a formação de calos na base de segmentos nodais e ápices caulinares, em meios de cultura suplementados com concentrações de BAP superiores a 0,5 mg L<sup>-1</sup>.

Soares *et al.*, (2007) observaram a ocorrência de calos na base dos explantes ao induzir a formação de brotações em Mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes), isso se deu com o aumento das concentrações de BAP ao meio de cultura, chegando a 90% na concentração 4,0 mg L<sup>-1</sup>, resultado este, semelhante ao observado neste trabalho. Carvalho *et al.*, (2005), utilizando diferentes concentrações de citocininas BAP (0,5 e 1,0 mg L<sup>-1</sup>) e ZEA (Zeatina) (0,5 e 1,0 mg L<sup>-1</sup>) também observaram a formação de calos na base de explantes de Urucum (*Bixa orellana* L.).

A multiplicação de genótipos por meio da micropropagação tem sido uma alternativa para os programas de revegetação de áreas degradadas. Contudo, muitos obstáculos ainda precisam ser transpostos como a formação de calos na base dos explantes, o que tem sido relatado como uma desvantagem para a sobrevivência de plantas no campo, devido à pobre conexão vascular entre o caule e as raízes (AJITKUMAR & SEENI, 1998). A continuidade deste trabalho consistirá em avaliar o padrão de enraizamento e o comportamento das novas plântulas na aclimatização e em condições de campo.

## CONCLUSÃO

A 6 - Benzilaminopurina induz brotações *in vitro* de Ipê - roxo e concentrações elevadas desta citocinina pode levar a formação de calos na base dos explantes.

A concentração endógena de fitoreguladores em segmentos caulinares de Ipê - roxo são capazes de assegurar a resposta na indução de brotações sem a suplementação de citocinina exógena.

(Apoio financeiro: Probioc/Unifal e FAPEMIG).

## REFERÊNCIAS

- Ajitkumar D.; Seeni S. Rapid clonal multiplication through *in vitro* axillary shoot proliferation of *Aegle marmelos* (L.) Corr., a medicinal tree. *Plant Cell Reports*, v.17, p.422 - 426, 1998.
- Araújo, E. L.; Alencar, J. R. B.; Neto, P J. R. Lapa-chol: segurança e eficácia na terapêutica. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. Recife, 2002.
- Barker, M.J. *et al.*, . Micropropagation of juvenile and mature american beech. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, v.51, p.209 - 213, 1997.
- Cabral, E. L.; Barbosa, D. C. A.; Simabukuro, E. A. Armazenamento e germinação de sementes de *Tabebuia aurea* (manso) Benth. & Hook. f. ex. S. Moore. *Acta Botânica Brasileira*, São Paulo, v. 17, n. 4, p. 609 - 617, 2003.
- Carvalho, J. F. R. P. de; Carvalho, C. R. de; Otoni, W. C. Regeneração *in vitro* de urucum (*Bixa orellana* L.) a partir de diferentes tipos de explantes. *Revista Árvore*, vol.29, n.6, pp. 887 - 895, 2005.
- Chaves, A. da C.; Schuch, M. W.; Erig, A. C. Estabelecimento e multiplicação *in vitro* de *Physalis peruviana* L.. *Ciência e agrotecnologia*. vol.29, n.6, pp. 1281 - 1287, 2005.
- Chitra, D. S. V.; Padmaja, G. Clonal propagation of mulberry (*Morus indica* L. cultivar M - 5) thorooung *in*

- vitro* culturae of nodal explants. *Scientia Horticulturae*, Amsterdam, v. 80, n. 3/4, p. 289 - 298, Apr. 1999.
- Machado, C. F. et al.,** . Metodologia para a condução do teste de germinação em sementes de ipê - amarelo (*Tabebuia serratifolia* (Vahl) Nicholson). *Cerne*, v.8, n.2, p.18 - 27, 2002.
- Moura, T. L.; Almeida, W. A. B.; Mendes, B. M. J.; Mourao Filho, F. A. A.** Organogênese *in vitro* de Citrus em função de concentrações de BAP e seccionamento do explante. *Rev. Bras. Fruticultura*. vol.23, n.2, pp. 240 - 245, 2001.
- Myers, N.; Mittermeier, R. A.; Mittermeier, C. G.; Fonseca, G. A. B.; Kent, J.** Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature*, v. 403, p. 853 - 858, 2000.
- Nehra, N. S. et al.,** . Forest biotechnology: innovative methods, emerging opportunities. *In Vitro Cellular and Developmental Biology - Plant*, v.41, p.701 - 717, 2005.
- Oliveira, L. M. de; Carvalho, M. L. M. de; Guimaraes, R. M.; Masetto, T. E.** Avaliação da qualidade de sementes de *Tabebuia serratifolia* Vahl Nich. e *T. impetiginosa* (Martius ex A. P. de Candolle) Standley - (Bignoniaceae) pelo teste de raios X. *Revista brasileira de sementes*. vol.26, n.2, pp. 138 - 143, 2004.
- Pauletti, P. M.; Bolzani, V. S.; Young, M. C. M.** Constituintes Químicos de *Arrabidaea samydoïdes* (Bignoniaceae). *Química Nova*. v. 26, n. 5, p.641 - 643, 2003.
- Ribeiro, J. F.; Walter, B. M. T.** Fitofisionomias do bioma cerrado. In: Sano, S. M.; Almeida, S. P. de Cerrado: ambiente e flora. Planaltina, DF: EMBRAPA - CPAC, P. 89 - 152, 1998.
- Santos, B. R.; Paiva, R.; Nogueira, R. C.; Oliveira, L. M. de; Silva, D. P. C. da; Martinotto, C.; Soares, F. P.; Paiva, P. D. de O.** Micropropagação de pequiheiro (*Caryocar brasiliense* Camb.),. *Revista Brasileira de Fruticultura*, v. 28, p. 293 - 296, 2006.
- Soares, F. P. et al.,** . Organogênese direta em explantes caulinares de mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes). *Ciência e agrotecnologia*, vol.31, n.4, pp. 1048 - 1053, 2007.
- Siqueira, A. C. M. F.; Nogueira, J. C. B.** Essências brasileiras e sua conservação genética no Instituto Florestal de São Paulo. In: CONGRESSO NACIONAL SOBRE ESSÊNCIAS NATIVAS, 1992, São Paulo. Anais... *Revista do Instituto Florestal*, São Paulo, v. 4, n. 4, p. 1187, mar. 1992. Edição especial.
- Souza, J. A. de; Schuch, M. W.; Silva, L. C. da; Ferri, J.; Soares, G. C.** Solidificante no meio de cultura e tamanho do explante no estabelecimento da propagação *in vitro* de pitangueira (*Eugenia uniflora* L.). *Revista Brasileira de Agrociência*, Pelotas, v.13, n.1, p.115 - 118, jan - mar, 2007.
- Souza, V. C.; Andrade, L. A.; Bruno, R. L. A.; Cunha, A. O. ; Souza, A. P.;** Produção de mudas de ipê - amarelo (*Tabebuia serratifolia* (Vahl) Nich.) em diferentes substratos e tamanhos de recipientes. *Agropecuária Técnica*. Areia, PB, CCA/UFPB, v.26, n.2, 2005.