

Calogênese e formação de gemas axilares em estacas de *Tamarindus indica* (L.)

Polizelli, R. A. ⁽¹⁾; Kasburg, I. V. ⁽²⁾

⁽¹⁾ Acadêmica do curso de Engenharia Florestal, UNEMAT, Campus Universitário de Alta Floresta – e-mail: rafa_afl88@hotmail.com. ⁽²⁾ Professora orientadora, Departamento de Ciências Biológicas – e-mail:isane9@yahoo.com.br

Resumo: Este estudo teve como objetivo avaliar o meio de cultura mais apropriado para o desenvolvimento de calogênese e gemas axilares a partir de secções caulinares contendo entrenós de plantas de *Tamarindus indica* (L.). Foram utilizadas sementes coletadas de 10 plantas aleatórias no município de Alta Floresta – MT, as quais foram plantadas em solo autoclavado depositado em copos plásticos. Quando as mudas apresentavam cerca de 15 cm de altura foram podadas, retirando as secções contendo os entrenós e estas foram desinfestadas com água e detergente e mantidas em água corrente por 24 horas. Após este procedimento foram mantidas em hipoclorito de sódio a 3% por 15 minutos e levadas em câmara de fluxo laminar onde foram transferidas em frascos de vidro contendo o meio de cultura. Os meios de cultura utilizados foram MS, DKW e WPM, sendo que o mais adequado para a indução de formação de calos foi o DKW e para a formação de gemas axilares não houve diferença entre os meios avaliados.

Palavras chaves: Cultura de tecidos, gemas axilares, micropropagação.

Introdução: Atualmente, um dos maiores desafios enfrentados na economia mundial é atender a demanda de produtos à população e manter as áreas de florestas conservadas. Deste modo, o desenvolvimento de técnicas de cultivo *in vitro* possibilita a produção de uma grande quantidade de indivíduos, auxiliando na diminuição da pressão sofrida principalmente pelas florestas nativas ainda existentes (BORÉM e MIRANDA, 2005).

Os programas de cultivo e propagação *in vitro* são empregados em sua grande maioria para espécies de interesse agrícola, como morango, citrus, maçã, entre outros. Os trabalhos nesta área com as espécies lenhosas para fins florestais são escassos, e por isso, o conhecimento das mais variadas espécies com relação às suas exigências fisiológicas em meio de cultura também são insuficientes (GRATTAPAGLIA e MACHADO, 1998).

Tamarindus indica é uma árvore que pertence à família Fabaceae e subfamília Caesalpinioideae, frutífera e de crescimento relativamente lento, podendo alcançar até 200 anos de vida. É originária da África e Índia, cultivada em regiões de clima quente, estando bem aclimatada no Brasil. Possui importância econômica pelo potencial uso de seu tronco, e frutos principalmente. Além disso, é muito apreciada na ornamentação e arborização de cidades. Na indústria farmacêutica, o tamarindo é utilizado na preparação de laxativos e aromatizantes (LORENZI e t al., 2003).

Deste modo, o objetivo do presente trabalho é induzir a calogênese e o desenvolvimento de gemas axilares em secções caulinares de *Tamarindus indica* e avaliar entre os meios de cultura utilizados, ou seja, MS, WPM e DKW, o mais apropriado para o desenvolvimento de calogênese e gemas axilares.

Material e Métodos: Para a realização deste trabalho, foram coletadas sementes de dez plantas escolhidas aleatoriamente no perímetro urbano de Alta Floresta - MT, o qual fica localizado no extremo norte de Mato Grosso, entre as coordenadas geográficas 55°30' a 57°00' longitude W e 9°00' e 11°00' latitude S.

Este experimento foi conduzido por meio de delineamento inteiramente casualizado, com três tratamentos e vinte repetições. As sementes de *Tamarindus indica* foram escarificadas mecanicamente com auxílio de uma lixa e postas para germinar em solo autoclavado e depositado em copos plásticos. Quando as plantas apresentavam aproximadamente 15 cm, foram podadas a uma altura aproximada de 6 cm, compreendendo todos os nós. Os segmentos foram desinfestados com uma mistura de água e detergente e mantidos em água corrente por 24 horas, e após, foram mantidas em solução de hipoclorito de sódio durante 15 minutos. A câmara de fluxo laminar sofreu desinfestação prévia com álcool 70% e hipoclorito de sódio 3%, onde, posteriormente os explantes foram conduzidos e sofreram a tríplex lavagem em água destilada e autoclavada.

Os entrenós foram cortados com o auxílio de um bisturi desinfestado previamente em álcool 70% e flambado com lamparina. Cinco entrenós foram depositados em cada frasco contendo meio de cultura, sendo avaliados três tratamentos cada um com 20 frascos, totalizando 60 frascos. Os frascos foram vedados com filme PVC e armazenados em local escuro. Os meios de cultura testados foram MS (Murashige & Skoog, 1962), DKW (McGranahan et al., 1987) e WPM (Lloyd e McCown, 1980). Os meios foram geleificados com 5,2g de ágar, com pH 5,7 e os frascos foram submetidos à autoclavagem a 121°C sobre pressão de 1kg cm⁻² por 30 minutos. As características avaliadas no experimento foram desenvolvimento de gemas axilares e presença de calogênese, sendo realizada a contagem do número de calos e de gemas em cada repetição, sendo esta composta por um explante. Os dados foram submetidos à análise de variância, e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, por meio do programa Sisvar 4.6 (FERREIRA, 2003).

Resultados e Discussão: Em todos meios de cultura utilizados para *Tamarindus indica* foi possível a observação da formação da organogênese indireta. Entre os meios MS, DKW e WPM o meio que apresentou maior número de calos em seções caulinares e maior número médio de gemas axilares foi o meio WPM.

O desenvolvimento das gemas axilares nos segmentos nodais foi observado após 40 dias de estabelecimento no meio de cultura WPM e os meios MS e DKW apresentaram a formação de brotações após 55 dias. Todos os meios não foram suplementados por fitoreguladores, e o maior número de gemas axilares foi observado no meio WPM (1,53 gemas) (Tabela 01), contudo entre os meios utilizados não ocorreram diferenças significativas.

Tabela 01 - Avaliação da formação de calos e gemas axilares em seções caulinares de *Tamarindus indica* em três diferentes meios de cultura.

Meios	Média de calos formados	Média de gemas axilares
WPM	1,31a	1,53a
MS	1,00b	1,43a
DKW	1,00b	1,47a
CV (%)	22,24	30,99
Valor de F	10,76*	0,23ns

DMS (5%)	0,19	0,35
----------	------	------

Médias seguidas por letras iguais não diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey * significativo pelo teste F a 5%. DMS: Diferença mínima significativa. C.V.: Coeficiente de variação.

Em caixeta, Mantovani et al., (1999) observaram que o meio WPM proporcionou os melhores resultados de multiplicação de brotações quando comparado ao meio MS. Na ausência da citocianina, o meio WPM proporcionou maior porcentagem de explantes com novas brotações (36,7%) em relação ao meio MS (18,3%). Em trabalhos com *Ilex paraguariensis*, o meio de cultivo WPM propiciou melhores resultados de multiplicação quando comparado ao meio MS (ZANIOLO & ZANETTE, 2002). O meio de cultivo WPM também foi o que proporcionou melhor resultado no estabelecimento *in vitro* de mirtilo cv Delite (*Vaccinium ashei* Reade), segundo Silva et al., (2006). Resultados semelhantes foram obtidos por Mello et al. (1999), quando testaram diferentes meios nutritivos (MS, DKW e WPM) no estabelecimento *in vitro* de acerola, observando que os melhores resultados foram obtidos por explantes inoculados em meio WPM.

A maior eficiência do meio WPM, elaborado para plantas lenhosas em geral, pode ser explicado pela sua composição salina diferenciada em relação ao meio MS, e apresenta inclusive maior disponibilidade de vitaminas, proporcionando resultados benéficos para a micropropagação de espécies lenhosas (GRATAPAGLIA e MACHADO, 1998).

A formação dos calos neste experimento ocorreu entre 45 e 55 dias após a inoculação, para os explantes testados, sem a presença de luz. O desenvolvimento de calos pode ocorrer em consequência ao acúmulo de carboidratos, a qual se verifica na base do explante. Em estudo com paricá (*Schizolobium amazonicum* Huber ex Ducke), CORDEIRO *et al.* (2004), observaram a formação de calos na base do explante, em menor frequência em meio sem regulador de crescimento e à medida que foi aumentada a concentração de regulador, foi verificada maior incidência de calos. Em acácia-negra, também foi verificada a formação de calos na base do explante tanto na ausência quanto na presença de reguladores de crescimento (PERRANDO, 2003). Deschamps (1993) observou que as brotações de sarandi apresentaram um maior desenvolvimento em meio WPM sem reguladores de crescimento, e que a adição de BAP foi responsável pela redução do número de folhas por explante e também pela redução do comprimento das brotações.

Conclusão: O meio de cultura mais apropriado para o desenvolvimento de calogênese foi o DKW. Para o desenvolvimento de gemas axilares, qualquer um dos três meios de cultura pode ser utilizado.

Referências Bibliográficas

BORÉM, A.; MIRANDA, G. V. **Melhoramento de plantas**. Viçosa, MG: UFV, 4. Ed., 2005.

CORDEIRO, I. M. C. C.; LAMEIRA, O. A.; OHASHI, S. T. *et al.* **Efeito do BAP sobre a proliferação de brotos *in vitro* de *Schizolobium amazonicum* Huber ex Ducke (paricá)**. Cerne, Lavras, v.10, n.1, p.118-124, 2004.

DESCHAMPS, C. **Propagação vegetativa *in vitro* de Sarandi (*Sebastiania schottiana* MUELL. ARG.), espécie florestal de mata ciliar**. Lavras: ESAL, 1993. 128p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Escola Superior de Agricultura de Lavras, 1993.

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

FERREIRA, D.F. **Sisvar versão 4.6**. Lavras: DEX/UFLA, 2003. 32 p

LLOYD, G.; McCOWN, B. Commercially-feasible micropropagation of mountain laurel, *Kalmia latifolia*, by use of shoot-tip culture. **Combined Proceedings of International Plant Propagators' Society**, Seattle, v.30, p.421-427, 1980.

LORENZI, H.; SOUZA, H. M.; TORRES, M. A. V.; BACHER, L. B. **Árvores exóticas no Brasil: madeiras, ornamentais e aromáticas**. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 2003. 384 p.

MANTOVANI, N.C.; FRANCO, E.T.H.; GUERRA, M.P. *et al.* Micropropagação de caixeta *Dydimopanax morototoni* (Aubl.) Dcne. et Planch. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v.10, n.5, p.15-33, 1999.

McGRANAHAN, G. H.; DRIVER, J. A.; TULECKE, W. Tissue culture of Juglans. In: BONGA, J. M.; DURZAN, D. J. (eds.). **Cell and tissue culture in forestry: Case histories: Gymnosperms, Angiosperms and Palms**. Dordrecht: Martinus Nijhoff, 1987, v.3, p. 261-271.

MELLO, N. F.; OKASAKI, W. Y.; LEITE, C. B. FÁRI, M. **Estabelecimento do cultivo *in vitro* da aceroleira (*Malpighia emarginata* DC.)**. Lavras, MG: Ciência e Agrotecnologia, v.23, n.1, p. 102-107, 1999.

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

PERRANDO, E.R. **Propagação vegetativa de acácia-negra (*Acacia mearnsii* De Wild.)** Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 123f., 2003.

SILVA, L. C. S.; SCHUCH, M. W.; SOUZA, J. A.; ERIG, A. C.; ANTUNES, L. E. C. **Meio nutritivo, reguladores de crescimento e frio no estabelecimento *in vitro* de mirtilo (*Vaccinium ashei* Reade) Cv. DELITE**. Pelotas, SP: Revista Brasileira de Agrociência, v.12, n.4, p. 405-408, 2006.

ZANIOLO, S. R.; ZANETTE, F. Micropropagação de erva mate a par tir de segmentos nodais. **Scientia Agrária**, Curitiba, v. 2, n. 1/2, p. 31-36, 2002.