

**OXIDAÇÃO FENÓLICA, TIPO DE EXPLANTE E MEIOS DE CULTURA NO ESTABELECIMENTO *IN VITRO* DE CANAFÍSTULA (*Peltophorum dubium* (SPRENG.) TAUB.)<sup>1</sup>**  
PHENOLIC OXYDATION, TYPE OF EXPLANT AND NUTRITIVE MEDIA IN *Peltophorum dubium* (SPRENG.) TAUB.'S *IN VITRO* ESTABLISHMENT

Josiana Scherer Bassan<sup>2</sup> Lia Rejane Silveira Reiniger<sup>3</sup>  
Beatriz Helena Gomes Rocha<sup>4</sup> Cássia Rejane Peiche Severo<sup>5</sup> Andressa Vasconcelos Flôres<sup>6</sup>

**RESUMO**

A canafístula, *Peltophorum dubium* (Spreng.) Taub. é uma espécie florestal nativa e com ampla dispersão geográfica, desempenhando um papel pioneiro nas áreas abertas, em capoeiras e matas degradadas. Apresenta um rápido crescimento e se adapta facilmente, sendo muito recomendada para reflorestamento homogêneo. A madeira é utilizada em construções civis, indústria de móveis, construção naval e militar. A micropropagação é uma técnica utilizada com bastante sucesso, apresentando, entre outras vantagens, um rápido aumento no número de plantas geneticamente idênticas partindo de plantas selecionadas. Os objetivos do trabalho são avaliar a influência da luz no controle da oxidação fenólica dos explantes de canafístula (*Peltophorum dubium* (Spreng.)), determinar o meio nutritivo e o tipo de explante mais adequado para o estabelecimento *in vitro* de canafístula (*Peltophorum dubium* (Spreng.)). Foram realizados dois experimentos. No primeiro, ápices caulinares foram cultivados em meio base MS a  $25 \pm 3^\circ\text{C}$ , por 7 dias no escuro e, posteriormente, sob fotoperíodo de 16 horas de luz e intensidade luminosa de  $20 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ , fornecida por lâmpada fluorescente branca durante 21 dias ou permaneceram na câmara de crescimento com exposição à luz durante todo o experimento. Foi empregado o delineamento inteiramente casualizado com cinco repetições contendo quatro unidades experimentais (UE). A oxidação fenólica foi observada após 21 dias de cultivo. Não ocorreu oxidação fenólica em nenhum dos tratamentos analisados. No segundo experimento, ápices caulinares e segmentos nodais foram cultivados em meio base MS e meio WPM. Os explantes foram mantidos em sala de crescimento com fotoperíodo de 16 horas de luz e intensidade luminosa de  $20 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ , fornecidas por lâmpada fluorescente branca fria e temperatura de  $25 \pm 3^\circ\text{C}$ . A UE foi composta por um frasco de vidro de 150 mL contendo 30 mL de meio nutritivo e um explante. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, em esquema fatorial  $2 \times 2$  (meio nutritivo e tipo de explante) com cinco repetições por tratamento, cada repetição consistindo de quatro UE. Aos 49 dias de cultivo avaliaram-se as seguintes variáveis: sobrevivência, estabelecimento, presença de raiz, presença de calos, número de nós, número de folhas e altura da parte aérea (mm). Os dados de presença de raiz, presença de calo, sobrevivência e estabelecimento foram analisados pelo teste qui-quadrado. As demais variáveis foram submetidas à análise de variância. Neste experimento, o meio base MS é mais eficiente que o WPM no estabelecimento *in vitro* de canafístula (*Peltophorum dubium* (Spreng.)). Não existem diferenças entre a utilização dos explantes ápice caulinar e segmento nodal.

**Palavras-chave:** meio MS; meio WPM; ápice caulinar; segmento nodal.

1. Parte da dissertação apresentada pelo primeiro autor ao Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal, Universidade Federal de Pelotas, para obtenção do grau de Mestre.
2. Bióloga, Mestranda pelo Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal da Universidade Federal de Pelotas, Rua dos Andradas, 1790, Apartamento 104, Bairro Centro, CEP 97010-032, Santa Maria (RS). josianabassan@yahoo.com.br
3. Engenheira Agrônoma, Dr<sup>a</sup>., Professora Adjunta do Departamento de Fitotecnia, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Campus Universitário, CEP 97105-900, Santa Maria (RS). lia\_reiniger@yahoo.com.br
4. Engenheira Agrônoma, Dr<sup>a</sup>., Professora Adjunta do Instituto de Biologia, Universidade Federal de Pelotas, Caixa Postal, CEP 96010-900, Pelotas (RS). biarocha@yahoo.com.br
5. Bióloga, Acadêmica de Graduação em Engenharia Florestal, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Campus Universitário, CEP 97105-900, Santa Maria (RS). cassiapeiche@bol.com.br
6. Engenheira Florestal, Mestranda pelo Programa de Pós-Graduação em Engenharia Florestal, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Campus Universitário, CEP 97105-900, Santa Maria (RS). andressafloressm@yahoo.com.br

Recebido para publicação em 25/04/2006 e aceito em 13/09/2006.

## ABSTRACT

*Peltophorum dubium* (Spreng.) Taub. is a heliopylous, a native forest species with wide geographic dispersion, occupying a pioneer role in open areas, hencoops and degraded woods. Showing a fast growth, it adapts easily and it is highly recommended for homogeneous reforest. The timber is used in industrial furniture, civilian, naval and military constructions. The micropropagation is a technique used successfully, allowing a fast increase of the number of plants genetically identical considering the superior types. The work's objectives are: to evaluate the effect of the light on phenolic oxydation and to determinate the most appropriate nutritive medium and type of explant for *in vitro* establishment of *Peltophorum dubium*. Two experiments were accomplished. In the first one, apical segments were cultivated in MS base medium at  $25\pm 3^{\circ}\text{C}$ , during seven days in the dark; after that, they remained in the presence of light (photoperiod of 16h) for 14 days. In the other treatment, the explants stayed under light during the whole experiment (21 days). Completely random design with five replicates and four experimental units (EU) were used. Phenolic oxydation did not occur in any of the analyzed treatments. In the second assay, apical segments and nodal segments were cultivated in MS base medium and WPM medium. The explants stayed in the growth room during 16h of photoperiod and luminous intensity of  $20 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ , supplied with cool white fluorescent lamps, at  $25\pm 3^{\circ}\text{C}$ . The EU was composed by one 150mL flask with 30mL of nutritive medium and one explant. Completely random design with factorial outline  $2 \times 2$  (nutritive medium and type of explant) and five replicates by treatment, each replicate with four EU, were used. After 49 days, the following elements were evaluated: survival, establishment, root presence, calli presence, numbers of nodes, number of leaves and shoot height (mm). The data of survival, establishment, root presence and calli presence were analyzed for qui-quadrado test. The other variables were submitted to variance analysis. In this experiment, MS base medium is more efficient than WPM medium in the *in vitro* establishment of *Peltophorum dubium*. There are no statistical differences among apical segment and nodal segment.

**Keywords:** MS medium; WPM medium; apical segment; nodal segment.

## INTRODUÇÃO

No Rio Grande do Sul, ainda existem muitas espécies florestais nativas com potencial para a utilização em plantios comerciais e que poderiam substituir as espécies exóticas na indústria moveleira, celulósica e na produção de lenha e carvão, entre outras finalidades (Reitz *et al.*, 1988; Lorenzi, 1992). A regeneração artificial, por meio de plantios com espécies valiosas e de rápido crescimento para o enriquecimento das florestas exploradas e capoeiras, para plantações puras em maciços florestais ou, ainda, para plantios consorciados com culturas agrícolas, apresenta-se como opção no aproveitamento e implementação do setor florestal (Lorenzi, 1992).

A canafistula (*Peltophorum dubium* (Spreng.) Taub.) é uma espécie florestal nativa e com ampla dispersão geográfica, desempenhando um papel pioneiro nas áreas abertas, em capoeiras e matas degradadas (Carvalho, 2003; Marchiori, 1997). Desenvolve-se naturalmente em vários tipos de solo, sendo pouco exigente em relação à fertilização química apresentando um rápido crescimento e fácil adaptação (Carvalho, 1994).

A espécie é muito recomendada para reflorestamento homogêneo e, por apresentar vistosa floração, é indicada na arborização de parques, praças e rodovias (Marchiori, 1997). Conforme Carvalho (1994), a madeira é utilizada em construções civis como vigas, ripas, marcos, portas, janelas, assoalhos; na indústria de móveis e na construção naval e militar – razões que a tornam uma espécie com destacado potencial silvicultural.

A micropropagação é a aplicação mais prática da cultura de tecidos, sendo sua utilização em âmbito comercial já realizada em diversos países do mundo (Grattapaglia e Machado, 1998). A micropropagação possibilita um rápido aumento no número de plantas geneticamente idênticas partindo de plantas selecionadas, permite a produção de mudas durante o ano todo, a formação de plantas com elevada qualidade sanitária e, ainda, auxilia na propagação de plantas cujas sementes têm baixo poder germinativo (Singh e Sehgal, 1999; Serafini *et al.*, 2001).

O estabelecimento *in vitro* dos explantes corresponde à primeira etapa de um sistema de micropropagação, iniciando-se com a seleção dos explantes mais adequados para a subsequente

multiplicação e terminando com a obtenção de uma cultura suficientemente adaptada às condições *in vitro* (Grattapaglia e Machado, 1998).

Para obter o estabelecimento *in vitro* dos explantes é também importante determinar o meio nutritivo mais adequado (Caldas *et al.*, 1998). Thorpe *et al.* (1994) revisaram os meios de cultura que têm sido utilizados para a regeneração de espécies de diferentes gêneros. Alguns desses meios foram especificamente formulados para fornecer os requisitos particulares à espécie em estudo, como o meio básico de cultura de Murashige e Skoog – MS (Murashige e Skoog, 1962), desenvolvido inicialmente para tecido medular de *Nicotiana tabacum* L. e o Woody Plant Medium (WPM) elaborado por Lloyd e Mccow (1981), para a propagação de plantas lenhosas.

O meio MS (Murashige e Skoog, 1962) é um dos mais utilizados tanto para a micropropagação quanto para outras técnicas de cultura de tecidos (Caldas *et al.*, 1998). Na multiplicação das brotações de *Didymopanax morototoni* (Aubl.), Decne. & Planch., Mantovani *et al.* (1999) obtiveram resultados superiores com WPM, comparando-o com o meio de cultivo MS. Contudo, o meio MS também proporcionou bons resultados como, por exemplo, em *Euterpe edulis* Mart. (Guerra e Handro, 1991).

Diversos explantes podem ser utilizados para iniciar a micropropagação. Na seleção dos explantes, devem ser considerados aspectos como o nível de diferenciação do tecido utilizado e a finalidade da micropropagação. Teoricamente, qualquer tecido pode ser utilizado como explante, em vista da totipotência das células vegetais. Na prática, entretanto, procuram-se utilizar explantes que contenham maior proporção de tecido meristemático ou que tenham maior capacidade de expressar a totipotência. Ápices caulinares, às vezes, apresentam maior capacidade de crescimento do que gemas axilares que estão sob efeito da dominância apical (Grattapaglia e Machado, 1998).

A micropropagação, utilizando segmentos nodais como explantes, é um método direto de regeneração de plantas por meio da indução de crescimento e proliferação de gemas vegetativas axilares pré-formadas. Envolve o isolamento e a inoculação *in vitro* de segmentos nodais contendo gemas axilares que são estimuladas a crescer dando origem a brotações, e estas, por sua vez, podem ser isoladas e manipuladas como microestacas ou multiplicadas de modo a formar tufos de novas brotações (Deberch e Read, 1991).

Em espécies lenhosas, ao contrário do que ocorre na horticultura, a aplicação da micropropagação tem sido menos intensa e o emprego na área florestal iniciou-se, realmente, na década de 80, concentrando-se nos principais gêneros de interesse comercial, como *Pinus* sp., *Eucalyptus* sp., *Picea* sp. e *Populus* sp. (Paranjothy *et al.*, 1990; Hartney, 1979).

Diversas dificuldades podem ser encontradas ao longo das diferentes etapas do processo de micropropagação de espécies lenhosas. Uma das limitações dessa técnica tem sido o enraizamento de partes aéreas regeneradas *in vitro* (Assis e Teixeira, 1998). A variabilidade observada nos resultados, decorrentes de características inerentes às plantas (genótipo, idade e condições fisiológicas) ou ao meio ambiente, é outro impedimento ao emprego de metodologias de micropropagação (Paranjothy *et al.*, 1990).

Além desses fatores, na iniciação de culturas lenhosas, é comum a ocorrência de compostos fenólicos, que podem estar ligados a processos de regulação de crescimento, especialmente as auxinas que, dependendo da concentração endógena no tecido, induzem à síntese desses compostos. Nas plantas lenhosas, sobretudo, acumulam-se polifenóis e produtos de oxidação, como melanina, suberina, lignina, cutina e calose em torno da superfície incisada, os quais modificam a composição do meio de cultivo e a absorção de metabólitos (Andrade *et al.*, 2000).

A oxidação fenólica pode dificultar o estabelecimento inicial do cultivo *in vitro*, pois algumas enzimas oxidam os fenóis formando quinonas, as quais são responsáveis pela coloração marrom das culturas, além de causarem a inibição do crescimento e a morte dos explantes em grande número de espécies (Monaco *et al.*, 1977). A oxidação fenólica é altamente dependente do genótipo e do tipo de explante utilizado. Explantes jovens em geral oxidam menos que os mais velhos (Teixeira, 2005).

A oxidação fenólica pode ser minimizada pela redução de danos mecânicos e químicos no explantes, pela modificação do ambientes, pelo uso de antioxidantes. (Monaco *et al.*, 1977). A redução da luminosidade na câmara de fluxo laminar, durante a excisão dos explantes e a manutenção da cultura no escuro no início do cultivo também são consideradas benéficas, pois a luz induz à produção de fenóis na planta (Marks e

Simpson, 1990).

Em espinheira-santa, a redução em 50% da concentração de sais do meio base MS (Murashige e Skoog, 1962) diminuiu a oxidação fenólica (Flores *et al.*, 1998).

A formação de calos na base do explante, seja este do tipo segmento nodal, ápice caulinar ou brotação, é muito comum em espécies lenhosas, sendo considerada indesejável na micropropagação. Para Grattapaglia e Machado (1998), quantidades excessivas de auxina e sacarose podem causar a formação de calos na base do explante, comprometendo a rizogênese e o crescimento da parte aérea. A formação de calos na base do explante foi observada por Kirst e Sepel (1996) em estudos com canafístula (*Peltophorum dubium* (Spreng.)), em que a formação do calo comprometeu a rizogênese.

Em experimentos com acácia negra, foi observada a formação concomitante de calos e raízes adventícias em alguns propágulos submetidos à multiplicação em meio de cultura B5 (Gamborg *et al.*, 1968) contendo citocinina (Borges Junior *et al.*, 2004). Em *Acacia saligna* (Labill.) H. L. Wendl., foi verificada também a formação de calos na base em explantes que não foram submetidos à ação de nenhum regulador de crescimento (Jones *et al.*, 1990).

A formação de calos pode ocorrer em consequência ao acúmulo de carboidratos, a qual se verifica na base do explante (Grattapaglia e Machado, 1998). A presença de calos na base do explante também foi observada em amoreira-preta (*Rubus* sp.), por Radmann *et al.* (2003), que registraram um aumento significativo de calos na presença da auxina ácido indolbutírico -AIB. O mesmo não foi observado em estudos com esta mesma espécie conduzidos por Villa *et al.* (2005), que obtiveram um aumento no número de raízes em meio base MS com a metade das concentrações de sais e desprovido de reguladores de crescimento, sem a formação de calos na base do explante. Para Fachinello *et al.* (1994), no momento em que a auxina é aplicada, há um aumento excessivo da concentração na base do explante e se os demais requerimentos fisiológicos são satisfeitos há formação de calos, resultante da ativação de células do câmbio e das raízes adventícias.

Em mogno (*Swietenia macrophylla* King), em experimentos com as auxinas ANA e AIB não foram verificados calos na base dos explantes (ápices e brotações) e nem no processo de formação de raízes (Lopes *et al.*, 2001). Os mesmos autores consideraram que os níveis endógenos de auxinas nos explantes de mogno (*Swietenia macrophylla* King) eram baixos, não ocorrendo o excesso de auxina e a não formação de calos.

A formação de calos na base dos explantes foi observada também em louro-pardo (*Cordia trichotoma* (Vell.) Steud.) em meio base MS (Murashige e Skoog, 1962) contendo a auxina ácido alfa-naftaleno acético – ANA, o que dificultou o enraizamento e o desenvolvimento do sistema radicular. Estudos realizados por Colled e La (1988) apud Lopes *et al.* (2001) também observaram que uma breve exposição do explante em meio com auxina propiciava menor formação de calos.

Os objetivos do trabalho consistiram em avaliar a influência da luz no controle da oxidação fenólica dos explantes de canafístula (*Peltophorum dubium* (Spreng.)) e determinar o meio nutritivo e o tipo de explante mais adequados para o estabelecimento *in vitro* de canafístula (*Peltophorum dubium* (Spreng.)).

## MATERIAL E MÉTODOS

As sementes foram coletadas na Fundação de Pesquisa Agropecuária – FEPAGRO/Florestas em Santa Maria, RS e são provenientes da produção de 2004.

### Experimento I – oxidação fenólica

Ápices caulinares, provenientes da regeneração de nós cotiledonares partindo de sementes germinadas em condições assépticas, foram utilizados como explante. Os explantes foram isolados com aproximadamente 80 a 100 mm de comprimento, contendo 1 a 2 nós e 30 dias de cultivo, sendo inoculados sob câmara de fluxo laminar. Os frascos foram vedados com uma película plástica de polivinilcloreto (PVC).

A unidade experimental (UE) consistiu de um frasco de vidro de 150mL contendo 30mL de meio nutritivo e um explante (ápice caulinar). O meio nutritivo consistiu do meio base MS (Murashige e Skoog, 1962) acrescido de 30g.L<sup>-1</sup> de sacarose, 100mg.L<sup>-1</sup> de mio-inositol, sendo o pH ajustado para 5,7 antes da inclusão do ágar na concentração de 7g.L<sup>-1</sup> e, posteriormente, autoclavado a 121°C e 1,5 atm por 15 minutos.

Os tratamentos consistiram de: 1) incubação dos explantes na câmara de crescimento a  $25\pm 3^{\circ}\text{C}$ , por sete dias no escuro (fotoperíodo negativo) e posteriormente sob fotoperíodo de 16 horas de luz e intensidade de fluxo de fótons  $20 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-2}$ , fornecida por lâmpada fluorescente branca fria durante 21 dias; e 2) incubação dos explantes na câmara de crescimento com exposição à luz durante todo o experimento.

Os tratamentos foram testados em delineamento inteiramente casualizado com cinco repetições contendo quatro UEs. A variável analisada foi oxidação fenólica após 21 dias de cultivo. Foram considerados oxidados os explantes cujo meio se encontrava amarelecido. Os resultados obtidos foram submetidos ao teste qui-quadrado (Fisher, 1941).

### **Experimento II – tipo de explante e meio de cultura**

Ápices caulinares e segmentos nodais, provenientes da regeneração de nós cotiledonares partindo de sementes germinadas em condições assépticas, foram utilizados como explante. Os explantes foram isolados com aproximadamente 80 a 100 mm de comprimento, contendo um a dois nós e 30 dias de cultivo, sendo inoculados sob câmara de fluxo laminar. Os frascos foram vedados com uma película plástica de polivinilcloreto (PVC).

Os meios de cultura utilizados foram o meio base MS (Murashige e Skoog, 1962) e o WPM – Woody Plant Medium (Lloyd e McCow, 1981). Aos meios foram acrescidos  $30\text{g.L}^{-1}$  de sacarose,  $100\text{mg.L}^{-1}$  de mio-inositol, sendo o pH ajustado para 5,7 antes da inclusão do ágar na concentração de  $7\text{g.L}^{-1}$  e, posteriormente, autoclavado a  $121^{\circ}\text{C}$  e 1,5 atm por 15 minutos.

Os explantes foram mantidos em sala de crescimento com fotoperíodo de 16h de luz intensidade de fluxo de fótons  $20 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-2}$ , fornecidas por lâmpada fluorescente branca fria e temperatura de  $25 \pm 3^{\circ}\text{C}$ .

A UE foi composta por um frasco de vidro de 150 mL contendo 30 mL de meio nutritivo e um explante. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, em esquema fatorial  $2 \times 2$  (meio nutritivo e tipo de explante) com cinco repetições por tratamento, cada repetição consistindo de quatro UEs.

Aos 49 dias de cultivo, avaliaram-se as seguintes variáveis: sobrevivência, estabelecimento, número de nós, número de folhas, altura da parte aérea (mm), presença de raiz e presença de calos na base do explante. A sobrevivência foi indicada pela coloração verde do explante e o estabelecimento, pelo desenvolvimento dos primórdios foliares no explante (emissão de folhas) ou brotos.

Os dados de sobrevivência, estabelecimento, presença de raiz e presença de calo na base do explante foram analisados pelo teste qui-quadrado (Fisher, 1941), sendo considerados, para fins de análise, o somatório das observações dos dois tipos de explantes.

As demais variáveis foram submetidas à análise de variância. As variáveis número de nós, número de folhas e altura da parte aérea foram transformadas para raiz quadrada de  $X + 0,5$ , sendo X o valor observado, para melhorar as suposições de normalidade da análise de variância. O teste de normalidade utilizado foi o de Hartley (Pearson e Hartley, 1970). As análises foram realizadas utilizando-se o pacote estatístico Statistica 6.0 (Statsoft, 1998).

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **Experimento I – oxidação fenólica**

Não foi observada oxidação fenólica em nenhum dos tratamentos analisados. A ausência de oxidação fenólica nos explantes de canafístula (*Peltophorum dubium* (Spreng.)) pode ser por causa da ausência de tendência à oxidação, provavelmente em função da reduzida concentração de fenóis nos tecidos de canafístula (*Peltophorum dubium* (Spreng.)) ou pode ser atribuída à origem seminal dos explantes, uma vez que a maioria dos autores considera que a idade do explante está diretamente relacionada à formação de compostos fenólicos em culturas *in vitro*.

Entretanto, este resultado vai ao encontro do verificado na maioria das espécies lenhosas (Grattapaglia e Machado, 1998). Para explantes de andiroba, Amaral *et al.* (1997), por exemplo, encontraram ser necessária a manutenção das culturas por 7 a 15 dias no escuro para diminuir a oxidação fenólica. Em espinheira-santa (*Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reiss.), o uso de ácido ascórbico foi indispensável para a

regeneração *in vitro* dos explantes (Flores *et al.*, 1998). Já em juazeiro-de-bode (*Celtis* sp), a lavagem em água corrente de ápices caulinares e laterais bem como segmentos nodais impediram a oxidação por fenóis (Sato *et al.*, 2001).

### Experimento II – tipo de explante e meios de cultura

O tipo de explante foi observado ser significativo apenas para a variável altura da parte aérea (Figura 1), com o ápice caulinar sendo superior estatisticamente ( $p < 0,05$ ) - 6,17 mm x 4,77 mm para ápice caulinar e segmento nodal respectivamente. Nas demais variáveis analisadas, não houve comportamento diferenciado dos explantes. Entretanto, o ápice caulinar demonstrou ser mais vigorosa que o segmento nodal, mediante observação visual.

Sabá *et al.* (2002) também encontraram que o segmento apical foi mais eficiente que o segmento nodal na emissão e comprimento médio de brotos de jaborandi. Já Maldonado *et al.* (2001), trabalhando com *Annona muricata* L., verificaram que os segmentos nodais mostraram um melhor comportamento na contaminação fúngica e na viabilidade que os ápices caulinares. Da mesma forma, Pinto *et al.* (1994) observaram que segmentos nodais apresentaram maior produção média de brotações em *Kielmeyera coriacea* Mart. & Zucc.. Esses autores afirmaram que o tipo de explante a ser selecionado dependerá da espécie.

Houve maior sobrevivência e estabelecimento nos explantes desenvolvidos em meio MS que naqueles mantidos no WPM (Tabela 1), sugerindo que o meio MS é mais adequado para o estabelecimento de culturas *in vitro* de canafistula (*Peltophorum dubium* (Spreng.)). A composição de sais do MS parece ser mais adequada às necessidades de desenvolvimento que aquela do WPM cuja concentração de sais é menor que a do MS, não suprimindo seus requerimentos nutricionais. Erig e Schuch (2005), trabalhando com marmeleiro (*Cydonia oblouga* Mill.), observaram o mesmo comportamento superior do MS em relação ao número de gemas.

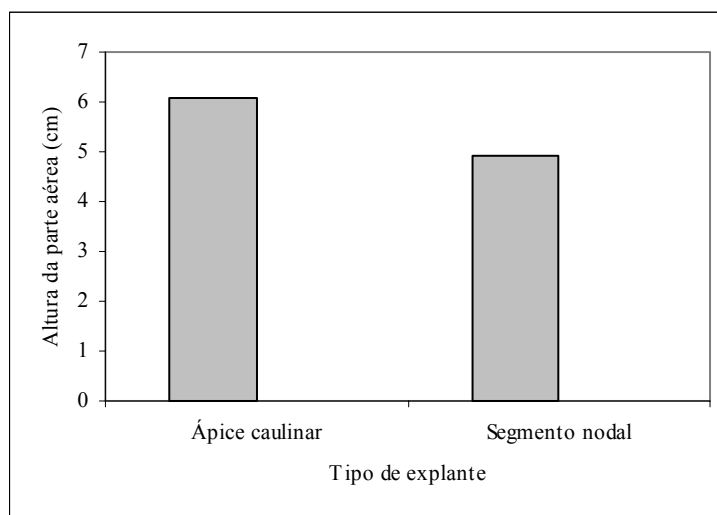


FIGURA 1: Médias da altura da parte aérea em relação ao tipo de explantes, ápice caulinar e segmento nodal para *Peltophorum dubium* (Spreng.) Taub., nos meios de cultura MS e WPM. \*Médias diferem pelo Teste F em nível de 5% de probabilidade de erro. UFSM, Santa Maria, RS, 2006.

FIGURE 1: AVERAGE of shoot height in relation to kind of explant, apical segment and nodal segment of *Peltophorum dubium* (Spreng.) Taub., in MS and WPM nutritive media. \* Averages differ by F's test ( $0,05 < p$ ). UFSM, Santa Maria, RS, 2006.

TABELA 1: Teste qui-quadrado para comparação dos tratamentos em relação à sobrevivência e estabelecimento dos explantes de canafístula (*Peltophorum dubium* (Spreng.) Taub.). UFSM, Santa Maria, RS, 2006.

TABLE 1: Qui-quadrado test for comparison of treatments in relation to (*Peltophorum dubium* (Spreng.) Taub.) explants survival and stablishment. UFSM, Santa Maria, RS, 2006.

Tratamento	Vivo	Morto	Estabelecido	Não-estabelecido	Total
Meio MS	39	4	29	14	43
Meio WPM	12	22	15	19	34
Total	51	26	44	33	77
$\chi^2 = 10,83^1$			$\chi^2 = 3,84^2$		

Em que: 1 = Significativo ao nível de 0,01% de probabilidade de erro (GL = 1); 2 = Significativo ao nível de 5% de probabilidade de erro (GL = 1).

A formação de calos na base do explante foi semelhante em ambos os meios ( $\chi^2 = 3,84^{ns}$ ; g.l. = 1), conforme pode ser observado na Tabela 2. A formação de calos na base do explante de canafístula (*Peltophorum dubium* (Spreng.) Taub.) também foi relatada por Kirst e Sepel (1996). Já para mogno (*Swietenia macrophylla* King), não foi verificada a formação de calos na base do explante (Lopes *et al.*, 2001), o que, segundo os autores, se deve ao fato dos níveis endógenos de auxina do explante serem baixos, não promovendo a formação de calos.

Em estudo com paricá (*Schizolobium amazonicum* Huber ex Ducke), árvore da mesma família da canafístula (*Peltophorum dubium* (Spreng.)), Cordeiro *et al.* (2004), observaram a formação de calos na base do explante, em menor freqüência 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).

Em relação ao enraizamento, não foi encontrada diferença estatística ( $\chi^2 = 3,84^{ns}$ ; g.l. = 1) entre os dois meios, sendo formada apenas uma raiz em um explante, tipo ápice caulinar, cultivado no meio MS, correspondendo a 0,025% de enraizamento. Esse fato demonstra que os meios testados não estimularam a rizogênese em canafístula (*Peltophorum dubium* (Spreng.)) e indica que devem ser efetuadas alterações na composição dos meios para que haja formação de raízes. Kirst e Sepel (1996) também registraram baixos índices de enraizamento (6,25%) em canafístula (*Peltophorum dubium* (Spreng.)), os quais foram encontrados em ápices caulinares cultivados em meio base MS diluído à metade da concentração dos sais e na presença de ANA (0,01 mg.L<sup>-1</sup>). Em aroeira (*Myracrodruon urundeuva* Fr. Allemão), foram observadas raízes em 70 e 10% dos segmentos apical e nodal respectivamente, inoculados em meio MS desprovido de reguladores de crescimento (Andrade *et al.*, 2000). Os autores creditaram o maior enraizamento ocorrido nos segmentos apicais à presença de folhas nesse explante, as quais são promotoras do enraizamento, translocando auxinas, carboidratos e outros fatores de enraizamento para a base do explante.

TABELA 2: Teste qui-quadrado para comparação dos tratamentos em relação à presença de calo na base dos explantes de canafístula (*Peltophorum dubium* (Spreng.)). UFSM, Santa Maria, RS, 2006.

TABLE 2: Qui-quadrado test for comparison of treatments in relation to the presence of callus in the base of the explants of (*Peltophorum dubium* (Spreng.)). UFSM, Santa Maria, RS, 2006.

Tratamento	Presença de Calo	Ausência de Calo	Total
Meio MS	17	22	39
Meio WPM	14	20	34
Total	31	42	73
$\chi^{2ns} = 3,84$ (GL = 1)			

Em que: ns = não-significativo.

Na análise de variância, não foi observada interação significativa entre os fatores meio nutritivo e tipo de explante, sendo verificadas diferenças estatísticas apenas para o efeito principal meio de cultura nas variáveis número de nós e número de folhas exceto para altura da parte aérea, relatado anteriormente, em que houve diferenças entre os tipos de explantes.

O meio de cultura que proporcionou resultados superiores em relação às variáveis número de nós, número de folhas e tamanho da parte aérea dos explantes foi novamente o meio base MS (Murashige e Skoog, 1962), conforme pode ser observado na Tabela 3. Esses resultados ratificam a hipótese de que, dentre os dois meios avaliados, o MS foi o que proporcionou melhor desenvolvimento *in vitro* em canafistula (*Peltophorum dubium* (Spreng.)).

Já em louro-pardo (*Cordia trichotoma* (Vell.) Steud.), Mantovani *et al.* (2001) obtiveram maior estímulo ao desenvolvimento tanto para o número de brotos quanto para o comprimento com o meio WPM em comparação ao MS. Na micropropagação de caixeta *Dydimopanax morototoni* (Aubl.), Dcne. et Planch, Mantovani, *et al.* (1999) também encontraram melhores resultados com o meio WPM. Esses resultados contrastantes aos obtidos no presente trabalho reforçam a tese de que o comportamento *in vitro* de uma espécie não pode ser previsto partindo do desempenho de outras, devendo ser testado caso a caso.

TABELA 3: Médias das variáveis número de nós, número de folhas e altura da parte aérea (mm) nos explantes de canafistula (*Peltophorum dubium* (Spreng.)) cultivados nos meios nutritivos MS e WPM. UFSM, Santa Maria, RS, 2006.

TABLE 3: Averages of number of nodes, number of leaves and shoot height (mm) in (*Peltophorum dubium* (Spreng.)) explants cultivated in MS and WPM nutritive media. UFSM, Santa Maria, RS, 2006.

Variáveis	Meio de cultura	
	MS	WPM
Número de nós	3,51 a	2,42 b
Número de folhas	2,46 a	1,54 b
Altura da parte aérea (mm)	6,44 a	4,74 b

Em que: Médias não-seguidas de mesma letra na linha diferem pelo Teste F da análise de variância ao nível de 5% de probabilidade de erro.

## CONCLUSÕES

Para o controle da oxidação fenólica, não há necessidade de submeter os explantes ao fotoperíodo negativo.

Neste experimento, o meio base MS é mais eficiente que o WPM no estabelecimento *in vitro* de canafistula (*Peltophorum dubium* (Spreng.)).

Não existem diferenças significativas entre a utilização dos explantes.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AMARAL, S.A.; SILVA, A. T. A.; MOTA, M. G. C. *et al.* Uso de tratamentos como antioxidantes de explantes (embrião, endosperma) de andiroba (*Carapa guianensis*). In: SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA FCAP ; SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA EMBRAPA AMAZÔNIA ORIENTAL, 7., 1997, Belém. **Anais...** Belém: FCAP, 1997. p.122-124.
- ANDRADE, M.W.; LUZ, J.M.Q.; LACERDA, A.S. *et al.* Micropropagação de aroeira (*Myracrodruon urundeuva* Fr. Allemão). **Ciência Agrotecnologia**, Lavras, v. 24, n.1, p.174-180, 2000.
- ASSIS, T.F.; TEIXEIRA, S.L. Enraizamento de plantas lenhosas. In: TORRES, A.C.; CALDAS, L.S.; BUSO, J.A. (eds.) **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: EMBRAPA/CNPQ, 1998. p.261-296.
- BORGES JUNIOR, N.; SOBROSA, R.C.; MARTINS-CORDER, M.P. Multiplicação *in vitro* de gemas axilares de acácia-negra (*Acacia mearnsii* De Wild.). **Revista Árvore**, Viçosa, v.28, n.4, p.493-498, 2004.
- CALDAS, L.S.; HARIDASAN, P.; FERREIRA, M.E. Meios Nutritivos. In: TORRES, A.C.; CALDAS, L.S.; BUSO, J.A. (eds.) **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: EMBRAPA/CNPQ, 1998. p.533-568.
- CARVALHO, P.E.R. **Espécies arbóreas brasileiras**. Colombo: EMBRAPA Florestas, 2003. 1039p.
- CARVALHO, P.E.R. **Espécies florestais brasileiras: recomendações silviculturais, potencialidades e usos da madeira**. Colombo: EMBRAPA-CNPQ, 1994. 640p.
- 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.



- DEBERGH, P.C.; READ, P.E. Micropropagation. In: DEBERGH, P. C., ZIMMERMAN, R. H. **Micropropagation: technology and application**. Dordrecht: Kluwer, 1991. p.1-13.
- ERIG, A.C.; SCHUCH, M.W. Multiplicação *in vitro* de marmeleiro (*Cydonia oblonga* Mill.) CV. MC: Efeito do tipo e concentração da formulação salina do meio de cultura. **Revista Científica Rural**, Bagé, v. 10, n.1, p.71-77, 2005.
- FACHINELLO, J.C.; HOFFMAN, A.; NACHTIGAL, J.C. *et al.* **Propagação de plantas frutíferas de clima temperado**. Pelotas: UFPEL, 1994. 179p.
- FISHER, R.A. **Statistical methods for research workers**. 8.ed. London: Oliver and Boyd, 1941. 35p.
- FLORES, R.; STEFANELLO, S.; FRANCO, E.T.H. *et al.* Regeneração *in vitro* de espinheira-santa (*Maytenus ilicifolia* Mart.). **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 4, n.3, p.2001-2005, 1998.
- GAMBORG, O.L.; MILLER, R.A.; OJIMA, K. Nutrient requirements of suspension culture of soybean root cells. **Experimental Cell Research**, v.50, p.151-158, 1968.
- 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.
- GUERRA, M.P.; HANDRO, W. Somatic embryogenesis in tissue cultures of *Euterpe edulis* Mart (Palmae). In: ARAUJA, R. (ed) **Woody plant biotechnology**. New York: Plenum Press, 1991. p.189-196.
- HARTENEY, V.J. Vegetative propagation of Eucalyptus. **Australian Forestry Research**. v.10, p.191-211, 1979.
- KIRST, M.; SEPEL, L.M.N. Micropropagação de *Peltophorum dubium* (Sprengel) Taubert a partir de ápices caulinares de plântulas. In: SIMPÓSIO SOBRE ECOSISTEMAS NATURAIS DO MERCOSUL, 1., 1996, Santa Maria. **Anais...** Santa Maria: UFSM, 1996. p.141-146.
- JONES, T.C.; BATCHELOR, C.A.; HARRIS, P.J.C. In Vitro Culture and Propagation of *Acacia* Species (*A. Bivenosa*, *A. Holosericea*, *A. Salicina*, *A. Saligna*, and *A. Sclerosperma*). **International Tree Crops Journal**, Oxon, v.6, n.2/3, p.183-192, 1990.
- LLOYD, G.; McCOW, B. Commercially feasible micropropagation of montaim laurel, *Kalmia latifolia*, by use of shoot tip culture. **Combinet Proceedings International Plant Propagators Society**, v. 30, p.421-427, 1981.
- LOPES, S.C.; LAMEIRA, O.A.; FORTES, G.R.L. *et al.* Enraizamento *in vitro* de mogno (*Swietenia macrophylla* King). **Cerne**, Lavras, v.7, n.1, p.124-128, 2001.
- LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. 2. ed. Nova Odessa: Plantarum, 1992. 161p. v.1.
- MALDONADO, G.C.C.; VILLALOBOS, M.C.R.; SIERRALTA, S.L. Tipo de explante en el establecimiento *in vitro* del guanábano (*Annona muricata* L.). **Revista de la Facultad de Agronomía**, Maracaibo, n.18, p.258-265, 2001.
- 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.
- MANTOVANI, N.C.; FRANCO, E.T.H.; VESTENA, S. Regeneração *in vitro* de louro-pardo (*Cordia trichotoma* (Vell.) Steud.). **Ciência Florestal**, Santa Maria, v.11, n.2, p.93-101, 2001.
- MARCHIORI, J.N.C. **Dendrologia das angiospermas: leguminosas**. Santa Maria: UFSM, 1997. 200p.
- MARKS, T.R.; SIMPSON, S.E. Reduced phenolic oxidation at culture initiation *in vitro* following the exposure of field-grown stockplants to darkness or low levels of irradiance. **Journal of Horticultural Science**, Ashford Kent, v.65, n.2, p.103-111, 1990.
- MONACO, L.C.; SÖNDAHL, M.R.; CARVALHO, A. *et al.* Applications of tissue culture in the improvement of coffee. In: REINERT, J.; BAJAJ, Y.P.S. **Applied and fundamental aspects of plant cell, tissue, and organ culture**. Berlin: Springer-Verlag, 1977. p.109-126.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bio-assays with tobacco tissue ultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, n. 1, p. 437-496, 1962.
- PARANJOTHY, K.; SAXENAIS, S.; BANERJEE, M. *et al.* Clonal multiplication of woody perennials. In: BHOJWANI, S.S. (ed) **Plant tissue culture: aplications and limitations**. Amsterdam: Elsevier, 1990, p.190-219.
- PEARSON, E.S.; HARTLEY, H.O. **Biometrika tables for staticians**. Cambridge: University Press, 1970, 270p. v.1.
- PERRANDO, E.R. **Propagação vegetativa de acácia-negra (*Acacia mearnsii* De Wild.)**. 2003. 123f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2003.

- PINTO, J.E.B.P.; ARELLO, E.F.; PINTO, C.A. *et al.* Uso de diferentes explantes e concentrações de benzilaminopurina na multiplicação *in vitro* de brotos de *Kielmeyera caribaea*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.29, n.6, p.867-873, 1994.
- RADMANN, E.B.; GONÇALVES, E.D.; FORTES, G.R.L. Concentrações de ácido indolbutírico e períodos de escuro, no enraizamento “*in vitro*” de amoreira-preta (*Rubus* sp.), CV EBANO. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.25, n.1, p 124-126, 2003.
- REITZ, R.; KLEIN, M.; REIS, A. **Projeto madeira do Rio Grande do Sul**. Porto Alegre: Companhia Rio-Grandense de Artes Gráficas, 1988. 525p.
- SABÁ, R.T.; LAMEIRA, O.A.; LUZ, J.M.Q. *et al.* Micropropagação do jaborandi. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 20, n.1, 2002.
- SATO, A.Y.; DIAS, H.C.T.; ANDRADE, L.A. *et al.* Micropropagação de *Celtis* sp. controle da contaminação e oxidação. **Cerne**, Lavras, v.7, n.2, p.117-123, 2001.
- SERAFINI, L.A.; BARROS, N.M.; AZEVEDO, J.L. **Biotecnologia na agricultura e na agroindústria**. Guaíba: Agropecuária, 2001. 463p.
- SINGH, N.K.; SEHGAL, C.B. Micropropagation of “Holy basil” (*Ocimum sanctum* L.) from young inflorescens of mature plants. **Plant Growth Regulation**, Ashford Kent, n.29, p.161-166, 1999.
- STATSOFT. **Statistica for windows. version 6.0**. Tulsa : Statsoft, 1998.
- TEIXEIRA, J.B. **Limitações ao processo de cultivo in vitro de espécies lenhosas**. Disponível em: <<http://www.redbio.org>> Acesso em: 30 nov. 2005.
- THORPE, T.A.; HARRAY, I.S.; KUMAR, P.P. Morphogenesis and regeneration. In: VASIL, I.K.; THORPE, T.A. **Plant cell and tissue cult**. Dordrecht: Kluwer, 1994. p.17-35.
- VILLA, F.; ARAUJO, A.G.; PIO, L.A.S. *et al.* Multiplicação *in vitro* de amoreira-preta ‘ebano’ em diferentes concentrações de meio MS e BAP. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 29, n.3, p.582-589, 2005.