

INDUÇÃO DE BROTAMENTO E DESENVOLVIMENTO DA PARTE AÉREA DE *CARINIANA LEGALIS* SOB DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE CITOCININAS

Esdras Mendes da Cunha¹, Katia Aguiar de Souza Monteiro¹, Luiza Costa Silva¹, Elias Terra Werner¹, Milene Miranda Praça Fontes¹.

¹Universidade Federal do Espírito Santo, ES / Laboratório de Citogenética e Cultura de Tecidos Vegetais, Alto Universitário, S/N, Guararema - 29500-000 - Alegre-ES, Brasil, esdrasmbio@gmail.com, katiamonteiro0603@gmail.com, luiza.csilva111@gmail.com, elias.werner@ufes.br, milenemiranda@yahoo.com.br.

Resumo

Este estudo teve como objetivo avaliar o efeito de diferentes concentrações de citocininas (BAP e KIN) sobre a organogênese in vitro de *Cariniana legalis*, utilizando explantes cotiledonares e apicais. Foram testados sete tratamentos, incluindo controle, com avaliações aos 30 e 60 dias quanto ao número de brotos e ao comprimento da parte aérea. Os resultados demonstraram que o explante cotiledonar apresentou maior eficiência na indução de brotos e no crescimento da parte aérea, especialmente nos tratamentos com BAP 2,5 mg·L⁻¹ e KIN 2,5 mg·L⁻¹, respectivamente. O explante apical mostrou desempenho inferior, embora tenha respondido positivamente ao longo do tempo. Conclui-se que o uso de citocininas em concentrações intermediárias é essencial para otimizar a regeneração de *C. legalis*, contribuindo para o desenvolvimento de protocolos eficientes de propagação in vitro dessa espécie nativa.

Palavras-chave: Organogênese. Citocininas. Cultura de tecidos. Regeneração. Espécies nativas.

Área do Conhecimento: Fisiologia.

Introdução

Cariniana legalis (Mart.) Kuntze, conhecida como jequitibá-rosa, é uma das maiores e mais longevas árvores nativas da Mata Atlântica, podendo ultrapassar 50 metros de altura e viver por séculos. Sua imponência e papel ecológico a tornam um símbolo da biodiversidade brasileira, contribuindo para a estabilidade estrutural da floresta e oferecendo abrigo e alimento para diversas espécies da fauna (Aragão et al., 2017). No entanto, a intensa exploração madeireira, o avanço da urbanização e o desmatamento têm provocado uma drástica redução de suas populações naturais, levando a espécie à condição de vulnerabilidade segundo critérios da IUCN (Ribeiro et al., 2019).

Diante desse cenário, estratégias de conservação ex situ tornam-se essenciais para garantir a perpetuação da espécie. A micropropagação, técnica baseada na cultura de tecidos vegetais, tem se mostrado eficaz na multiplicação de indivíduos em ambiente controlado, com alta taxa de sucesso e independência das condições ambientais externas (Pijut et al., 2012). Essa abordagem é especialmente relevante para espécies arbóreas ameaçadas, cujas sementes apresentam baixa viabilidade ou germinação irregular (Aragão et al., 2017).

Dentro dos protocolos de micropropagação, a etapa de indução de brotamento, também conhecida como fase de multiplicação, é considerada crítica, pois define a capacidade de regeneração clonal e influencia diretamente o sucesso do sistema. O uso de citocininas, como a 6-benzilaminopurina (BAP) e a cinetina (KIN), é amplamente empregado para estimular a formação de brotos e o desenvolvimento da parte aérea dos explantes. Estudos demonstram que concentrações intermediárias de BAP promovem maior número de brotos e melhor alongamento da parte aérea em diversas espécies arbóreas, enquanto concentrações elevadas podem induzir efeitos fitotóxicos ou aumento da oxidação dos tecidos (Oliveira et al., 2020; Aires et al., 2008).

Neste contexto, o presente trabalho tem como objetivo avaliar o efeito de diferentes concentrações de citocininas (BAP e KIN) na indução de brotamento e desenvolvimento da parte aérea de explantes nodais de *Cariniana legalis* cultivados in vitro. A hipótese central é que concentrações intermediárias

de citocininas promoverão maior número de brotos e melhor desenvolvimento da parte aérea, enquanto concentrações elevadas poderão comprometer a resposta morfogênica dos explantes.

Metodologia

O experimento foi conduzido com o objetivo de avaliar o efeito de diferentes concentrações de citocininas na indução de brotamento e no desenvolvimento da parte aérea de explantes apicais e cotiledonares de *C. legalis* cultivados in vitro. Os explantes foram obtidos de plântulas germinadas previamente em meio MS (Murashige & Skoog, 1962) e mantidos sob condições assépticas. Para o cultivo, utilizou-se o meio MS suplementado com sacarose a 3% (p/v) como fonte de carbono, ágar a 0,75% (p/v) como agente solidificante e pH ajustado para 5,8 ($\pm 0,1$), sendo todos os meios autoclavados a 121 °C por 20 minutos. As citocininas testadas foram a 6-benzilaminopurina (BAP) e a cinetina (KIN), aplicadas nas concentrações de 1,0; 2,5 e 5,0 mg·L⁻¹, além de um tratamento controle sem adição de reguladores de crescimento, totalizando sete tratamentos distintos.

Cada tratamento foi composto por 4 repetições, com 5 explantes por pote, totalizando 140 unidades experimentais. Os potes de vidro (85 × 135 mm) contendo 50 mL de meio foram mantidos em sala de crescimento com temperatura constante de 25 $\pm$ 2 °C, fotoperíodo de 16 horas de luz e intensidade luminosa de aproximadamente 40 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, fornecida por lâmpadas fluorescentes brancas frias. As avaliações foram realizadas aos 30 e 60 dias após a inoculação, considerando dois parâmetros principais: número de brotos por explante, comprimento da parte aérea (em centímetros).

Os dados obtidos foram submetidos à análise estatística com o objetivo de verificar diferenças significativas entre os tratamentos. Inicialmente, procedeu-se com a análise de variância (ANOVA) para comparação entre os grupos. Quando a ANOVA revelou diferenças estatisticamente significativas, foi realizado o teste de Tukey para comparações múltiplas, permitindo identificar quais tratamentos diferiram entre si com controle do erro tipo I. As análises foram conduzidas separadamente para cada variável e para cada tempo de avaliação, garantindo maior precisão na interpretação dos efeitos das diferentes concentrações de citocininas sobre os explantes de *C. legalis*.

Resultados

A análise do número de brotos aos 30 e 60 dias revelou diferenças significativas entre os tratamentos e entre os tipos de explantes utilizados.

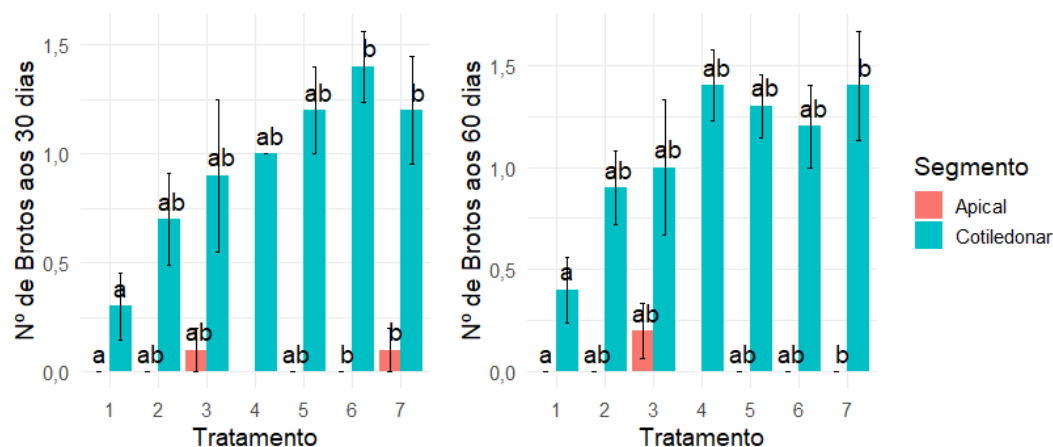
Aos 30 dias, o tratamento com BAP 2,5 mg·L⁻¹ promoveu o maior número médio de brotos, especialmente no explante cotiledonar, que se destacou estatisticamente dos demais. Os tratamentos com BAP 1,0 mg·L⁻¹ e KIN 2,5 mg·L⁻¹ também apresentaram desempenho intermediário, com valores superiores ao controle. O explante apical, por sua vez, mostrou menor resposta geral nesse período, com exceção do tratamento com KIN 2,5 mg·L⁻¹, onde houve leve incremento na brotação.

Aos 60 dias, observou-se um aumento expressivo no número de brotos em todos os tratamentos. O cotiledonar manteve-se como o explante mais eficiente, com destaque novamente para o tratamento com BAP 2,5 mg·L⁻¹, que apresentou os maiores valores médios. O explante apical também mostrou evolução, especialmente nos tratamentos com KIN 2,5 mg·L⁻¹ e BAP 1,0 mg·L⁻¹, embora com desempenho inferior ao cotiledonar. Os tratamentos com concentrações mais elevadas de citocininas (5,0 mg·L⁻¹) apresentaram maior variabilidade e tendência à oxidação, o que pode ter limitado o desenvolvimento dos brotos.

De forma geral, os resultados indicam que o explante cotiledonar é mais responsivo à indução de brotos, principalmente quando cultivado com BAP 2,5 mg·L⁻¹, enquanto o apical apresenta menor eficiência, embora com potencial de desenvolvimento em condições específicas. O controle permaneceu com os menores valores médios em ambos os períodos, evidenciando a importância da suplementação com citocininas para estimular a organogênese.

Figura 1 – Gráficos número de brotos 30 e 60 dias pós inóculo respectivamente.

A Ciência do NANO e seu impacto transformador no MACRO

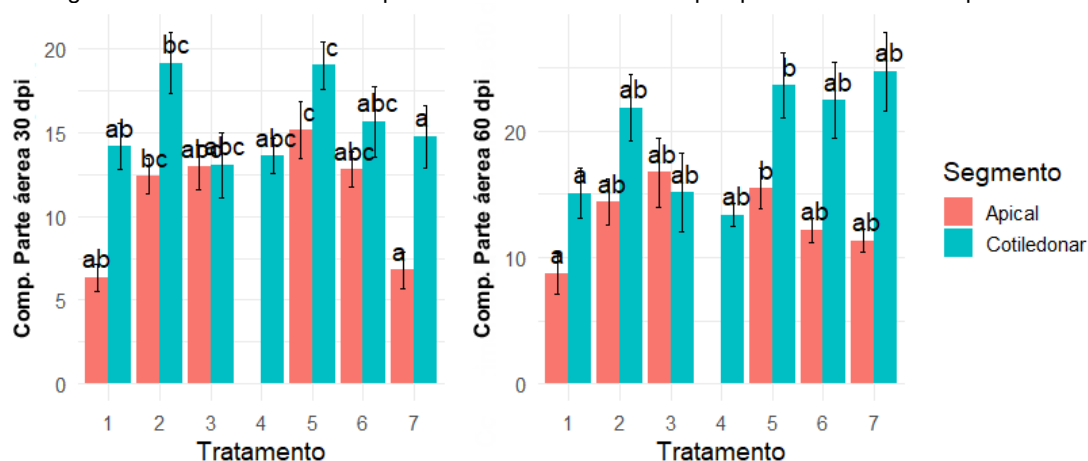


Fonte: o autor (2025).

A análise do comprimento da parte aérea aos 30 e 60 dias revelou variações significativas entre os tratamentos e entre os tipos de explantes utilizados. Aos 30 dias, os explantes cotiledonares (azul) apresentaram maior desenvolvimento da parte aérea em comparação aos apicais (vermelho) na maioria dos tratamentos. O tratamento com KIN $2,5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ destacou-se como o mais eficiente para o crescimento da parte aérea, especialmente nos explantes cotiledonares, que atingiram os maiores valores médios. Os tratamentos com BAP $2,5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ e KIN $1,0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ também promoveram crescimento significativo, embora inferior ao KIN $2,5$. O controle apresentou os menores valores médios, indicando baixa eficiência na ausência de reguladores de crescimento.

Aos 60 dias, observou-se um aumento expressivo no comprimento da parte aérea em todos os tratamentos. O tratamento com KIN $2,5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ manteve-se como o mais eficiente, com destaque para os explantes cotiledonares, que apresentaram crescimento superior e estatisticamente significativo. Os explantes apicais também mostraram evolução, especialmente nos tratamentos com KIN $1,0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ e BAP $2,5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, embora com desempenho inferior aos cotiledonares. Os tratamentos com concentrações mais elevadas ($5,0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) apresentaram maior variabilidade e tendência à oxidação, o que pode ter limitado o crescimento da parte aérea.

Figura 2 – Gráfico crescimento parte aérea aos 30 e 60 dias pós plantio in vitro dos explantes.



Fonte: o autor (2025).

Estes resultados também indicam que o explante cotiledonar é mais eficiente para o desenvolvimento da parte aérea, principalmente quando cultivado com KIN $2,5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, enquanto o apical apresenta menor desempenho, embora com potencial de crescimento em condições específicas.

A Ciência do NANO e seu impacto transformador no MACRO

A presença de citocininas foi determinante para o estímulo da parte aérea, sendo a cinetina mais eficaz nesse aspecto em comparação ao BAP.

De maneira geral, os resultados demonstram que o explante cotiledonar apresentou melhor desempenho tanto na indução de brotos quanto no crescimento da parte aérea, especialmente nos tratamentos com BAP $2,5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ e KIN $2,5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, respectivamente. O explante apical, embora menos responsivo, mostrou evolução ao longo do tempo, com destaque para os mesmos tratamentos. A presença de citocininas foi essencial para estimular a organogênese e o desenvolvimento da parte aérea, sendo a concentração intermediária de $2,5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ a mais eficiente em ambos os casos.

Discussão

Os resultados obtidos neste estudo evidenciam o papel fundamental das citocininas na organogênese in vitro de *Cariniana legalis*, tanto na indução de brotos quanto no crescimento da parte aérea. Observou-se que o explante cotiledonar apresentou desempenho superior em relação ao apical em praticamente todos os tratamentos, especialmente quando cultivado com BAP $2,5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ e KIN $2,5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$. Aos 30 dias, o número de brotos foi significativamente maior nos explantes cotiledonares tratados com BAP $2,5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, enquanto o crescimento da parte aérea foi mais expressivo com KIN $2,5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$. Aos 60 dias, ambos os parâmetros mostraram evolução, com manutenção da superioridade dos mesmos tratamentos e explantes.

Esses achados corroboram com Silva et al., 2018 que destacou a eficácia da BAP na indução de brotos em espécies arbóreas tropicais. Ainda segundo os mesmos, concentrações intermediárias de BAP promovem maior multiplicação de brotos em *Handroanthus impetiginosus*, enquanto concentrações elevadas podem causar oxidação e redução da viabilidade dos explantes. Da mesma forma, a cinetina tem sido associada ao estímulo do crescimento da parte aérea, como demonstrado por Oliveira et al. (2020), que observaram maior alongamento de brotos em *Cedrela fissilis* com KIN $2,5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, reforçando o padrão observado neste estudo. Além disso, a superioridade do explante cotiledonar pode estar relacionada à sua maior plasticidade morfogênica e reserva nutricional, como discutido por Santos et al. (2017), que relataram melhor desempenho de explantes cotiledonares em *Swietenia macrophylla* quando comparados aos apicais. A resposta diferenciada entre os tipos de explante também pode ser atribuída à presença de tecidos meristemáticos mais ativos nos cotiledonares, favorecendo a regeneração.

Portanto, os resultados obtidos indicam que o uso de BAP $2,5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ é mais eficiente para a indução de brotos, enquanto KIN $2,5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ favorece o crescimento da parte aérea, especialmente em explantes cotiledonares. Esses dados contribuem para o aprimoramento dos protocolos de propagação in vitro de *Cariniana legalis*, espécie de relevância ecológica e econômica, e reforçam a importância da escolha adequada de reguladores de crescimento e tipo de explante para maximizar a eficiência da regeneração.

Conclusão

Com base nos resultados obtidos, conclui-se que o uso de citocininas é essencial para o sucesso da organogênese in vitro de *Cariniana legalis*, sendo as concentrações intermediárias de BAP e KIN ($2,5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) as mais eficazes para indução de brotos e crescimento da parte aérea, respectivamente. O explante cotiledonar demonstrou maior potencial regenerativo em comparação ao apical, destacando-se como o mais adequado para protocolos de propagação dessa espécie. Esses achados reforçam a importância da escolha criteriosa de reguladores de crescimento e tipo de explante, contribuindo para o avanço das técnicas de conservação e multiplicação de espécies nativas com valor ecológico e econômico.

Referências

A Ciência do NANO e seu impacto transformador no MACRO

ARAGÃO, V. P. M. et al. Micropropagation of *Cariniana legalis* (Martius) O. Kuntze, an endangered hardwood tree from the Brazilian Atlantic Forest. **Plant Cell Culture & Micropropagation**, Lavras, v. 13, n. 2, p. 41–50, 2017.

AIRES, P. S. R. et al. Efeito da citocinina 6-bencilaminopurina na micropropagação in vitro da mamona utilizando o genótipo BRS Nordestina. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, v. 8, n. 2, p. 1–10, 2008.

OLIVEIRA, A. C. et al. Efeito do BAP na indução de brotações adventícias em *Caesalpinia pyramidalis*. **Embrapa Tabuleiros Costeiros**, Aracaju, SE, p. 1–6, 2020.

PIJUT, P. M. et al. Micropropagation of hardwood tree species: a review. **Scientia Horticulturae**, v. 122, n. 3, p. 311–319, 2012.

RIBEIRO, R. A.; MORAES, M. Lista Vermelha da Flora Brasileira: *Cariniana legalis* (Mart.) Kuntze. **Centro Nacional de Conservação da Flora**, Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2019.

OLIVEIRA, R. M.; LIMA, F. F.; COSTA, J. C. Efeito de citocininas no crescimento de brotos de *Cedrela fissilis* em cultura in vitro. **Revista Brasileira de Biotecnologia**, v. 24, n. 2, p. 45–52, 2020.

SANTOS, A. L.; PEREIRA, M. F.; SOUZA, R. M. Influência do tipo de explante na regeneração de *Swietenia macrophylla* em meio de cultura. **Acta Amazônica**, v. 47, n. 3, p. 215–222, 2017.

SILVA, T. S.; BARBOSA, G. M.; MENDES, A. M. Indução de brotos em *Handroanthus impetiginosus* com diferentes concentrações de BAP. **Pesquisa Florestal Brasileira**, v. 38, n. 96, p. 231–238, 2018.

Agradecimentos

O presente trabalho contou com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) por meio da concessão de bolsa, do subsídio de ajuda de custo (proap) concedido pela Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Espírito Santo, processo 23068.039856/2024-71; e do financiamento do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq – Processo: 407447/2023-7.