

Efeito do BAP e 2IP sobre a indução de calos e regeneração *in vitro* de algodão (*G. hirsutum* L.).

Silva, Kleptura de Oliveira e¹; Freitas, André Luiz Bezerra Falcão²; Aloufa, Magdi Ahmed Ibrahim³.

¹Bióloga, Centro de Biociências/ Universidade Federal do Rio Grande do Norte/UFRN. Campus Universitário, Lagoa Nova; Sem N°. CEP: 59072-970, Natal/RN. EMAIL: kletinha@yahoo.com.br; Fone/Fax: (0**84) 3215 3189; ²Aluno do Curso de Graduação em Biologia, Centro de Biociências/ Universidade Federal do Rio Grande do Norte/UFRN. Campus Universitário, Lagoa Nova; Sem N°. CEP: 59072-970, Natal/RN. EMAIL: zandreluiz@hotmail.com; Fone/Fax: (0**84) 3215 3189; ³Dr. Professor do Departamento de Botânica, Ecologia e Zoologia/DBEZ. Universidade Federal do Rio Grande do Norte./UFRN. Campus Universitário, Lagoa Nova; Sem N°. CEP: 59072-970, Natal/RN. EMAIL: magdi-aloufa@bol.com.br; Fone/Fax: (0**84) 3211-9205.

INTRODUÇÃO

O algodoeiro herbáceo é considerado uma cultura muito suscetível a diversas pragas (Cia, 2000) que causam prejuízo ao seu cultivo e tais patogenias podem surgir logo após a emergência das plantas. A aplicação de tecnologias visando à melhoria da produção no aspecto fitossanitário pode ser uma alternativa para resolver parte dos problemas de produção desta cultura. O desenvolvimento de técnicas de cultura de tecidos vegetais *in vitro* para algodão tem sido um dos processos significativos para o avanço do melhoramento genético na obtenção de novos cultivares resistentes a doenças. Vários trabalhos já foram escritos demonstrando a capacidade de embriogênese somática de diferentes explantes dessa espécie; por exemplo os de Liu (1986) que estudou a indução de embriogênese somática nas espécies silvestres de algodão, *Gossypium raimondii* e *Gossypium davidsonii*, e os trabalhos de Finer (1988), que obteve embriões somáticos em suspensões celulares da cultivar Coker 310 a partir de cotilédones. O objetivo deste trabalho é verificar o efeito da adição de diferentes reguladores de crescimento ao meio de cultivo, MS (1962) e Nitch (1974), na indução de calos e regeneração de brotos em três variedades de *Gossypium hirsutum* a fim de, posteriormente, selecionar células resistentes às doenças que atingem a cultura de algodão.

MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Biotecnologia Vegetal da Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Foram utilizadas sementes dos cultivares de algodoeiro herbáceo, CNPA FACOAL, CNPA BRS 201 e CNPA ITA96 obtidas da Embrapa-Centro Nacional de Pesquisa de Algodão (CNPA), no Município de Campina Grande, PB. As sementes passaram por processos de desinfestação em lavagens com etanol 70%, por cinco minutos, e hipoclorito de sódio 2%, por 20 minutos, e quatro lavagens em água destilada e autoclavada, cada enxágüe com duração de cinco minutos. Posteriormente, a fim de germinarem, foram colocadas em frascos contendo água destilada e esterilizada em papel filtro. Após dois dias de sua germinação *in vitro*, porções de hipocótilos de 1 cm de tamanho foram introduzidas em meio de cultura sólido, Murashige & Skoog (1962) e Nitch (1974), e suplementadas com três concentrações hormonais: 2,5 mg.L⁻¹ de BAP e 2,5 mg.L⁻¹ de 2IP(C₁); 2,5 mg.L⁻¹ de BAP e 2,5 mg.L⁻¹ de 2IP e 150 mg de ácido ascórbico(C₂) e 2,5 mg.L⁻¹ de BAP e 2,5 mg.L⁻¹ de 2IP e 10 g de carvão ativado(C₃). Cada tratamento recebeu as três variedades (CNPA FACOAL, CNPA ITA 96 e CNPA BRS 201) com o objetivo de induzir calos. As culturas permaneceram incubadas a uma temperatura de 26 ± 2°C sob um fotoperíodo de 12 horas luz e intensidade luminosa de 30 μM.m⁻². s⁻¹ Estas culturas foram

analisadas durante 30 dias para a indução de calos e diferenciação das partes aéreas. Após quatro semanas, os calos obtidos foram transferidos para meios frescos de mesma composição e suplementação hormonal durante três subcultivos sucessivos visando a manutenção dos calos e regeneração de brotos. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com 10 unidades experimentais e 3 repetições para todos os tratamentos de indução de calos e diferenciação de brotos, cada uma composta por 1 explante. Os dados analisados são referentes à indução de calos embriogênicos e à percentagem de brotos diferenciados, mediante a comparação das médias pelo teste de Tukey a 5% de significância.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Através das análises efetuadas com relação à indução de calos, observa-se elevados percentuais (100%) para percentagem de indução de calos nas três variedades na suplementação de 2,5 mg.L⁻¹ de BAP e 2,5 mg.L⁻¹ de 2IP e 150 mg de ácido ascórbico (C₂), no meio MS e NITCH; provavelmente em decorrência da composição do meio de cultivo associado às suplementações hormonais (Figura 1). Segundo Litz et al. (1998), a indução de culturas embriogênicas depende do genótipo, do tipo de explante e do estágio de desenvolvimento do explante, além da composição do meio de cultivo *in vitro*. De modo geral, observou-se que a melhor resposta em termos de indução de calos em todos os meios estudados para as variedades foi da ITA 96; este fato sugere que este genótipo em questão responde de forma mais apropriada ao estudo proposto. Bajaj e Gill (1992), afirmam que genótipos diversos respondem de forma diferenciada à organogênese *in vitro*. Com relação à diferenciação de brotos, os melhores resultados foram observados para a variedade FACOAL no meio MS sob efeito da concentração C₃ (90% de regeneração de brotos), dados não verificados para a mesma variedade quando trabalhada em meio semelhante de cultura, na concentração de 2,5 mg.L⁻¹ de BAP e 2,5 mg.L⁻¹ de 2IP (C₁) (Tabela 1), provavelmente devido aos reguladores de crescimento; segundo Grattapaglia e Machado (1998), às citocininas mais utilizadas comercialmente e à 6-benzilaminopurina (BAP), que geralmente apresenta melhores resultados *in vitro*.

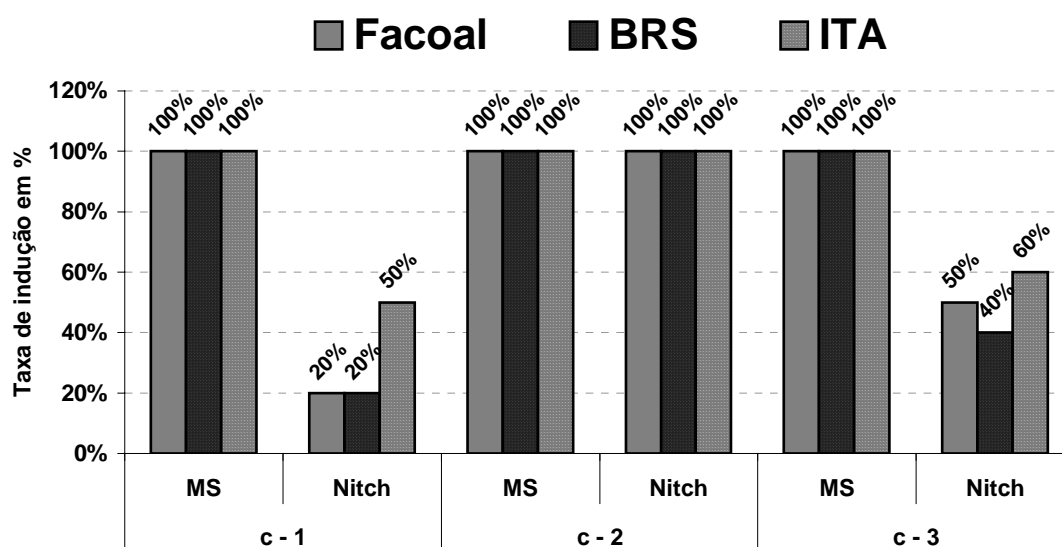


Figura 1 – Percentagem de indução de calos de algodão, sob o efeito de três suplementações, nas variedades CNPA ITA 96, CNPA BRS 201 e CNPA FACOAL.

Concentrações	Meios de cultura	
	MS	NITICH
	Variedades	
2,5 mg.L ⁻¹ de BAP e 2,5 mg.L ⁻¹ de 2IP(C ₁)	FACOAL 0% de brotos	FACOAL 0% de broto
	ITA 96 0% de brotos	ITA 96 30% de brotos
	BRS 201 0% de brotos	BRS 201 10% de brotos
2,5 mg.L ⁻¹ de BAP e 2,5 mg.L ⁻¹ de 2IP e 150 mg de ácido ascórbico(C ₂)	FACOAL 0% de brotos	FACOAL 20% de brotos
	ITA 96 60% de brotos	ITA 96 20% de brotos
	BRS 201 0% de brotos	BRS 201 30% de brotos
2,5 mg.L ⁻¹ de BAP e 2,5 mg.L ⁻¹ de 2IP e 10 g de carvão ativado(C ₃)	FACOAL 90% de brotos	FACOAL 20% de brotos
	ITA 96 30% de brotos	ITA 96 40% de brotos
	BRS 201 0% de brotos	BRS 201 10% de brotos

Tabela 1 – Quantidade média em porcentagem de brotos regenerados nas variedades CNPA ITA 96, CNPA BRS 201 e CNPA, sob dois meios de cultura e diferentes concentrações hormonais

CONCLUSÕES

As variações quanto às taxas na indução de calos e organogêneses são esperadas nas técnicas de cultivo *in vitro*, pois as concentrações nutricionais (reguladores de crescimento, antioxidantes e meios de cultura) e suas interrelações determinam o desenvolvimento e as respostas morfogênicas dos explantes nas espécies cultivadas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BAJAJ, Y. P. S., GILL, M. S. **Micropropagation of cotton (*Gossypium* species)**. In: **Biotechnology in agriculture and forestry**. v. 19. high-tech and micropropagation III. Y. P. S. Bajaj (Ed.). Springer-verlag, Berlin Heidelberg, p. 484-504.

CIA, E. **Doenças do algodão**. Cultivar, Pelotas, v. 22, p. 52-54, 2000.

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

LITZ, R. E., CHAVEZ, V. C.; MOON, P.A. Induction of embryogenic cultures from mature-phase tropical and subtropical trees and control of somatic embryo maturation and germination. In: MANTELL, S. H.; BRUNS, S.; TRAGARDH, C. et al. **Recent advances in biotechnology for conservation and management**. Stockholm: International Foundation for Science, 1998. p. 232-243.

LIU, Z.-H.; WANG, W.-C. & YEN, Y.-S. **Effect of hormone treatment on root formation and endogenous indole-3-acetic acid and polyamine levels of *Glycine max* cultivated *in vitro***. Botanical Bulletin of the Academia Sinica, v. 39, p. 113-118, 1998.

Finer J. j. **Plant regeneration from somatic embryogenic suspension cultures of cotton, *Gossypium hirsutum* L.** Plant Cell Reports, v. 7, p. 399-402, 1988

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. **A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures**. Physiologia Plantarum. Copenhagen, v. 15, p. 473-479, 1962.

NITCH, C. **La culture de pollen isolé sur milieu synthétique**. C. R. Academic Science, Paris, v. 278, p. 1031-1034, 1974.

PALAVRAS-CHAVE

Gossypium hirsutum; indução de calos; reguladores de crescimento; regeneração *in vitro*.