

Calogênese de *Passiflora gibertii* a partir de segmentos cotiledonares.

Figueiredo, Milene Alves¹; Paiva, Renato²; Silva, Diogo Pedrosa Corrêa da³; Souza, Ana Cristina⁴; Porto, Jorge Marcelo Padovani⁵.

¹Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fisiologia Vegetal (UFLA), bolsista CNPq, e-mail: migueiredo@yahoo.com.br; ²Professor Associado do Departamento de Biologia, Setor de Fisiologia Vegetal, Universidade Federal de Lavras (UFLA), Caixa Postal 37, CEP 37200-000, Lavras, MG, fone (35) 3829-1619, e-mail: renpaiva@ufla.br; ³Mestrando do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fisiologia Vegetal (UFLA), bolsista CNPq, e-mail: pedrosacorrea@yahoo.com.br; ⁴Auxiliar de laboratório do Departamento de Biologia, Setor de Fisiologia Vegetal (UFLA), e-mail: acstina@yahoo.com.br; ⁵Mestrando do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fisiologia Vegetal (UFLA), bolsista FAPEMIG, e-mail: marcelo_pado@yahoo.com.br.

INTRODUÇÃO

Na tentativa de otimizar os métodos de propagação de *Passiflora gibertii*, a embriogênese somática apresenta-se como uma das melhores opções, por apresentar algumas vantagens como alta taxa de multiplicação; escalonamento da produção pela manutenção de embriões em meios de cultura; plantio direto da muda sem necessidade de enxertia; além de possibilitar a transferência de genes (Barros, 1999).

O tipo de regulador vegetal bem como as concentrações utilizadas são certamente aspectos importantes no processo de embriogênese somática. De modo geral, auxinas e citocininas são consideradas as duas classes de reguladores vegetais mais importantes para a regulação do crescimento e desenvolvimento organizado em cultura de tecidos (Gaspar et al., 1996). Especificamente quanto ao processo de embriogênese somática *in vitro*, as auxinas desempenham papel essencial na indução do embrião somático em cultura e posterior desenvolvimento desse embrião (Zimmerman, 1993). O regulador mais utilizado com esse propósito é o 2,4-D (Dornellas et al., 1992; Zuo et al., 2002), que pode vir acompanhado de citocininas, como a cinetina. Outro regulador interessante a ser estudado é a auxina picloram, que promove alta indução de calos (Figueiredo et al., 2000; Rosal, 2004; Stella & Braga, 2002).

O objetivo deste trabalho foi determinar um protocolo de indução de calogênese a partir de segmentos foliares cotiledonares em maracujazeiro *Passiflora gibertii*.

MATERIAL E MÉTODOS

Como material vegetal foram utilizadas plantas matrizes jovens de maracujazeiro *Passiflora gibertii* - acesso CPAC MJ-22-01 germinadas *in vivo* e mantidas em sala de crescimento, a 25±2°C de temperatura, irradiância de fótons de 43 μmol m⁻² s⁻¹ e fotoperíodo de 16 horas. Foram utilizadas plantas com 45 dias.

Para a obtenção de calos embriogênicos, foram utilizadas folhas cotiledonares que para serem desinfestadas, foram levadas para câmara de fluxo laminar e imersas em solução de hipoclorito de sódio (NaOCl), com 0,5% de cloro ativo, acrescido de Tween 20 (uma gota por 100 mL de hipoclorito) por 10 minutos e, posteriormente, lavadas 3 vezes em água destilada e autoclavada.

Após desinfestação, as folhas foram excisadas em diâmetros de ≈ 1 cm². Os explantes receberam pequenos cortes por toda a superfície, com bisturi e foram inoculados com a face abaxial em contato com o meio de cultura.

O meio de cultura utilizado foi MS (Murashige & Skoog, 1962), contendo metade da concentração de sais, suplementado com sacarose (3%) e diferentes concentrações de picloram (0; 2,07; 4,14; 6,21 e 8,28 μM) ou 2,4-D (0; 2,26; 4,52; 6,79 e 9,05 μM) combinadas com cinetina (0 e 0,46 μM). O pH do meio foi ajustado para 5,8±1, antes da autoclavagem, a

120°C, durante 20 minutos. Depois de inoculados, explantes foram mantidos no escuro, à temperatura de 25±2°C por 30 dias.

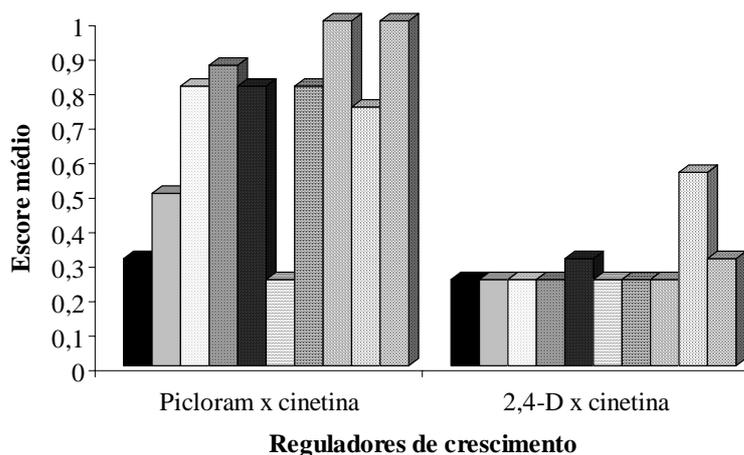
Para análise estatística, a calogênese foi classificada nas seguintes categorias: 0 = ausência de calos; 1 = explantes intumescido; 2 = início da calogênese; 3 = 50% do explante coberto por calos; 4 = mais que 50% do explante coberto por calos e 5 = explante totalmente coberto por calos.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, constituído de 12 repetições por tratamento. Os resultados foram analisados no programa estatístico SAS®, pela correlação de Spearman, utilizando-se o teste de Kruskal-Wallis e obtendo-se o escore médio de formação de calos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Pela Figura 1, observa-se que, de maneira geral, a presença de picloram e cinetina no meio de cultura proporcionou maior formação de calos que a utilização de 2,4-D e cinetina.

Melhores resultados para calogênese a partir de segmentos foliares cotiledonares foram observados com a utilização de 4,14 e 8,28 µM de picloram combinado com 0,46 µM de cinetina, com escore médio de 1. Piores resultados de indução de calos (0,31 e 0,25) foram obtidos na ausência de picloram, independente de cinetina. O regulador 2,4-D induziu uma pequena formação de calos, com maior escore de 0,56, na concentração de 6,79 µM, combinada com 0,46 µM de cinetina.



- Picloram 0 µM x cinetina 0 µM ; 2,4-D 0 µM x cinetina 0 µM
- ▒ Picloram 2,07 µM x cinetina 0 µM ; 2,4-D 2,26 µM x cinetina 0 µM
- Picloram 4,14 µM x cinetina 0 µM ; 2,4-D 4,52 µM x cinetina 0 µM
- ▓ Picloram 6,21 µM x cinetina 0 µM ; 2,4-D 6,79 µM x cinetina 0 µM
- Picloram 8,28 µM x cinetina 0 µM ; 2,4-D 9,05 µM x cinetina 0 µM
- ▒ Picloram 0 µM x cinetina 0,46 µM ; 2,4-D 0 µM x cinetina 0,46 µM
- ▓ Picloram 2,07 µM x cinetina 0,46 µM ; 2,4-D 2,26 µM x cinetina 0,46 µM
- ▒ Picloram 4,14 µM x cinetina 0,46 µM ; 2,4-D 4,52 µM x cinetina 0,46 µM
- ▓ Picloram 6,21 µM x cinetina 0,46 µM ; 2,4-D 6,79 µM x cinetina 0,46 µM
- ▒ Picloram 8,28 µM x cinetina 0,46 µM ; 2,4-D 9,05 µM x cinetina 0,46 µM

FIGURA 1. Indução de calos em segmentos foliares cotiledonares de *P. gibertii* em meio de cultura MS contendo metade da concentração de seus sais e suplementado com diferentes tipos e concentrações de reguladores de crescimento, aos 30 dias de cultivo.

De acordo com Vietz & San-José (1996), citados por Nicioli (2006), em muitos casos, é necessário o suprimento exógeno de reguladores de crescimento para a calogênese.

A interação entre auxinas e citocininas é, muitas das vezes, responsável pela alta indução de calos. Em *Rudgea jasminoides*, Stella & Braga (2002) verificaram que a maior ocorrência de calos foi observada em meio MS suplementado com 2,22 µM de cinetina, associado a 2,07 µM de picloram.

Rosal (2004) utilizou segmentos foliares jovens, oriundos de plântulas com 60 dias de cultivo *in vitro* e *seedlings*, como explantes, em um trabalho de indução de calos em candeia (*Eremanthus erythropappus* (DC.) Mac Leish). A autora estudou o efeito de picloram e 2,4-D, em combinação ou não com as citocininas BAP e cinetina e chegou à conclusão de que o picloram, em geral, apresenta melhores respostas para a formação de calos, em comparação ao 2,4-D. Resultados semelhantes foram obtidos por Figueiredo et al. (2000), que estudaram diferentes tipos e concentrações de reguladores de crescimento na indução de calos em explantes foliares de *Rollinia mucosa*. Os autores concluíram que o meio acrescido de picloram foi o que mais induziu calos.

O presente estudo está de acordo com os autores citados, tendo o picloram, associado à cinetina, promovido maior formação de calos que 2,4-D e cinetina.

CONCLUSÃO

A adição de picloram e cinetina ao meio de cultura promove maior formação de calos em explantes foliares cotiledonares de *P. gibertii* que 2,4-D e cinetina.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BARROS, L. M. Embriogênese somática. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, v.2, p. 36-43, 1999.
- DORNELAS, M. C.; VIEIRA, M. L. C.; APPEZZATO-DA-GLÓRIA, B. Histological Analysis of organogenesis and somatic embryogenesis induced in immature tissues of *Stylosanthes scabra*. **Annals of Botany**, London, v. 70, n. 5, p. 477-482, Nov. 1992.
- FIGUEIREDO, S. F. L.; SIMÕES, C.; ALBARELLO, N.; VIANA, V. R. C. *Rollinia mucosa* cell suspension cultures: establishment and growth conditions. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 63, n. 2, p. 85-92, 2000.
- GASPAR, T.; KEVERS, C.; PENEL, C.; GREPPIN, H.; REID, D.M.; THORPE, T.A. Plant hormones and plant growth regulators in plant tissue culture. **In Vitro Cellular & Developmental Biology**, v. 32, n. 4, p. 272-289, 1996.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 15, n. 3, p. 473-497, 1962.
- NICIOLI, P. M. **Micropropagação e aspectos fitoquímicos de calos de barbatimão [*Stryphnodendron adstringens* (Mart.) - Coville]**. 2006. 89 p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.
- ROSAL, L. F. **Germinação, indução de calos, micropropagação e anatomia foliar da candeia (*Eremanthus erythropappus* (DC.) Mac Leish)**. 2004. 106 p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.
- STELLA, A.; BRAGA, M. R. Callus and cell suspension cultures of *Rudgea jasminoides*, a tropical woody Rubiaceae. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Amsterdam, v. 68, n. 3, p. 271-276, Mar. 2002.

ZIMMERMAN, J. L. Somatic embryogenesis: a model for early development in higher plants. **Plant Cell**, Rockville, v. 5, n. 10, p. 1411-1423, Oct. 1993.

ZUO, J. R.; NIU, Q. W.; FRUGIS, G.; CHUA, N. The WUSCHEL gene promotes vegetative-to-embryonic transition in *Arabidopsis*. **The Plant Journal**, Oxford, v. 30, n. 3, p. 349–359, May 2002.

PALAVRAS-CHAVE

Passiflora gibertii N. E. Brown; indução de calos; regulador de crescimento.