

Meios de cultura e BAP na organogênese direta em barbatimão

Nogueira, Gabriela Ferreira¹; Paiva, Renato²; Vargas, Daiane Peixoto³; Soares, Fernanda Pereira⁴; Padovani, José Marcelo⁵; Silva, Diogo Pedrosa Corrêa da⁶.

¹Graduanda do Curso de Ciências Biológicas (UFLA), bolsista FAPEMIG, e-mail: gabi_bioufla@hotmail.com; ²Professor Associado da Universidade Federal de Lavras (UFLA), Departamento de Biologia, Setor de Fisiologia, Laboratório de Cultura de Tecidos de Plantas, Campus Universitário, Caixa Postal 3037, CEP 37200-000, Lavras, Minas Gerais, fone: (35) 38291619; ³Doutoranda do Programa de Pós-graduação em Fisiologia Vegetal (UFLA), bolsista CNPq, e-mail: dvbio@hotmail.com; ⁴ Doutoranda do Programa de Pós-graduação em Fisiologia Vegetal (UFLA), bolsista CAPES, e-mail: fernandapereirasoes@yahoo.com.br; ⁵Mestrando do Programa de Pós-graduação em Fisiologia Vegetal (UFLA), bolsista FAPEMIG, e-mail: marcelo_pado@yahoo.com.br; ⁶Mestrando do Programa de Pós-graduação em Fisiologia Vegetal (UFLA), bolsista CNPq, e-mail: pedrosacorrea@yahoo.com.br.

INTRODUÇÃO

Recentes estudos sobre a flora de Cerrado apontam uma grande riqueza de espécies, aproximadamente 6.500 plantas vasculares catalogadas (Nicioli, 2006), sendo grande parte destas representadas por espécies úteis ao homem. No elenco das espécies úteis de Cerrado, algumas tem destaque quanto ao seu valor econômico, dentre elas, o barbatimão [*Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville], como medicinal e tanante, entretanto, poucos estudos ligados à domesticação têm sido realizados.

O barbatimão pertence à família Fabaceae é também conhecido como barbatimão-verdadeiro, barba-de-timão, charãozinho-roxo e casca-da-virgindade. A irregularidade na germinação de suas sementes dificulta a obtenção de mudas. Além disso, segundo Lorenzi (2000), o desenvolvimento das mudas e das plantas no campo ocorre lentamente e de forma heterogênea. Por isso, são necessários estudos que contribuam para a caracterização desta espécie.

As técnicas de cultura de tecidos vegetais têm colaborado expressivamente para o avanço do processo de propagação de espécies lenhosas. Dentre elas, destaca-se a micropropagação empregada na multiplicação de clones selecionados (Grattapaglia & Machado, 1998). Uma das vantagens da micropropagação, assim como, de outras técnicas de propagação assexuada está relacionada à possibilidade de capturar e fixar os componentes aditivos e não-aditivos da variância genética por meio da propagação clonal, tornando-se uma ferramenta poderosa associada aos programas de melhoramento florestal para a propagação massal de genótipos superiores (Stein, 2006).

Outros benefícios da micropropagação, em relação aos métodos convencionais da propagação vegetativa, também é o de possibilitar a manipulação e a propagação de plantas de forma contínua, independentemente da época do ano e de forma mais rápida e, ainda, a possibilidade de obtenção e de manutenção de estoques de plantas livres de doenças e o intercâmbio de germoplasma (Grattapaglia & Machado, 1990; Thorpe et al., 1991). Para tanto, são necessários ensaios que permitam conhecer e avaliar o potencial organogênico dos materiais de interesse (Costa, 2005).

As respostas morfogênicas em culturas de células, tecidos e órgãos *in vitro* são dependentes de fatores externos, químicos e físicos, como meio de cultura, reguladores de crescimento e condições ambientais (Vasil, 1987), e também de fatores inerentes ao material vegetal, como fatores hereditários, estado fisiológico do explante e da planta que lhe deu origem (Thorpe et al., 1991). Dos fatores externos, podem-se destacar a utilização dos reguladores de crescimento como as citocininas, que são indispensáveis à divisão celular, à quebra da dominância apical, à indução e à proliferação de gemas axilares e à diferenciação de gemas adventícias (Preece, 1995).

O objetivo deste trabalho foi verificar o efeito do tipo meio de cultura e diferentes concentrações de BAP na indução de brotações *in vitro* de barbatimão.

MATERIAL E MÉTODOS

Plântulas provenientes de sementes germinadas *in vitro* em MS (Murashige & Skoog, 1962), mantidas em sala de crescimento, a $25 \pm 2^\circ\text{C}$ de temperatura, irradiância de fótons de $36 \mu\text{mol s}^{-1} \text{m}^{-2}$ e fotoperíodo de 16 horas foram utilizadas como explantes.

Segmentos caulinares com aproximadamente 2,0 cm, contendo duas gemas caulinares, foram inoculados em meios de cultura MS ou WPM (Lloyd & Mc Cown, 1980) contendo 3% de sacarose, suplementados com diferentes concentrações de benzilaminopurina – (BAP) (0; 0,1; 0,5; 1,0; 1,5 e 3,0 mg L^{-1}), totalizando doze tratamentos. O meio foi solidificado com 0,7% de ágar e seu pH foi ajustado para 5,8, antes da autoclavagem a 120°C , durante 20 minutos.

Após a inoculação, os segmentos foram mantidos em sala de crescimento a $25 \pm 2^\circ\text{C}$ de temperatura, irradiância de fótons de $36 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e fotoperíodo de 16 horas. Após 60 dias, foram avaliados o número de brotações por explante, o comprimento e o número de gemas da maior brotação e a presença de calos na base dos explantes.

Utilizou-se o experimento inteiramente casualizado com fatorial dois (MS e WPM) x seis (concentrações de BAP), com 15 repetições por tratamento, sendo cada repetição composta por um tubo de ensaio com um explante. Os dados foram submetidos à análise de variância utilizando-se o Software SISVAR e as médias comparadas pelos modelos lineares generalizados.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Conforme a Tabela 1, observa-se que dos caracteres analisadas, somente o comprimento das brotações não diferiu estatisticamente dos tratamentos.

Para o número de brotações, o meio MS suplementado com $3,0 \text{ mg L}^{-1}$ de BAP foi o que apresentou melhor resultado, com média de 2,6 brotos por explantes (Figura 1) diferindo dos demais tratamentos. A menor taxa de proliferação de brotos ocorreu nos meios sem adição de BAP.

Com relação ao número de gemas, o tratamento MS + $1,0 \text{ mg L}^{-1}$ BAP foi o que obteve maior média (3,8 gemas por brotação), sendo significativamente diferente dos demais ($p > 0,05$).

Tabela 1. Número médio de brotações, comprimento e número de gemas da maior brotação nos explantes caulinares de barbatimão no meio MS e WPM acrescidos de BAP em diferentes concentrações.

Meio de cultura+ BAP mg L^{-1}	Número de Brotações*	Comprimento das brotações (cm)*	Número de Gemas*
MS	0,8b	0,8a	1,4b
MS+ 0,1	1,2ab	1,4a	2,6ab
MS + 0,5	1,6ab	0,9a	2,4ab
MS + 1,0	2,0ab	1,5a	3,8a
MS + 1,5	1,6ab	0,7a	1,8b
MS + 3,0	2,6a	1,1a	2,4ab
WPM	0,9ab	1,0a	1,7b
WPM + 0,1	1,8ab	1,4a	2,5ab
WPM + 0,5	1,2ab	1,6a	2,6ab
WPM + 1,0	1,7ab	1,7a	2,8ab
WPM + 1,5	1,0ab	0,8a	1,8b
WPM + 3,0	1,12ab	1,1a	2,5ab

*Letras minúsculas, na coluna, diferiram entre si ao nível de 1%.



Figura 1. Aspecto visual das brotações *in vitro* de barbatimão obtidos a partir de segmentos nodais em meio MS e WPM com adição de BAP.

Conciliando a maior formação de brotações e de gemas, o meio de cultura MS contendo $1,0 \text{ mg L}^{-1}$ BAP pode ser indicado para a fase de multiplicação.

Santos et al. (2006), estudando a micropropagação de pequi, concluiu que a presença de BAP no meio de cultivo é essencial para a indução de brotações em segmentos nodais desta espécie. Todavia, a combinação de BAP e ANA possibilita maior taxa de indução e desenvolvimento das brotações.

Em todos os tratamentos acrescidos do regulador de crescimento BAP, tanto no meio MS quanto WPM, verificou-se a formação de calos na base dos explantes.

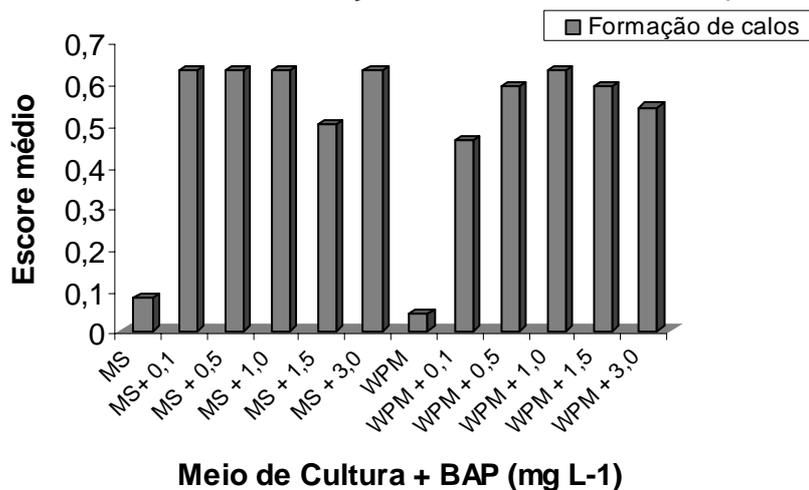


Figura 2. Formação de calos na base de explantes de Barbatimão em meio MS e WPM acrescidos de regulador de crescimento BAP.

Esta calogênese pode ter sido desencadeada pelo balanço hormonal da região em contato com o meio de cultura, onde o equilíbrio entre as concentrações endógenas e exógenas de auxinas e de citocininas promove a formação de calos.

CONCLUSÕES

A concentração de $3,0 \text{ mg L}^{-1}$ proporciona a maior formação de brotos.

A concentração de $1,0 \text{ mg L}^{-1}$ produz maior número de gemas.

Recomenda-se a concentração de $1,0 \text{ mg L}^{-1}$ de BAP por proporcionar, concomitantemente, maiores valores de formação de brotos e gemas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

COSTA M. A. P. de C.; CARMO, D. O. do; SOUZA, F. V. L. D., MAGALHÃES, G. L. de; HANSEN, D. de S. **Efeito de diferentes concentrações de GA₃ (ácido giberélico) no alongamento de brotações in vitro de jenipapo (*Genipa americana*)**. Disponível em: www.ufpel.tche.br/sbfruti/anais_xvii_cbf/propagacao/705.htm - [anais_xvii_cbf/fitotecnia/355.htm](http://www.ufpel.tche.br/sbfruti/anais_xvii_cbf/fitotecnia/355.htm)>. Acesso em: 10 abril. 2007.

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S. **Técnicas e aplicações da cultura de tecidos de plantas**. Brasília: ABCTP, EMBRAPA-CNPQ, 1990. p. 99-169.

LLOYD, G.; MC COWN, B. Commercially-feasible micropropagation of Mountain laurel, *Kalmia latifolia*, by use of shoot tip culture. **International Plant Propagation Society Proceedings**, Washington, v. 30, p. 421-427, 1980

LORENZI, H. **Árvores brasileiras**: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. 3. ed. Nova Odessa: Editora Plantarum, 2000. v. 2.

NICIOLI, P.M. **Micropropagação e aspectos fitoquímicos de calos de barbatimão [*Stryphnodendron Adstringens* (Mart.) Coville] – Fabaceae**. 2006. 103p. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) – Universidade Federal de Lavras: UFLA.

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.

PREECE, J. E. Can nutrient salts partially substitute for plant growth regulator. **Plant Tissue Culture and Biotechnology**, Dordrecht, v. 45, n. 1, p. 26-37, 1995.

THORPE, T. A.; HARRY, I. S.; KUMAR, P. P. Application of micropropagation to forestry. In: DEBERGH, P. C.; ZIMMERMAN, R. H. **Micropropagation: technology and application**. Dordrecht: Kluwer Academic Press, 1991. p. 311-336.

SANTOS, B.R.; PAIVA, R.; NOGUEIRA, R.C.; OLIVEIRA, L.M.; SILVA, D.P.C.; MARTINOTTO, C.; SOARES, F.P.; PAIVA, P.D. de O. **Micropropagação de Pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.)**. Revista Brasileira de Fruticultura. Jaboticabal SP, v.28, n.2, p. 293-296, Agosto 2006.

STEIN, V. C. **Micropropagação, índice mitótico e análise ultra-estrutural de calos de *inga vera* Wild. subsp. *affinis* (DC) T.D. Penn.**. 2006. 100 p. (Dissertação de Mestrado). Universidade Federal de Lavras: UFLA.

VASIL, I. K. Developing cell and tissue culture systems for the improvement of cereal and grape crops. **Journal of Plant Physiology**, Stuttgart, v. 128, n. 3, p. 193-218, May 1987.

PALAVRAS-CHAVE:

Stryphnodendron adstringens, MS, WPM, brotação.