

## Indução de calos em segmentos nodais de barbatimão

Nicioli, Patrícia Matile<sup>1</sup>; Paiva, Renato<sup>2</sup>; Nogueira, Rairys Cravo<sup>3</sup>; Peixoto, Daiane Vargas<sup>4</sup>; Lima, Miller Marani<sup>5</sup>; Castro, Ana Hortência Fonseca<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Mestre em Fisiologia Vegetal do Programa de Fisiologia Vegetal da Universidade Federal de Lavras (UFLA), e-mail: [pmnicioli@yahoo.com.br](mailto:pmnicioli@yahoo.com.br); <sup>2</sup>Professor Associado, Universidade Federal de Lavras (UFLA), Setor de Fisiologia Vegetal, Departamento de Biologia, Setor de Fisiologia Vegetal, CEP: 37200-000, Lavras, Minas Gerais, Brasil, Caixa Postal: 3037, e-mail: [renpaiva@ulfa.com.br](mailto:renpaiva@ulfa.com.br); <sup>3</sup>Pós-doutoranda em Fisiologia Vegetal (UFLA), Bolsista FAPEMIG, e-mail: [rairys@yahoo.com.br](mailto:rairys@yahoo.com.br); <sup>4</sup>Doutoranda em Fisiologia Vegetal (UFLA), bolsista CNPq, e-mail: [dvbio@hotmail.com](mailto:dvbio@hotmail.com); <sup>5</sup>Bolsista de Iniciação Científica – FAPEMIG; <sup>6</sup>Professora, Centro Universitário de Lavras (UNILAVRAS).

### INTRODUÇÃO

A cultura de calos tem tido grande importância para a propagação *in vitro* em larga escala de diversas espécies vegetais. O calo é uma massa de células que se proliferam desordenadamente, formando um tecido mais ou menos organizado que, geralmente, surge sobre feridas de órgãos e tecidos diferenciados. Os calos se desenvolvem a partir de um pequeno pedaço de órgão de determinada planta e têm a capacidade de se diferenciar em tecidos, órgãos e até embriões, podendo regenerar plantas inteiras (Paiva & Paiva, 2001; Pierik, 1990; Torres & Caldas, 1990).

Vietz & San-José (1996) relatam que o balanço de fitorreguladores provenientes dos níveis de auxinas e citocininas, exógenas e endógenas à planta, é capaz de estimular a proliferação celular. A calogênese depende de fatores importantes, como a seleção do explante, meio de cultura adequado e condições ambientais. O meio nutritivo deve conter sais, fonte de carbono, vitaminas e reguladores de crescimento em concentrações adequadas a calogênese. Quanto às condições da cultura, a temperatura pode ser entre 25°C e 30°C e pode ocorrer na luz, no escuro ou em baixa irradiância. A cultura é geralmente feita em meio sólido e a textura do calo pode variar de compacta a friável. A cultura de calos pode ser utilizada para o isolamento de protoplastos, estudo dos tipos de células, seleção celular, embriogênese somática, organogênese e a produção de metabólitos secundários (Pinto & Lameira, 2001). No caso do barbatimão [(*Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville)], esta espécie é considerada medicinal pela produção de tanino, um dos produtos do metabolismo secundário do grupo dos fenóis.

Desta maneira, objetivou-se avaliar o efeito de diferentes concentrações de picloram e cinetina na calogênese em segmentos nodais de barbatimão, visando estudos futuros de produção de metabólitos secundários *in vitro*.

### MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho foi realizado no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais da Universidade Federal de Lavras (UFLA), utilizando-se plântulas de barbatimão obtidas por meio da germinação *in vitro*.

Segmentos nodais com 1,0 cm de comprimento foram inoculados em tubos de ensaio contendo o meio de cultura MS, suplementado com diferentes concentrações de picloram e cinetina (Tabela 1), além de 30,0 g L<sup>-1</sup> de sacarose. O meio foi solidificado com 6,0 g L<sup>-1</sup> de ágar e o pH foi corrigido para 5,8, antes da autoclavagem. A incubação foi realizada no escuro, à temperatura de 25 ± 2°C.

A avaliação foi realizada 60 dias após a inoculação, verificando-se a matéria fresca dos calos nos diferentes tratamentos.

Utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado e as médias foram comparadas pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância.

TABELA 1. Tratamentos utilizados para a indução de calos em segmentos nodais de barbatimão, em função da combinação de picloram + cinetina, no meio de cultura MS.

Tratamentos	Picloram (mg L <sup>-1</sup> )	Cinetina (mg L <sup>-1</sup> )
T0	0,0	0,0
T1	0,0	0,1
T2	0,5	0,0
T3	0,5	0,1
T4	1,0	0,0
T5	1,0	0,1
T6	2,0	0,0
T7	2,0	0,1

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A calogênese iniciou-se ao longo da segunda semana de cultivo, em todos os tratamentos utilizados. Os valores referentes à matéria fresca dos calos encontram-se expressos na Tabela 2.

TABELA 2. Matéria fresca de calos de barbatimão obtidos de segmentos nodais na presença de picloram e cinetina.

Tratamentos	Matéria fresca dos calos (g)
Picloram (0,5mg L <sup>-1</sup> )	0,120 a
Picloram (2,0,mg L <sup>-1</sup> )	0,116 a
Picloram (0,5 mg L <sup>-1</sup> ) + cinetina (0,1 mg L <sup>-1</sup> )	0,095 a
Picloram (1,0 mg L <sup>-1</sup> ) + cinetina (0,1 mg L <sup>-1</sup> )	0,088 a
Picloram (2,0 mg L <sup>-1</sup> ) + cinetina (0,1 mg L <sup>-1</sup> )	0,077 b
Picloram (1,0 mg L <sup>-1</sup> )	0,076 b
Cinetina (0,1 mg L <sup>-1</sup> )	0,055 b
Controle	0,033 b

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, a 5% de significância, pelo teste de Scott-Knott.

Verifica-se que meios suplementados com picloram nas concentrações de 0,5 e 2,0 mg L<sup>-1</sup> e com picloram (0,5 e 1,0 mg L<sup>-1</sup>) associado com 0,1 mg L<sup>-1</sup> de cinetina induziram a formação de calos com maiores valores de matéria fresca, quando comparados aos demais tratamentos testados. Meios contendo alta concentração de picloram (2,0 mg L<sup>-1</sup>), associado com cinetina (0,1 mg L<sup>-1</sup>) ou com concentração intermediária de picloram (1,0 mg L<sup>-1</sup>) e aqueles suplementados apenas com 0,1 mg L<sup>-1</sup> de cinetina, induziram calos com valores de matéria fresca semelhantes àqueles obtidos na ausência dos reguladores testados (p<0,05).

A escolha dos explantes utilizados neste experimento partiu do pressuposto de que os tecidos jovens, não lignificados, geralmente, são mais apropriados para a cultura de tecidos. Conforme envelhece o órgão do qual se retira o explante, o número de divisões celulares e a capacidade de regeneração diminuem (Pierik, 1990). Além disso, um explante com células jovens (meristemáticas) apresenta um grande potencial para iniciar a proliferação celular rapidamente, quando comparado com tecidos em que há presença de células diferenciadas (Soares, 2003). Diante disso, os segmentos nodais jovens de barbatimão mostraram-se eficientes na formação e na proliferação de calos.

Apesar dos tratamentos 0,5 e 2,0 mg L<sup>-1</sup> de picloram, 0,5 mg L<sup>-1</sup> de picloram + 0,1 mg L<sup>-1</sup> de cinetina e 1,0 mg L<sup>-1</sup> de picloram + 0,1 mg L<sup>-1</sup> de cinetina induzirem calos com os mesmos valores de matéria fresca (p<0,05), observou-se que, na prática, o mais viável economicamente, para a produção de calos com maiores valores de matéria fresca (0,120 g) é a utilização de meio de cultivo MS suplementado com a auxina picloram, na concentração de 0,5 mg L<sup>-1</sup>.

Pesquisas realizadas por Hagen et al. (1990) também evidenciaram a eficiência do picloram, na concentração de 2,4 mg L<sup>-1</sup>, na indução de calos em batata.

As auxinas são muito utilizadas em trabalhos de micropropagação, sendo incorporadas ao meio de cultura para promover formação de calos, crescimento de células em suspensão, órgãos e regulação da morfogênese, especialmente quando associada à citocinina. A escolha dos compostos e a concentração necessária dependem do tipo de crescimento ou desenvolvimento necessário, do nível da auxina endógena do explante, da capacidade do tecido cultivado de sintetizar auxina naturalmente e da interação entre a auxina sintética aplicada e da auxina endógena (George, 1993).

Diante do resultado exposto, foi constatado que, para o barbatimão, a quantidade endógena de hormônios proporcionou suporte suficiente para a indução de calo, pois, na ausência dos reguladores, houve formação de calos, mesmo que com menores valores de matéria fresca. Entretanto, é imprescindível a suplementação do meio nutritivo com reguladores de crescimento visando otimizar a produção de matéria fresca do mesmo. Esta constatação é relatada por Vietz & San-José (1996), os quais mencionaram que, em muitos casos, é necessário o suprimento exógeno de reguladores de crescimento para a calogênese.

A interação entre auxinas e citocininas também tem sido responsável por bons resultados em relação à indução e à elevação nos valores da matéria fresca dos calos formados. Em *Rudgea jasminoides*, Stella & Braga (2002) verificaram que meios MS, suplementados com 0,48 mg L<sup>-1</sup> de cinetina, associados à mesma concentração de picloram, induziram maior ocorrência de calos. Vários trabalhos têm demonstrado também, que certos grupos de plantas respondem mais facilmente em culturas *in vitro* que outros. Estas diferenças mostram que as condições ideais para o cultivo *in vitro* variam com o genótipo em estudo (Ammirato, 1986).

A partir destes resultados, outros experimentos estão sendo conduzidos para estimular a produção de taninos *in vitro*, uma vez que a formação de calos é etapa crucial para o estabelecimento de suspensões celulares.

## CONCLUSÃO

Meio de cultura MS suplementado com 0,5 mg L<sup>-1</sup> de picloram induz calos com maiores valores de matéria fresca (0,120 g).

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMMIRATO, P.V. Control and expression of morphogenesis in culture. In: WITHERS, L.A.; ALDERSON, P.G. **Plant tissue culture and its agricultural applications**. London: Butterwoths, 1986. Cap.2, p.23-45.

GEORGE, E.F. The components of culture media. In: \_\_\_\_\_. **Plant propagation by tissue culture**. 2.ed. Great Britain: Exegetics, 1993. Cap.9, p.273-343.

HAGEN, S.R. et al. Initiation and culture of potato tuber callus tissue with picloram. **Plant Growth Regulation**, v.9, p.341-345, 1990.

PAIVA, R.; PAIVA, P.D.O. **Textos acadêmicos: cultura de tecidos**. Lavras: UFLA/FAEPE, 2001. 97 p.

PIERIK, R.L.M. **Cultivo *in vitro* de las plantas superiores.** Martins Nijoff, 1990. 326p.

PINTO, J. E. B. P.; LAMEIRA, O. A. **Textos acadêmicos:** Micropropagação e metabólitos secundários *in vitro* de plantas medicinais. Lavras: FAEPE/UFLA. 2001. 101 p.

SOARES, G. de A. **Aspectos do cultivo *in vitro* do ingazeiro [*Inga vera* WILLD. Subsp. *Affinis* (DC.) T.D. PENN.]**. 2003. 107p. Dissertação (Mestrado em Agronomia. Fisiologia Vegetal)-Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

STELLA, G.A.; BRAGA, M.R. Callus and cell suspension culture of *Rudgea jasminoides*, a tropical woody Rubiaceae. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Amsterdam, v.69, n.3, p.271-276, Mar. 2002.

TORRES, A.C.; CALDAS, L.S. **Técnicas e aplicações da cultura de tecidos de plantas.** Brasília: EMBRAPA/ CNPH, 1990. 433p.

VIETEZ, A.M.; SAN-JOSÉ, M.C. Adventitious shoot regeneration from *Fagus sylvatica* leaf explants *in vitro*. **In vitro Cellular & Developmental Biology**, Columbia, v.32, n.3, p.140-147, July/Sept. 1996.

#### PALAVRAS-CHAVES

*Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville; calogênese; picloram; cinetina.