

Efeito de citocininas, ANA e meio de cultura na indução de calos em anteras de Trepadeira-Jade

Silva, Diogo Pedrosa Corrêa da¹; Paiva, Patrícia Duarte de Oliveira²; Paiva, Renato³; Deuner, Sidnei⁴; Figueiredo, Milene Alves de⁴; Souza, Ana Cristina⁵.

¹Mestrando do Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal (UFLA), bolsista CNPq, e-mail: pedrosacorrea@yahoo.com.br, ²Professora Adjunta, Universidade Federal de Lavras (UFLA), Depto. de Agricultura, Campus Universitário, Caixa Postal 3037, CEP 37200-000, Lavras, Minas Gerais, e-mail: pdoliveir@ufla.br, fone (35) 3829-1786; ³Professor Associado, Depto. de Biologia, Setor de Fisiologia Vegetal (UFLA), e-mail: renpaiva@ufla.br; ⁴Doutorando em Fisiologia Vegetal (UFLA); ⁵Auxiliar administrativo.

INTRODUÇÃO

Trazida para o Brasil pelo paisagista Burlle Marx, a Trepadeira-Jade (*strongylodon macrobotrys*) é uma espécie originária das Filipinas e possui beleza exótica. Seu principal atrativo são as flores azul-esverdeadas que formam cachos de até 1 m de comprimento. Normalmente, alcança em média de 6 a 8 metros. Suas flores surgem nos cachos florais que a planta emite no período que vai do fim do inverno ao início da primavera. O nome popular foi inspirado justamente pela sua coloração - uma mistura de azul e verde - semelhante à da pedra preciosa chamada jade.

De habitat liana esta espécie apresenta uma grande dificuldade de reprodução; tanto sexual quanto assexual.

No cultivo *in vitro*, um dos métodos que possibilitam a propagação em massa de uma determinada espécie é o cultivo de calos, que pode também ser utilizado para a produção de metabólitos secundários e para o desenvolvimento de um sistema de transformação genética.

Os calos podem ser obtidos por meio de cultivo *in vitro* de vários tipos de explantes, dentre estes as anteras.

Utilizando-se cultura de anteras, o número de plantas necessário para a obtenção de uma nova cultivar é sensivelmente menor, ou seja, é igual à raiz quadrada do número usado em programas convencionais de melhoramento (Dufour *et al.*, 1995).

Este trabalho tem como objetivo a obtenção de calos a partir de anteras de Trepadeira Jade para auxiliar na micropropagação da espécie.

MATERIAL E MÉTODOS

Os explantes utilizados foram retirados de flores maduras, mas ainda fechadas, estas passaram por processo de assepsia com álcool 70% por 2 minutos e depois com hipoclorito de sódio 2% por 5 minutos e após foi feito a triplice lavagem com água autoclavada.

As anteras foram extraídas sob por meio de uma incisão em um dos lados dos botões e removidas com auxílio de pinça e bisturi previamente esterilizados.

Os explantes foram inoculados em tubos de ensaio (23 x 137mm) contendo 15ml de meio de cultura.

Utilizou-se os meios MS (Murashige & Skoog, 1962) e WPM (McCown & Lloyd, 1981) contendo 30 g L⁻¹ de sacarose, solidificado com 6g L⁻¹ de ágar, suplementado com 21 tratamentos constituído de diferentes combinações de BAP (0; 1; 2mg L⁻¹) e ANA (0; 0,1; 1mg L⁻¹), TDZ (0; 0,1; 1mg L⁻¹) e ANA (0; 0,1; 0,5mg L⁻¹) e Cinetina (0; 1; 2mg L⁻¹) e ANA (0; 0,1; 0,5mg L⁻¹). O pH dos meios foi ajustado para 5,8 e posteriormente autoclavado a uma temperatura de 121° C e a 1 atm de pressão, por 20 minutos. Após a inoculação, os tubos foram para sala de crescimento, onde foram mantidos por 30 dias com um fotoperíodo de 16 horas, temperatura de 25± 1° C e com irradiância de fótons de 36µmol m⁻² s⁻¹. A avaliação foi realizada 30 dias após a inoculação, avaliando-se a porcentagem de calos.

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado com 10 repetições sendo cada repetição formada por um tubo de ensaio com um explante. o teste de probabilidade utilizado foi o de Scott-Knott, considerando significância de 5%.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Observou-se que o uso 0,5 mg L-1 TDZ + 1 mg L-1 ANA (T15), em meio MS, apresentou maior média na calogênese de anteras (Tabela 1). Além disso, somente neste tratamento ocorreu a diferença significativa entre os meios MS e WPM.

Tabela 1. Médias das porcentagens de formação de calos em anteras.

Tratamentos (mg L ⁻¹)	WPM (%)	MS (%)
T1 (0,0)	0bA	0cA
T2(0, 0,1ANA)	0,62bA	1,87cA
T3(0, 1ANA)	1,25bA	1,87cA
T4(1BAP,0ANA)	0bA	1,25cA
T5(1BAP, 0,1ANA)	0,62bA	5cA
T6(1BAP, 1ANA)	10,62aA	16,25bA
T7(2BAP,0ANA)	0,62bA	0,62cA
T8(2BAP,0,1ANA)	0,62bA	5cA
T9(2BAP, 1ANA)	14,37aA	16,25bA
T10(0,1TDZ, 0ANA)	0bA	1,25cA
T11(0,1TDZ, 0,1ANA)	1,25bA	5cA
T12(0,1TDZ, 1 ANA)	0bA	3,75cA
T13(0,5TDZ, 0ANA)	0bA	1,87cA
T14(0,5TDZ, 01ANA)	1,87bA	3,75cA
T15(0,5TDZ, 1ANA)	0,62bB	50aA
T16(1CIN,0ANA)	0bA	0cA
T17(1CIN, 0,1ANA)	0bA	0cA
T18(1CIN, 1ANA)	0bA	0cA
T19(2CIN, 0ANA)	0bA	0cA
T20(2 CIN, 0,1ANA)	0bA	0cA
T21(2CIN, 1ANA)	0bA	0cA

* Médias com letras maiúsculas iguais na linha e letras minúsculas iguais na coluna não diferem entre si ($P \geq 0,05$).

Segundo Pasqual et al. (2002) a adição de cinetina e ANA ao meio de cultura teve influência negativa na formação de calos a partir de anteras de cafeeiro. À medida que aumenta a dosagem dos reguladores de crescimento decresce a formação de calos. Diferentemente com os resultados obtidos com Trepadeira-jade onde não houve a formação de calos em nenhuma concentração de cinetina

De acordo com Sunderland e Dunwell (1977), citados por Mantell et al. (1994), as espécies podem ser classificadas de acordo com a sua independência ou não de hormônios. O meio de cultura é denominado simples quando não são necessários hormônios e complexo, no caso dos hormônios serem requeridos. Segundo os autores, as espécies que não requerem hormônios no meio de cultura possuem, geralmente, pólen bicelular, enquanto as espécies cujos grãos de pólen desenvolvem-se somente na presença de hormônios produzem tanto pólen bicelular quanto tricolular.

Sendo assim, a Trepadeira-Jade, onde a antera se desenvolve em meio de cultura com reguladores de crescimento.

A utilização de anteras como explantes para obter calos para posterior utilização na micropropagação da trepadeira-jade foi satisfatório para as citocininas BAP e TDZ, sendo o tratamento T15 no meio MS obteve maior media.

CONCLUSÃO

A utilização de anteras como explantes para obter calos para posterior utilização na micropropagação da trepadeira-jade é satisfatório quando utiliza-se 0,5 mg L⁻¹ TDZ + 1 mg L⁻¹ ANA em meio MS.

O uso do regulador de crescimento Cinetina não proporciona desenvolvimento de calos em anteras de Trepadeira-Jade nas concentrações utilizadas.

REFERENCIA BIBLIOGRAFICA

DUFOUR; M.; JIMENEZ; M.; DURIS; D. Haplomethods: factors controlling callus obtention on *Coffea Arabica* anthers. In: COLLOQUE DE L'ASIC, 16., 1995, Kyoto. **Annals...** Kyoto, 1995. p.765-770.

LENTINI, Z. et al. **Mejoramiento del arroz con cultivo de anteras: aplicaciones en el desarrollo de germoplasma adaptado a ecosistemas latinoamericanos y el Caribe.** Cali: CIAT, 1994. 79p.

MANTELL, S.H.; MATHEWS, J.A.; MCKEE, R.A. Principios de biotecnologia em plantas: uma introdução a engenharia genética em plantas. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética, 1994, 344 p.

McCOWN, B.; LLOYD, G. Woody plant medium (WPM)- a mineral nutrients formulation for microculture of woody plant species. **HortScience**, Alexandria, v. 16, n. 3, p. 453, June 1981

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A. A revised medium for rapid growth and bioassays with tabaco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 15, n. 3, p. 473-497, 1962.

GEORGE, E. F.; SHERRINGTON, P. D. **Plant propagation by tissue culture.** Eversley: Exegetics, 1984. 709 p.

PASQUAL, M., MACIEL, A.L.deR., CAMPOS, K.P.de, SANTOS, E.C., CAMPOS R.J.C. de. **Indução de calos em anteras de café(*Coffea arabica* L.) cultivadas *in vitro*.** Ciênc. agrotec., Lavras, v.26, n.1, p.71-76, jan./fev., 2002

PETERS, J.A.; BOBROWSKI, V.L.; ROSINHA, G.M.S. Produção de haplóides e duplohaplóides. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. (Ed.). **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas.** Brasília: EMBRAPA-SPI/EMBRAPA-CNPQ, 1998. p. 569-612.

ZIMMERMANN, R. H.; BROOME, O. C. Phoroglucinol and *in vitro* rooting of the apple cultivar cuttings. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 106, n. 5, p. 648-652, Sept. 1981.

PALAVRAS-CHAVE:

Strongylodon macrobotrys, calogênese, regulador de crescimento, plantas ornamentais.