

Indução de calos em ovários de Trepadeira-Jade

Silva, Diogo Pedrosa Corrêa da¹; Paiva, Patrícia Duarte de Oliveira²; Paiva, Renato³; Deuner, Sidnei⁴; Rodrigues, Marcelo⁵; Campos, Ana Carolina Atala Lombelo⁶.

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; ⁴Pós-doutoranda (UFLA), bolsista FAPEMIG, e-mail: rairys@yahoo.com.br. ⁵Graduando em Ciências Biológicas (UFLA); ⁶Mestranda em Fisiologia Vegetal (UFLA).

INTRODUÇÃO

A Trepadeira Jade é uma planta herbácea com as hastes lenhosas grossas com uma polegada ou mais de diâmetro e aproximadamente 21.3 m de comprimento. As folhas são trifoliatas com os três folíolos oblongos, cada um aproximadamente 7-12 cm.

A cor aquamarine das flores da Trepadeira-jade é quase original no reino de planta. A Trepadeira-Jade é cultivada no Havaí, e suas flores são usadas nos colares havaianos.

É uma trepadeira, originária das Filipinas, pertencente à família das Leguminosas. Seu crescimento é vigoroso e, em condições especiais, pode alcançar até 20 metros 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.

A cultura de ovários fornece um sistema controlado para o estudo dos aspectos nutricionais e fisiológicos do desenvolvimento de frutos e formação de sementes. Este método também é utilizado para a propagação de plantas, a indução de haplóides partenogênicos e a recuperação de híbridos interespecíficos e intergenéricos

A obtenção de plantas duplo-haplóides é uma ferramenta biotecnológica promissora e sua principal vantagem reside no fato de que em apenas uma geração em laboratório poderão ser obtidas plantas 100% homozigotas, permitindo desta forma, um extraordinário ganho de tempo na fixação de caracteres de interesse e na otimização da seleção de constituições genéticas superiores (LENTINI et al., 1994).

O AIA, ANA e o AIB são as auxinas mais utilizadas no meio (Zimmerman, 1981), sendo adicionadas no meio de cultura normalmente em baixas concentrações (George & Sherrington, 1984).

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 tríplice lavagem com água autoclavada.

Os ovários foram extraídos por incisão em um dos lados dos botões e removidos 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

Comparando os tratamentos no meio MS, foi observado que obtiveram maior indução de calor os tratamentos contendo concentrações respectivas de BAP e ANA: 0 e 0 mg L⁻¹; 0 e 0,1 mg L⁻¹; 0 e 1 mg L⁻¹; 1 e 1 mg L⁻¹; 2 e 0 mg L⁻¹; 2 e 1 mg L⁻¹; e de TDZ e ANA nas concentrações de 0,5 e 0 mg L⁻¹; 0,5 e 0,1 mg L⁻¹, respectivamente. Sendo que os outros paramentos não foram significativos.

Tabela 1: Médias das porcentagens de formação de calos em ovários.

Tratamentos (mg L ⁻¹)	WPM (%)	MS (%)
T1 (0,0)	2,2aB	13,67aA
T2(0, 0,1ANA)	1,43bB	12,09aA
T3(0, 1ANA)	1,56aB	15,87aA
T4(1BAP,0ANA)	0bA	1,25bA
T5(1BAP, 0,1ANA)	0,62bA	5bA
T6(1BAP,1ANA)	1,62aA	1,25bA
T7(2BAP,0ANA)	0,62bB	16,2aA
T8(2BAP,0,1ANA)	0,62bA	5bA
T9(2BAP,1ANA)	1,37aB	16,25aA
T10(0,1TDZ, 0ANA)	0bA	1,25bA
T11(0,1TDZ, 0,1ANA)	1,25bA	5bA
T12(0,1TDZ, 1 ANA)	0bA	3,75bA
T13(0,5TDZ, 0ANA)	0bB	13,87aA
T14(0,5TDZ, 0,1ANA)	1,87bB	14,75aA
T15(0,5TDZ, 1ANA)	0,62bB	5,04bA
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≥ 0,05).

O BAP geralmente é associado com a auxina para a indução de calo. Landa et al. (2000) utilizaram o BAP associado com a auxina ANA para induzir calogênese em explantes foliares de pequi.

O meio de crescimento não foi satisfatório para o desenvolvimento de calos obtendo baixa formação de calos.

A presença do citocinina cinetina mostrou total ineficiência no desenvolvimento de calos de ovários de Trepadeira-Jade, pois não promoveu a formação.

CONCLUSÃO

A maior formação de calos ocorre em meio MS suplementado com 2 mg L⁻¹ BAP e 1 mg L⁻¹ ANA ou 0,5 mg L⁻¹ de TDZ e 0,1 mg L⁻¹ de ANA.

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

REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA

GEORGE, E. F.; SHERRINGTON, P. D. **Plant propagation by tissue culture: handbook and directory of commercial laboratories.** Eversley, Exegtics 1984.

LANDA, F. S. L.; PAIVA, R.; PAIVA, P. D. O.; BUENO FILHO, J. S. S. Indução *in vitro* de calos em explantes foliares de pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 24, p. 56-63, 2000. Edição Especial.

LENTINI, Z.; REYES, P.; MARTINEZ, C.P.; NÚÑEZ, V.M.; ROCA, W.M. **Mejoramiento del arroz con cultivo de anteras.** Cali: CIAT, 1994. 79p.

MANTELL, S. H.; MATTHEWS, J. A.; MCKEE, R. A. **Princípios de biotecnologia em plantas:** uma introdução à engenharia genética em plantas. Ribeirão Preto: SBG, 344p. 1994.

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 revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 15, n. 3, p. 473-497, 1962.

PASQUAL, G.; MANES, F.; MONACELLI, B.; NATALE, L.; ANSELMI, S. Effects of the culture medium pH and ion uptake *in vitro* vegetative organogenesis in thin cell layers of tobacco. **Plant Science**, Clare, v. 162, p. 947-955, 2002.

ZIMMERMAN, R. H. Micropropagation of fruit plants. **Acta Horticulturae**, Wageningen, n. 120, p. 217-222. 1981.

PALAVRAS-CHAVE:

Strongylodon macrobotrys, calogênese, regulador de crescimento, plantas ornamentais