

Efeito da integridade do cotilédone sobre o potencial regenerativo de diferentes variedades de *Vigna unguiculata* (L.) Walp).

Silva, Karime Soares da¹; Dias, André Luís de França²; Rivas, Rebeca²; Montarroyos, Pedro Augusto Veras¹; Maia, M. M. D.¹ Costa, Antonio Félix da³; Houllou-Kido, Laureen Michelle³

¹ Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), Departamento de Agronomia, Av. Dom Manuel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos, Recife/PE telefone: (81)33206003 e-mails: karyagronomia@hotmail.com; pedro_montarroyos@hotmail.com; mascena2000@yahoo.com.br ² Universidade de Pernambuco (UPE) – Instituto de Ciências Biológicas (ICB), Av. Agamenon Magalhães, s/n, Santo Amaro, Recife/PE, CEP 50100-010, fone (81) 3416-4000, e-mails: andreluisfd@hotmail.com; rebecarivas@gmail.com; ³ Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária (IPA), Lab. de Genoma e de Cultura de Tecidos Vegetais, Av. Gal. San Martin 1371, Bonji, Recife/PE. Telefone (81)21227372 e-mails: felix@ipa.br, laureenkido@ipa.br;

INTRODUÇÃO

O caupi (*Vigna unguiculata* (L) Walp) é uma leguminosa com altos níveis de proteína. Sendo assim, o caupi é considerado um alimento importante para base da alimentação das populações das regiões Norte e Nordeste do Brasil (BERGMAN *et al*, 1996). Conhecido como feijão de corda, feijão macassar e feijão miúdo dentre outros, o Caupi é cultivado em cerca de 12,5 milhões de hectares mundialmente (FAO). Apesar de sua importância é uma cultura que apresenta baixa produtividade necessitando, portanto do desenvolvimento de novas cultivares adaptadas às diferentes regiões. Entre as várias estratégias utilizadas para o desenvolvimento de novas cultivares, a cultura de tecidos tem se destacado como uma alternativa de impacto. No entanto para a adoção de uma das técnicas de melhoramento não convencional (indução de mutação ou transgenia) é necessário que se estabeleçam as condições adequadas à regeneração *in vitro*. Este trabalho foi elaborado para se avaliar o efeito da integridade do cotilédone de *Vigna unguiculata* sobre o potencial de regeneração *in vitro*.

METODOLOGIA

O experimento foi conduzido no laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais da Empresa Pernambucana de Pesquisas Agropecuárias (IPA). As cultivares utilizadas nesse experimento foram IPA 206, TE 96 290 12G, TE 96 290 6G, TE 97 304 G12 e TE 97 304 G4. As sementes foram inicialmente desinfestadas em álcool 70% (3 minutos), posteriormente foram colocadas em hipoclorito a 5% (10 minutos) e, finalmente, lavadas duas vezes (5 minutos) em água destilada e autoclavada. A seguir, as sementes foram incubadas em solução de antibiótico (cefalexina 500mg/100ml) por 24h. Em condições assépticas, foram colocadas em placas de Petri contendo papel de filtro estéril e umedecido com água destilada e autoclavada. Cada placa continha cinco sementes, num total de dez sementes por cultivar. As placas de Petri foram envolvidas com papel filme e mantidas em sala de crescimento com temperatura constante de 27 °C e fotoperíodo de 16 horas luz. Após a germinação das sementes, foram retirados os tegumentos e separados os eixos embrionários dos cotilédones em câmara de fluxo laminar e retirada a extremidade que estava em contato com o eixo embrionário. As extremidades e os cotilédones foram colocados em meio MS (Murashige & Skoog, 1962), suplementado com Tiamina 0,5 mg L⁻¹, Piridoxina 0,5 mg L⁻¹, Ac. Nicotínico 0,5 mg L⁻¹, BAP; 2mg L⁻¹, sacarose 30g L⁻¹ e Agar 9g L⁻¹. O pH foi ajustado para 5,9 antes da autoclavagem a 121°C e uma atm, por 20 minutos. Em condições assépticas, foram inoculados quatro cotilédones, voltados com a parte interna para o meio de cultura, e quatro extremidades dos cotilédones em frascos com capacidade para 250 ml, contendo 30 ml de meio. Após a inoculação, os explantes foram transferidos para sala de crescimento, mantidos a uma temperatura de 27°C e fotoperíodo de 16 horas / luz. Foram utilizados 12 cotilédones e 12 extremidades de cotilédones por tratamento, tendo o experimento sido avaliado semanalmente. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Apenas cotilédones íntegros, que não foram cortados no pólo de ligação com o embrião, apresentaram capacidade regenerativa. Esses cotilédones apresentaram alteração da coloração, assumindo um tom esverdeado antes de iniciar o processo regenerativo. No entanto, os cotilédones que foram cortados apresentaram um gradual necrosamento dos tecidos. Nenhum dos explantes cortados (cotilédone ou parte do cotilédone) apresentou potencial regenerativo (figuras 1, 2, 3 e 4).



Figura 1: Aspecto da variedade IPA 206 após a retirada da extremidade que estava em contato com o eixo embrionário. Cotilédones necrosados após 21 dias.



Figura 2: Aspecto da variedade TE 96 290 12G após a retirada da extremidade que estava em contato com o eixo embrionário. Cotilédones necrosados após 21 dias.



Figura 3: Aspecto da variedade TE 96 290 6G após a retirada da extremidade que estava em contato com o eixo embrionário. Cotilédones necrosados após 21 dias.



Figura 4: Aspecto da variedade TE 97 304 G4 após a retirada da extremidade que estava em contato com o eixo embrionário. Cotilédones necrosados após 21 dias.



Figura 5: Aspecto da variedade TE 97 304 G12 após a retirada da extremidade que estava em contato com o eixo embrionário, Embora não estivesse necrosado, não houve regeneração de tecidos. Em 30 dias a partir da inoculação todos os cotilédones da cv TE 97 304 G12 estavam necrosados.

Estes resultados indicam que a integridade do cotilédone de *Vigna unguiculata* é fundamental para a manutenção do potencial organogênico *in vitro*. O potencial regenerativo de segmentos do cotilédones (nódulos cotiledonares) já foi descrito na literatura em *Glycine max* (Wright *et al*, 1986). No entanto, a importância da integridade do explante sobre o potencial regenerativo já foi descrita em *Phaseolus* e em *Arachis hypogaea* (Malik e Saxena, 1992; Saxena *et al*, 1992).

CONCLUSÃO

A integridade do cotilédone interfere no potencial regenerativo de *Vigna unguiculata*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALUÍZIO, B. **Melhoramento de espécies cultivadas**. Viçosa: ed. UFV. 2005. 969p.
- ARAÚJO, J.P.P. **O caupi no Brasil**. 1 ed. Brasília – DF: IITA/EMBRAPA.1988. 722p.
- BERGMAN, C.J., GUALBERTO, D.G., WEBER, C.W. **Nutritional evaluation of a high temperature dried soft wheat pasta supplemented with cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp)**. Archivos Latinoamericanos de Nutrición, Guatemala, v.46, n.2, p.146-153, 1996.
- FAO disponível em: www.fao.org.br/publicacoes.asp acesso em 19 de maio de 2007.
- MALIK, K.A.; SAXENA P. K. Regeneration in *Phaseolus vulgaris* L.: High-frequency induction of direct shoot formation in intact seedlings by N⁶-benzylaminopurine and thidiazuron. **Planta** v.183, n.6, p. 384-389,1992.
- MURASHIGE T.; SKOOG F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 15, n. 4, p. 473-497, 1962.
- SAXENA, P. K.; MALIK K. A.; GILL, R. Induction by thidiazuron of somatic embryogenesis in intact seedlings of peanut **Planta** v.187, n.3, p. 421-424,1992.
- TORRES, A. C. **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. 1 ed. Volume 1 Brasília: EMBRAPA-SPI 1998. 509p

WRIGHT, M. S.; KOEHLER, S.M.; HINCHEE, M. A.; CARNES M.G. Plant regeneration by organogenesis in *Glycine max*. **Plant Cell Reports**, v.5, p.150-154, 1986.

ZIMMERMANN, M.J. **Cultura do feijoeiro fatores que afetam a produtividade**. Piracicaba: Associação brasileira para pesquisa do potássio e do fosfato. 1988. 589p.

PALAVRAS-CHAVE

Feijão-caupi, organogênese, potencial regenerativo *in vitro*.

www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-204X2001000300016&lng=pt&nrm=iso

ⁱ

ⁱ Agradecimentos: UFRPE, IPA.