

Curva de crescimento de calos de maracujazeiro *Passiflora gibertii* N. E. Brown.

Figueiredo, Milene Alves¹; Paiva, Renato²; Silva, Luciano Coutinho³; Porto, Jorge Marcelo Padovani⁴; Nogueira, Gabriela Ferreira⁵.

¹Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fisiologia Vegetal (UFLA), bolsista CNPq, e-mail: migueiredo@yahoo.com.br; ²Professor Associado do Departamento de Biologia, Setor de Fisiologia Vegetal, Universidade Federal de Lavras (UFLA), Caixa Postal 37, CEP 37200-000, Lavras, MG, fone (35) 3829-1619, e-mail: renpaiva@ufla.br; ³Graduando em Agronomia (UFLA), bolsista de Iniciação Científica - CNPq, e-mail: lucoutsilva@yahoo.com.br; ⁴Mestrando do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fisiologia Vegetal (UFLA), bolsista FAPEMIG, e-mail: marcelo_pado@yahoo.com.br; ⁵Graduanda em Ciências Biológicas (UFLA), bolsista de Iniciação Científica - FAPEMIG, e-mail: gabi_bioufla@hotmail.com.

INTRODUÇÃO

Calos são classificados como grupo ou massa de células com crescimento desordenado, as quais podem apresentar certo grau de diferenciação (Torres et al., 2000; Nogueira, 2004).

O estabelecimento da curva de crescimento de calos de determinada espécie é importante para identificar as fases em que ocorrem processos fundamentais ao seu crescimento. Obtendo-se essas informações, é possível estabelecer o momento exato de repicagem dos calos para um meio fresco (Soares, 2003).

A taxa de crescimento de calos pode apresentar cinco estágios: a fase lag, na qual as células se preparam para dividir; a fase exponencial de crescimento, na qual a divisão das células é máxima; a fase linear de crescimento, na qual as divisões diminuem e as células crescem; a fase de desaceleração do crescimento e a fase estacionária, onde o número de células é constante (Smith, 1992).

O objetivo deste trabalho foi determinar a curva de crescimento de calos originados de explantes foliares de maracujazeiro *Passiflora gibertii*.

MATERIAL E MÉTODOS

Como explantes, foram utilizados segmentos foliares obtidos de plantas matrizes jovens de maracujazeiro *Passiflora gibertii* – acesso CPAC MJ-22-01 da coleção de germoplasma da Embrapa Cerrados (CPAC), Planaltina, DF - germinadas e mantidas em sala de crescimento a 25±2°C de temperatura, irradiância de fótons 43 µmol m⁻² s⁻¹ e fotoperíodo de 16 horas.

Para a desinfestação, as folhas foram imersas em solução de hipoclorito de sódio (NaOCl) com 0,5% de cloro ativo, acrescido de Tween 20 (uma gota por 100 mL de hipoclorito) por 10 minutos e, posteriormente lavadas 3 vezes em água destilada e autoclavada.

Após desinfestação, as folhas foram excisadas em diâmetros de ≈ 1 cm² e efetuados pequenos cortes na face abaxial, a qual ficou em contato com o meio de cultura MS (Murashige & Skoog, 1962) contendo metade da concentração de seus sais, acrescido de BAP (8,88 µM), sacarose (3%), água de coco (5%) e solidificado com ágar (0,5%). O pH do meio foi ajustado para 5,8±1 antes da autoclavagem a 120°C, durante 20 minutos.

Após inoculação, os explantes foram mantidos em sala de crescimento sob irradiância de fótons de 36 µmol m⁻² s⁻¹, temperatura de 25±2°C e fotoperíodo de 16 horas.

Para a determinação da curva de crescimento, em intervalos de 10 dias, os calos de maracujazeiro foram pesados em balança de precisão para determinação da matéria fresca e, logo após, acondicionados em estufa de circulação forçada a 70°C, por 72 horas, para determinação da matéria seca. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, constituído de quatro repetições por ponto da curva, sendo cada repetição composta por

cinco explantes. Os resultados foram submetidos à análise de variância, utilizando-se o software estatístico SISVAR®.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O crescimento dos calos foi observado pelos parâmetros: massa fresca e massa seca dos calos. Observou-se crescimento sigmoidal, com tendência de ganho de matéria fresca, em função do aumento do tempo de cultivo (Figura 1).

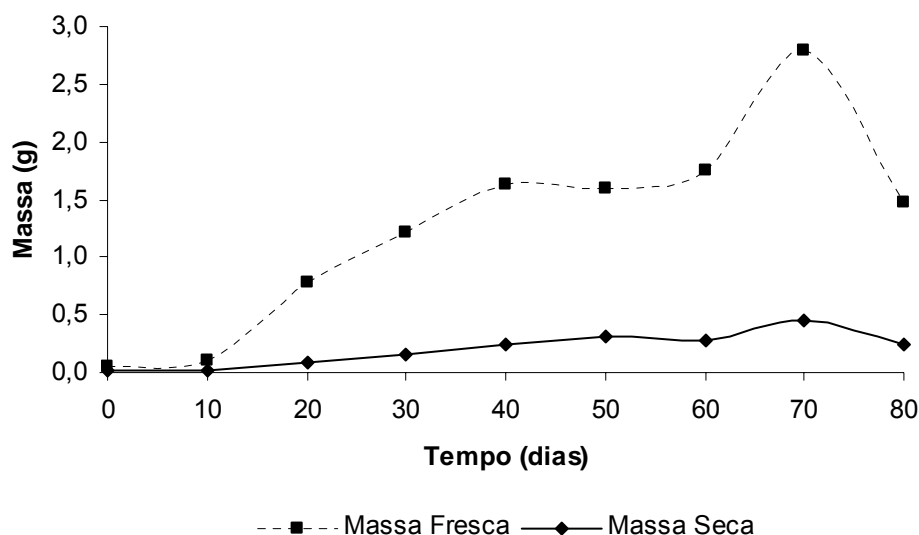


FIGURA 1. Curva de crescimento de calos de maracujazeiro *Passiflora gibertii*. UFLA, Lavras, MG, 2007.

Até o 10° dia, o pequeno acúmulo de massa seca no calo caracterizou a fase lag, na qual as células do explante preparam-se para divisão. Nesta fase, tem-se número estacionário de células, início da mobilização de metabólitos, síntese de proteínas e produção de energia. Mezzetti et al. (1991), avaliando o crescimento de calos obtidos com base em segmentos foliares de *Actinidia deliciosa* C.F. Liang, Hayward, observaram um acúmulo de matéria fresca e seca até o 30° dia após a inoculação. Em calos de *Bertholletia excelsa* H.B.K., Serra et al. (2000) também observaram que a fase lag ocorreu até o 30° dia de inoculação. Já Stein (2006) observou esta fase até o 40° dia após a inoculação de segmentos foliares de ingazeiro [*Inga vera* Willd. subsp. *affinis* (DC.) TD. Penn.]. Para calos obtidos a partir de segmentos foliares de *Coffea arabica* cv Rubi, Santos et al. (2003) verificaram essa fase até o 42° dia de inoculação. O longo período observado, por esses autores, nessa fase pode estar relacionado com a utilização de explantes primários retirados de plantas com diferentes genótipos e estágios fisiológicos (Serra et al., 2000).

A fase de crescimento exponencial (log), período no qual ocorre a máxima divisão celular, ocorreu entre o 10° e o 60° dia após a inoculação, com um maior acúmulo de matéria seca (Figura 1). Santos et al. (2003) observaram a fase exponencial entre o 42° e 77° dia de cultivo de calos de *Coffea arabica* L., cv Rubi. Em calos de *Bertholletia excelsa* H.B.K. esta fase ocorre entre o 30° e 53° dia de cultivo (Serra et al., 2000) e em calos de *Inga vera* Willd. subsp. *affinis* (DC.) TD. Penn. entre 40° e 50° dia após a inoculação (Stein, 2006).

A fase de crescimento linear, em que os calos estabilizam a divisão celular e aumentam a área celular, foi observado entre o 60° e 70° dia de cultivo. Essa fase é caracterizada pelo crescimento e desenvolvimento celular. Serra et al. (2000) observaram a fase linear em calos de *Bertholletia excelsa* H.B.K. entre o 53° e 60° dia de inoculação.

Santos et al. (2003) verificaram que esta fase ocorre entre o 77° e 84° dia de cultivo em calos de *Coffea arabica* L., cv Rubi e em calos de *Inga vera* Willd. subsp. *affinis* (DC.) TD. Penn. entre 50° e 70° dia após a inoculação (Stein, 2006). Serra et al (2000) afirmam que a fase linear pode ser atingida mais rapidamente, variando de acordo com a espécie, principalmente quando se utiliza explantes secundários, em que o tecido se apresenta mais homogêneo.

A fase de desaceleração do crescimento ocorreu entre o 70° e 80° dia de cultivo. Stein (2006) também observou essa fase no mesmo período, para calos de *Inga vera* Willd. subsp. *affinis* (DC.) TD. Penn. Já Serra et al. (2000) observaram o intervalo de desaceleração do crescimento entre o 60° e 67° dia de inoculação em calos de *Bertholletia excelsa* H.B.K. Segundo Smith (1992), é nessa fase que os calos devem ser repicados em razão principalmente da redução de nutrientes, secagem do ágar ou mesmo acúmulo de substâncias tóxicas no meio de cultura. Dessa forma, a repicagem de calos provenientes de folhas de maracujazeiro *P. gibertii* deve ser efetuada no início da fase de desaceleração, ou seja, aos setenta dias de cultivo.

A fase estacionária do crescimento não foi observada durante o período avaliado.

CONCLUSÕES

A curva de crescimento de calos de explantes foliares de *P. gibertii* N. E. Brown apresenta um elevado acúmulo de massa fresca de calos, com crescimento tipo sigmóide, com quatro fases distintas: lag (entre 0 e 10° dias de inoculação), exponencial (10° ao 60° dia), linear (60° ao 70° dia) e desaceleração (70° ao 80° dia). A repicagem de calos provenientes de folhas de maracujazeiro *P. gibertii* deve ser efetuada no início da fase de desaceleração, ou seja, aos setenta dias de cultivo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

MEZZETTI, B.; CONTE, L.S.; ROSATI, P. *Actinidia deliciosa in vitro* II. Growth and exogenous carbohydrates utilization by explants. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v.26, n.3, p.153-160, 1991.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**. v.15, p.473–497, 1962.

NOGUEIRA, R.C. Glossário de cultura de tecidos. **ABCTP** – Associação brasileira de cultura de tecidos de plantas – Notícias. n.48. abr. 2004. Disponível em: <http://www.abctp.ufla.br/ABCTP%20Not%EDcias/ABCTP48.pdf>. Acesso em: 06/02/2007.

SANTOS, C.G.; PAIVA, R.; PAIVA, P.D.O.; PAIVA, E. Indução e análise bioquímica de calos obtidos de segmentos foliares de *Coffea arabica* L., cultivar rubi. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.27, n.3, p.571-577, 2003.

SERRA, A.G.P.; PAIVA, R.; PAIVA, P.D.O. Análises bioquímicas de calos formados de explantes foliares de castanha-do-brasil (*Bertholletia excelsa* H.B.K.). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.24, n.4, p.833-840, 2000.

SMITH, R.H. **Plant tissue culture: techniques and experiments**. San Diego: Academic Press, 171p, 1992.

SOARES, G. de A. **Aspectos do cultivo in vitro do ingazeiro [*Inga vera* Willd. subsp. *affinis* (DC.) T.D. Penn.]**. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG. 2003. 90 p.

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

TORRES, A. C.; FERREIRA, A. T.; SÁ, G. F. DE; BUSO, J. A.; CALDAS, L. S.; NASCIMENTO, A.S.; BRIGIDO, M.M.; ROMANO, E. **Glossário de Biotecnologia Vegetal.** Brasília: Embrapa Hortaliças. 2000. 128p.

PALAVRAS-CHAVE

Passiflora gibertii N. E. Brown; calogênese; maracujá nativo, cultura de tecidos.