

Concentração de sais do meio MS e ambiente de cultivo na indução de calos organogênicos de *Passiflora gibertii*.

Figueiredo, Milene Alves¹; Paiva, Renato²; Campos, Ana Carolina Atala Lombelo³; Souza, Ana Cristina⁴; Emrich, Eduardo Bucsan⁵.

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; ³Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fisiologia Vegetal (UFLA), bolsista CAPES, e-mail: carolinatala@hotmail.com; ⁴Auxiliar de laboratório do Departamento de Biologia, Setor de Fisiologia Vegetal (UFLA), e-mail: acstina@yahoo.com.br; ⁵Graduação em Agronomia (UFLA).

INTRODUÇÃO

Algumas espécies não cultivadas de *Passiflora* spp. têm expressivas contribuições importantes ao melhoramento genético, por apresentarem resistência a doenças e pragas, longevidade, maior adaptação a condições climáticas adversas, período de florescimento ampliado, maior concentração de componentes químicos de interesse para a indústria farmacêutica e outras potencialidades, quase todas ainda inexploradas.

A regeneração *in vitro* pode seguir duas vias: a organogênese ou a embriogênese somática. Estas vias podem ser realizadas de forma indireta ou direta, dependendo da formação ou não de calos, respectivamente. No caso da organogênese, ocorre a formação de gemas adventícias, que são assim denominadas por terem origem em locais diferentes daqueles onde se formam no curso normal de desenvolvimento da planta. Um protocolo de regeneração de plantas *in vitro* é, portanto, imprescindível para a multiplicação de plântulas com características agrônomicas desejáveis de diferentes espécies de *Passiflora* spp. (Monteiro-Hara, 2000; Moura et al., 2001).

O objetivo deste trabalho foi determinar melhor concentração de sais do meio de cultura MS e ambiente de cultivo para organogênese indireta de maracujazeiro *Passiflora gibertii*.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas plantas matrizes jovens de maracujazeiro *Passiflora gibertii* - acesso CPAC MJ-22-01 germinadas *in vivo* e mantidas em sala de crescimento, a 25±2°C de temperatura, irradiância de fótons de 43 μmol m⁻² s⁻¹ e fotoperíodo de 16 horas. A idade das plantas foi de 52 dias.

Para a desinfestação, as folhas foram levadas para câmara de fluxo laminar e 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 os explantes receberam pequenos cortes por toda a superfície, com bisturi e inoculadas com a face abaxial em contato com o meio de cultura.

Foram testadas diferentes concentrações dos sais do meio MS (Murashige & Skoog, 1962) (MS e ½ MS), suplementado com BAP (8,88 μM), sacarose (3%), água de coco (5%) e solidificado com ágar (0,5%).

O pH dos meios foi ajustado para 5,8±1, antes da autoclavagem, a 120°C, durante 20 minutos.

Após inoculação, os explantes foram mantidos em dois ambientes: no escuro, à temperatura de $25\pm 2^\circ\text{C}$ e em sala de crescimento, sob irradiância de fótons de $36\ \mu\text{mol m}^{-2}\ \text{s}^{-1}$, temperatura de $25\pm 2^\circ\text{C}$ e fotoperíodo de 16 horas, por 30 dias.

Para análise estatística, os calos foram classificados nas seguintes categorias: 0 = ausência de calos; 1 = explantes intumescido; 2 = início da calogênese; 3 = 50% do explante coberto por calos; 4 = mais que 50% do explante coberto por calos e 5 = explante totalmente coberto por calos.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, constituído de 12 repetições por tratamento. Os resultados foram analisados no programa estatístico SAS®, pela correlação de Spearman, utilizando-se o teste de Kruskal-Wallis e obtendo-se o escore médio de formação de calos.

Após trinta dias, explantes com calos foram transferidos para meio de cultura MS contendo metade da concentração de seus sais, suplementado com BAP ($2,22\ \mu\text{M}$), sacarose (3%) e solidificado com ágar (0,5%). Após inoculação, os explantes foram mantidos em sala de crescimento sob irradiância de fótons de $36\ \mu\text{mol m}^{-2}\ \text{s}^{-1}$, temperatura de $25\pm 2^\circ\text{C}$ e fotoperíodo de 16 horas, por 30 dias. Após esse período, calos organogênicos foram transferidos para meio de cultura MSM, suplementado com sacarose (3%) e GA_3 ($2,89\ \mu\text{M}$), e mantidos em sala de crescimento, nas mesmas condições citadas acima, por 30 dias. O pH dos meios foi ajustado para $5,8\pm 0,1$ e os meios solidificados com ágar (0,5%), antes da autoclavagem, a 120°C , durante 20 minutos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não houve diferença estatística entre as diferentes concentrações do meio de cultura MS nos diferentes ambientes para indução de calos (Figura 1), tendo a melhor resposta sido obtida em explantes cultivados na luz com escore de 0,58, independente da concentração do meio de cultura.

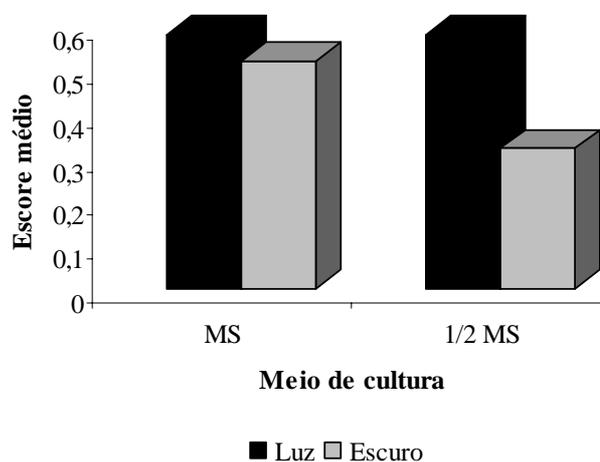


FIGURA 1. Indução de calos em segmentos foliares de *P. gibertii*, em diferentes concentrações do meio MS e em diferentes ambientes, aos 30 dias de cultivo. UFLA, Lavras, MG, 2007.

Entretanto, quando os explantes com calos foram transferidos para meio de cultura MS contendo metade da concentração de seus sais, suplementado com BAP ($2,22\ \mu\text{M}$) e mantidos em sala de crescimento na luz, apenas alguns explantes oriundos do cultivo no escuro formaram gemas aos 30 dias. Após esse período, quando calos organogênicos foram transferidos para meio de cultura MSM suplementado com GA_3 ($2,89\ \mu\text{M}$) e mantidos

em sala de crescimento nas mesmas condições citadas acima, apenas um explante oriundo do cultivo na luz formou gemas (Figura 2b). Já vários explantes oriundos do cultivo no escuro formaram gemas (Figura 2a), aos 30 dias de cultivo, porém, nenhuma gema se desenvolveu em plântula.

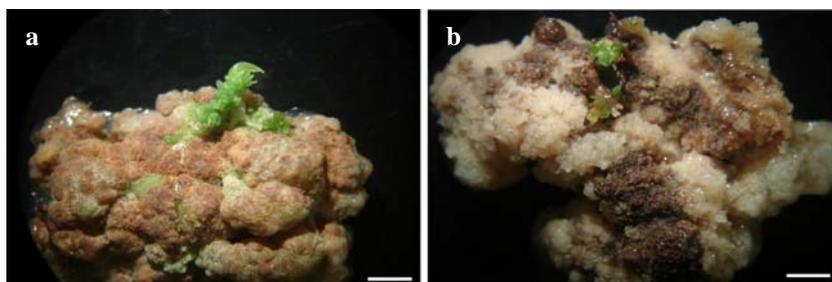


FIGURA 2. Calos organogênicos obtidos de segmentos foliares de *P. gibertii* oriundos do escuro (a) e da luz (b). Barra = 3 mm (a, b). UFLA, Lavras, MG, 2007.

Monteiro et al. (2000) obtiveram resultados semelhantes aos do presente trabalho, quando cultivaram folhas de *P. suberosa* *in vitro* em meio de cultura MS. Os explantes foram mantidos em meio de indução no escuro, a $26\pm 2^\circ\text{C}$ durante quatro semanas e, após esse período, houve a formação de calos que apresentaram aspecto organogênico. Após sua transferência para meio MSM contendo $2,89\ \mu\text{M}$ de GA_3 , sob condições de luz, os autores observaram a formação de gemas a partir dos calos. Já de acordo com Lombardi (2003), explantes de *P. cincinnata* Mast. cultivados em meio MS acrescido de 5% de água de coco e mantidos em sala de crescimento, sob condições de fotoperíodo de 16 horas e temperatura de $25\pm 1^\circ\text{C}$, formaram gemas, via indireta, nas extremidades dos explantes, aos 14, 28 e 56 dias de cultivo.

CONCLUSÃO

Calos oriundos de condições de escuro são mais responsivos à formação de gemas de *P. gibertii*. No intuito de reduzir os gastos na cultura *in vitro*, pode-se sugerir que o meio de indução mais indicado para organogênese de *P. gibertii* é o meio MS contendo metade da concentração de seus sais e mantido no escuro.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

LOMBARDI, S. P. **Estudos anatômicos e fisiológicos da organogênese *in vitro* em *Passiflora cincinnata* Mast.** 2003. 60 p. Dissertação (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba, SP.

MONTEIRO, A. C. B. A.; NAKAZAWA, G. T.; MENDES, B. M. J.; RODRIGUEZ, A. P. M. Regeneração *in vitro* de *Passiflora suberosa* a partir de discos foliares. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 57, n. 3, p. 571-573, jul./set. 2000.

MONTEIRO-HARA, A. C. B. A. **Cultivo *in vitro* de três espécies do gênero *Passiflora*.** 2000. 82 p. Dissertação (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba.

MOURA, T. L.; ALMEIDA, W. A. B.; MENDES, B. M. J.; FILHO, F. A. A. M. Organogênese *in vitro* de *Citrus* em função de concentrações de BAP e seccionamento do explante. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 23, n. 2, p. 240-245, ago. 2001.

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

PALAVRAS-CHAVE

Passiflora gibertii N. E. Brown; calogênese; presença/ausência de irradiância de fótons; meio de cultura.