

Calogênese em *Dieffenbachia* sp.: Resposta aos reguladores de crescimento ANA e BAP

Mirian de Farias Ribeiro¹, Islaine Ferreira-Moura², Lorena Pastorini Donini³ e Judith Viégas⁴

Introdução

O mercado mundial de flores vem apresentando um crescimento elevado desde a década de 90, tendo se tornado um dos fatores de grande importância para o agronegócio. A floricultura abrange desde o cultivo de plantas ornamentais, floríferas ou não, até produção de sementes, bulbos e mudas [1,2].

A Família Araceae abrange, predominantemente, plantas tropicais, ocorrendo naturalmente em todos os continentes, exceto na Antártida. Plantas dos trópicos, as aráceas não se dão muito bem com o frio. A temperatura ideal para elas deve estar entre 16°C e 30°C, com exceção do copo-de-leite, que suporta temperaturas inferiores a 0°C. Suas características diferem muito quanto ao seu hábito de vida (em sua maioria são plantas terrestres, mas há várias espécies de epífitas e hemiepífitas, trepadeiras, e plantas aquáticas), morfologia foliar (folhas desde simples e inteiras a compostas e altamente divididas, basais ou produzidas por um caule aéreo) e características da inflorescência (espádice com flores bissexuais ou unissexuais, rodeada por uma única espata em um pedúnculo longo ou muito curto). Existem aráceas altamente tóxicas, como as chamadas de comigo-ninguém-pode (*Dieffenbachia* sp.) e outras que produzem partes comestíveis, como, por exemplo, as raízes do inhame (*Alocasia esculenta*) e da taioba (*Xanthosoma violaceum*) ou os frutos da costela-de-adão (*Monstera deliciosa*), conhecidos como banana-de-macaco ou banana do brejo. [3,4].

O gênero *Dieffenbachia* é composto por espécies que apresentam folhas largas, com manchas variegadas e chamativas, as quais variam de acordo com a espécie [5]. É popularmente conhecida como comigo-ninguém-pode, sendo realmente uma planta tóxica nativa da Colômbia e da Costa Rica. Possui porte regular, com cerca de 20-50 cm de altura, e caule tortuoso. Sua belíssima folhagem cresce bem em locais com baixa luminosidade. As flores masculinas ocupam a porção superior da inflorescência. Os frutos são bagas vermelho-alaranjadas. Todas as partes da planta são tóxicas – caule, folhas e látex. A ingestão de porções desta planta libera toxinas, além de ráfides de oxalato de cálcio, presentes em seus tecidos, que causam sensação de queimadura, aumento de salivação, inchaço da língua e lábios, podendo, inclusive, provocar edema na garganta, levando à asfixia e, em

casos extremos, até à morte [1].

A produção de flores e plantas ornamentais exige, atualmente, além de um sistema eficiente de distribuição e comercialização do produto, um maior conhecimento técnico da parte do produtor e a utilização de tecnologias avançadas [2]. A cultura de tecidos é uma importante técnica para propagação e produção de mudas, que vem sendo utilizada com sucesso em várias espécies, podendo ser feita por via direta ou indireta. A organogênese indireta ocorre quando a regeneração de gemas adventícias é precedida pela formação de calo, que é uma massa de células de proliferação contínua e desordenada. A calogênese é um método potencial de propagação, caso as variações genéticas não atinjam valores percentuais elevados [6,7]. No entanto, para flores e plantas ornamentais, muitas vezes, as variações somaclonais são desejadas, pois podem produzir variantes com cores diferentes, maior tamanho e/ou beleza estética.

O sucesso no estabelecimento de calos depende de vários fatores, entre os quais o uso de reguladores de crescimento e nutrientes selecionados para rápida divisão das células, as condições fisiológicas do tecido utilizado como explante e da planta doadora de explante [8]. A grande vantagem desta técnica é a obtenção de um grande número de plantas, de alta qualidade, num período de tempo bastante reduzido [1].

O presente trabalho objetivou induzir calos em lâminas foliares de *Dieffenbachia* sp, utilizando meios de cultura com diferentes concentrações de ANA e BAP combinados.

Material e Métodos

A presente pesquisa foi desenvolvida no Laboratório de Biologia Celular do Departamento de Zoologia e Genética do Instituto de Biologia, UFPel. Lâminas foliares de *Dieffenbachia* sp. foram lavadas três vezes em água corrente e em água destilada, antes de serem levadas para a capela de fluxo laminar para a instalação do experimento. A seguir, ficaram imersas em solução de álcool 70%, por 30 segundos, e em solução de hipoclorito de sódio comercial (1,5% de cloro ativo), adicionada de 2 gotas de Tween 20, sob agitação por 30 minutos. As lâminas foliares, assim desinfestadas, foram segmentadas com área aproximada de 1cm², e inoculadas

1. Estagiária do Departamento de Zoologia e Genética, Instituto de Biologia, Universidade Federal de Pelotas. Caixa Postal 354, Pelotas, RS, CEP 96010-900. E-mail: mirianpelotas@yahoo.com.br

2. Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Agronomia-Produção Vegetal, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas. Caixa Postal 354, Pelotas, RS, CEP 96010-900.

3. Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Agronomia-Produção Vegetal, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas. Caixa Postal 354, Pelotas, RS, CEP 96010-900.

4. Professora Adjunta do Departamento de Zoologia e Genética, Instituto de Biologia, Universidade Federal de Pelotas. Caixa Postal 354, Pelotas, RS, CEP 96010-900.

Apoio financeiro: CAPES e CNPq.

em frascos com 30 mL de meio de cultivo. Os meios utilizados foram compostos pelo meio básico MS [9] acrescido de benzilaminopurina (BAP) e ácido naftalenoacético (ANA). As concentrações utilizadas, para ambos fitoreguladores foram 0,5, 1, 1,5, 2, 2,5 e 3 mg.L⁻¹, combinados conforme Tabela 1.

Os frascos foram incubados, por 70 dias, em câmara de crescimento com temperatura controlada (25°C ±2°C), no escuro, sendo transferidos para meio fresco após a avaliação dos 35 dias. Nesse período, foram realizadas avaliações semanais e atribuídas os seguintes valores, quanto ao aspecto do explante: **0** = explante oxidado e/ou contaminado; **1** = explante sem alteração morfológica; **2** = explante com bordas onduladas; **3** = explante com formação de pequenos calos e **4** = explante com calos totalmente formados.

A unidade experimental foi composta de cinco explantes por frasco. O experimento fatorial foi delineado inteiramente ao acaso, com cinco repetições por tratamento. Os resultados obtidos foram transformados segundo log (x + 1) e analisados com o auxílio do pacote estatístico SANEST [10], sendo aplicado o teste de Duncan, ao nível de 5% de probabilidade.

Resultados e discussão

Verificou-se que não foram significativas as diferenças entre as avaliações e na interação entre avaliações e meios.

As diferenças entre os meios foram altamente significativas e o desdobramento das médias pelo Teste de Duncan mostrou que o meio MS acrescido de 3 mg.L⁻¹ ANA + 0,5 mg.L⁻¹ BAP apresentou o melhor desempenho quanto à formação de calos em lâminas foliares de *Dieffenbachia* sp. A nota média de 2,13 indica que, até os 70 dias, este meio propiciou a formação de pequenos calos ou que, pelo menos, houve o ondulamento das bordas da maioria dos explantes. Este meio foi estatisticamente semelhante a outros 10 meios avaliados (ver Quadro), sendo superior aos demais. O meio que apresentou o pior resultado foi o MS com 3 mg.L⁻¹ ANA + 1 mg.L⁻¹ BAP (valor médio = 0,44).

Em trabalho realizado com calogênese em *Caladium sagittifolium*, Mujib *et al.* [11] avaliaram a influência dos reguladores de crescimento ANA (0,5 a 1 mg.L⁻¹) e BAP (0,5 a 1 mg.L⁻¹). Também, ao trabalhar com calogênese de *Caladium x hortulanum* nos meios MS e N6, com diferentes doses de ANA e BAP, Rocha [8] obteve a formação de calos somente no meio MS adicionado de 1 mg.L⁻¹ de ANA + 1 mg.L⁻¹ de BAP. Blay *et al.* [12] utilizaram meio MS com 3mg.L⁻¹ de PAB e com 3mg.L⁻¹ de ANA + 3 mg.L⁻¹ BAP, para o estabelecimento e os subcultivos de calos de *Xanthosoma sagittifolium*. Para *Xanthosoma* spp., Saborio *et al.* [13], usaram MS acrescido de 3mg.L⁻¹ de BAP para explantes de rizomas. Estes autores, também, como foi verificado para *Dieffenbachia* sp., observaram que a adição tanto de ANA como de BAP no meio de cultivo foi satisfatória para a indução de calos nas espécies de Araceae com que trabalharam.

Referências

- [1] DONINNI, L.P. 2004. *Preparo de lâminas foliares de aráceas ornamentais: desinfestação e tratamento antioxidante*. Monografia de Conclusão de Curso de Bacharelado em Ciências Biológicas - Meio Ambiente, Instituto de Biologia, UFPel. Pelotas.
- [2] SILVEIRA, R.B.A. (Adap. José, A.R.S./UESB). 1993. [Online]. *Floricultura no Brasil*. Homepage: <http://www.uesb.br/flower/florbrasil.html#inicio>
- [3] IAS (International Aroid Society). 2002. [Online]. *The genera of Araceae*. Homepage: <http://www.aroid.org/genera/index.html#a>
- [4] GRAYUM, M.H. 1990. Evolution and phylogeny of the Araceae. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 77: 629-697.
- [5] BOWN, D. 2000. *Aroids: plants of the Arum family*. Portland: Timber Press., P. 166-167.
- [6] GEORGE, E.F. & SHERRINGTON, P.D. 1984. *Plant propagation by tissue cultured. Handbook and directory of commercial laboratories*. Eversley: Exegetics. 709p.
- [7] GRATTAPAGLIA, D. & MACHADO, M.A. 1998. *Micropropagação*. In: *Cultura de Tecidos e Transformação Genética de Plantas*. Brasília: Embrapa SPI/Embrapa-CNPq. p. 183-260.
- [8] ROCHA, M.T.R. 1999. *Propagação in vitro dos gêneros Anthurium e Caladium*. Dissertação de Mestrado, Curso de Pós-Graduação em Agronomia – Fitomelhoramento, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, UFPel, Pelotas, RS.
- [9] MURASHIGE, T.; SKOOG, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum, Kobenhavn* 15: 473-497.
- [10] ZONTA, E.P. & MACHADO, A. A. 1984. *SANEST - Sistema de Análise Estatística para Microcomputadores*. Registrado na Secretaria Especial de Informática sob nº 066060 - categoria A. Pelotas, RS: UFPel
- [11] MUJIB, A.; MAITY, I. & JANA, B.K. 1996. Rapid *in vitro* multiplication of *Caladium sagittifolium*. *Advances in Plant Sciences*. 9: 47-50.
- [12] BLAY, E.T.; OFFEI, S.K.; DANQUAH, E.Y.; AMOATEY, H.A. & ASARE, E. 2004. Improvement of cocoyam (*Xanthosoma sagittifolium*) using gamma irradiation and tissue culture. In: *Genetic improvement of under-utilized and neglected crops in low income food deficit countries through irradiation and related techniques*. Vienna: International Atomic Energy Agency. p. 127-130.
- [13] SABORIO, F. *et al.* 2004. Induction of genetic variation in *Xanthosoma* spp. In: *Genetic improvement of under-utilized and neglected crops in low income food deficit countries through irradiation and related techniques*. Vienna: International Atomic Energy Agency. p. 143-154.

Tabela 1: Calogênese em explantes foliares de *Dieffenbachia* sp. cultivados em meio MS acrescido de diferentes concentrações de ANA e BAP por 70 dias.

Meio básico	Reguladores de crescimento		Valores médios de calogênese	
	ANA (mg.L ⁻¹)	BAP (mg.L ⁻¹)		
MS	0,5	1,5	2,08	ab
		2,0	0,93	ij
		2,5	1,51	defgh
		3,0	1,76	abcde
	1,0	1,5	0,91	ij
		2,0	1,63	bcdefg
		2,5	1,16	ghij
		3,0	0,90	ij
	1,5	0,5	0,87	j
		1,0	0,91	ij
		1,5	1,23	fghij
		2,0	2,02	abc
		2,5	1,55	cdefgh
		3,0	1,58	cdefg
	2,0	0,5	1,90	abcd
		1,0	1,51	defgh
		1,5	1,38	efghi
		2,0	1,50	defgh
		2,5	1,09	hij
		3,0	1,77	abcde
	2,5	0,5	1,64	abcdefg
		1,0	1,56	cdefgh
		1,5	1,03	ij
		2,0	1,56	cdefgh
		2,5	1,67	abcdef
		3,0	1,99	abcd
	3,0	0,5	2,13	a
		1,0	0,44	k
		1,5	1,37	efghi
		2,0	2,09	ab
2,5		1,78	abcde	
3,0		1,04	ij	

As médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Duncan ao nível de 5%