

INDUÇÃO DE CALOS EM DIFERENTES EXPLANTES DE *Bauhinia monandra* Kurz

Dinah Ise Jimenez Gonçalves E Costa Pinto¹; José Raniere Ferreira De Santana²;
Flávia Pereira Sousa³

1. Bolsista PROBIC-UEFS, Graduando em Agronomia, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: dinahagro@hotmail.com
2. Orientador, Departamento Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: raniere@uefs.br
3. Doutorando em Recursos Genéticos Vegetais, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: flavia.sousa.ufba@gmail.com

PALAVRAS-CHAVE: cultura de calos, reguladores vegetais, pata-de-vaca.

INTRODUÇÃO

A família Fabaceae possui grupos de vegetais que se destacam por possuir diversidades usos que as tornam importantes economicamente e ecologicamente. A *Bauhinia monandra* Kurz, conhecida popularmente como pata-de-vaca é uma planta exótica de porte arbóreo (RCPOL, 2016) e suas folhas são muito utilizadas no território brasileiro como fitoterápico no tratamento de diabetes (SANTOS et al., 2014). Possui propriedade hipoglicemiante comprovada (MENEZES, 2007).

Nesse sentido, os processos biotecnológicos que envolvem o cultivo *in vitro* de tecidos vegetais são de grande importância para a indústria farmacêutica, pois possibilita o aumento rápido do número de plantas a partir de uma quantidade pequena de material vegetal (FERNANDES, 2008), uma vez que no habitat natural os metabólitos secundários produzidos pelas plantas são em pequena quantidade, sendo insuficiente para atender a demanda industrial, além disso, o cultivo *in vitro* possibilita o controle do ambiente físico e obtenção de mudas em espaço físico e temporal reduzidos.

Dessa forma, a cultura de tecidos vegetais é um conjunto de técnicas utilizadas para propagar plantas dentro de recipientes fechados contendo meio de cultura adequado sob condições de assepsia, temperatura e iluminação controladas. Dentre estas técnicas tem-se a cultura de calos que vem sendo amplamente empregada na multiplicação *in vitro* de plantas e, sobretudo, de importância medicinal. Este método é capaz de promover a obtenção de microplantas por organogênese indireta, sendo que o mesmo passa, obrigatoriamente, pela fase de calo (GRATTAPAGLIA; MACHADO, 1998), o qual é uma massa de células desorganizadas e parcialmente indiferenciadas que variam quanto ao tipo, tamanho, conteúdo celular e espessura da parede (NARAYANASWAMY, 1977).

Múltiplos fatores tanto internos quanto externos influenciam a obtenção de calos *in vitro*. Para Vietz; San-José (1996), as condições para que a indução de calo seja bem sucedida dependem muitas vezes do suprimento exógeno de reguladores vegetais. Assim, dentre as auxinas e citocininas mais utilizadas para esta finalidade destacam-se 2,4-D (ácido 2,4 diclorofenoxiacético) BAP (6- Benzilaminopurina) e KIN (Kinetina), uma vez que, a auxina 2,4-D é a mais requerida no processo de indução da embriogênese somática (CALDAS et al., 1998) e os reguladores vegetais BAP e KIN

tem sido fontes de citocininas mais utilizadas na calogênese (NAGORI; PUROHIT, 2004).

Diversas espécies de plantas medicinais têm sido submetidas a experimentos de indução de calos utilizando reguladores vegetais, para os mais diversos fins, como podem ser observados nos trabalhos de Lameira et al. (1994), Becker (1997), Abreu (1998), Lameira (1997), Kajiki (1996), Cerqueira et al. (2002), Silva et al. (2003), Dar; Joshi (2005), Rodrigues; Almeida (2010). Em geral, concentrações semelhantes de auxina e citocinina no meio de cultivo geram a formação de calos, entretanto, o tipo de calo varia de acordo com o balanço hormonal utilizado para cada espécie e, sobretudo, com o tipo de explante utilizado.

MATERIAL E MÉTODOS OU METODOLOGIA

Local de realização dos experimentos

Os ensaios fisiológicos foram realizados no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais e as análises bioquímicas no Laboratório de Germinação, ambos localizados na Unidade Experimental Horto Florestal da Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS).

Indução de calos

Para indução dos calos foram utilizadas plântulas oriundas da germinação *in vitro* com aproximadamente 30 dias de idade. A indução de calos foi realizada a partir de segmentos cotiledonares, epicótilonares e hipocotiledonares, com aproximadamente 1 cm de comprimento. Os explantes foram inoculados em tubos de ensaio contendo meio de cultura MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962), solidificado com 0,7% de ágar e suplementado com 3% de sacarose e diferentes concentrações de 2,4-D (2,4-diclorofenoxiacético) (0,0; 10, 20, 40 e 80 μ M) e BAP (benzilaminopurina) (0,0 e 1,0 μ M). Em seguida, as culturas foram mantidas em sala de crescimento, na ausência de luz por um período de 30 dias e temperatura de $25 \pm 3^{\circ}\text{C}$.

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado em esquema fatorial 3 x 5 x 2 (3 tipos de explantes x 4 concentrações de 2,4-D x quatro concentrações de BAP), totalizando 30 tratamentos. Cada tratamento foi constituído de cinco repetições, sendo cada repetição composta por quatro tubos de ensaio contendo um explante cada. Ao final do experimento foi quantificado a variável explantes com calos (%) e área do explante coberta com calos (%), sendo os dados foram transformados para $\text{arc sen}\sqrt{x}$.

RESULTADOS E/OU DISCUSSÃO

Verificou-se interação tripla altamente significativa ($p < 0,01$) entre as concentrações de BAP, 2,4 D e fonte de explante para todas as variáveis analisadas. Houve formação de calos em todos os tratamentos testados, os quais variaram em relação a área coberta pelo explante. Assim, a taxa máxima (100%) observada para a variável explantes com calos foi obtida em todos os tratamentos testados, não havendo diferenças estatísticas significativas entre os tratamentos empregados. A formação de calos na ausência de regulador vegetal é um fato interessante, apesar de não ser convencional, mas no que se diz respeito a termos econômicos, é extremamente vantajoso. Para Pinto e Pasqual (1990), alguns tecidos produzem a quantidade de reguladores que precisam, enquanto outros são totalmente dependentes da adição exógena. Lima et al. (2002) também obtiveram os mesmos resultados por meio de

estudos com mandioca (*Maniot esculenta* Crantz cv. MCOL 22), observando a formação de calos, em meio sem adição de regulador vegetal. Resultados contrários

foram encontrados por Teixeira et al. (2016) que não conseguiram a indução de calos em *B. holophylla*, na ausência de regulador vegetal.

Na indução de calos nos diferentes explantes de *B. monandra* diferenças significativas em relação à área do explante coberta por calo foram encontradas em função das concentrações de 2,4-D, tipo de explante e da interação entre esses fatores. As menores taxas de cobertura do explante com calos foi observada para os cotilédones (10%) diferindo estatisticamente dos demais tratamentos (Tabela 1). e as maiores taxas foram observadas tanto para o epicótilo quanto para o hipocótilo (100%) não diferindo estatisticamente entre si, exceto em algumas combinações (Tabela 1). Essas diferenças observadas nos calos ocorrem porque os explantes podem variar em sua sensibilidade para os reguladores vegetais e/ou devido a diferenças no teor endógeno de hormônios (Karp, 1995).

Concentração (μ M)		Cotilédone		Epicótilo		Hipocótilo	
2,4-D	BAP	%EC	%ACE	%EC	%ACE	%EC	%ACE
0	0	100,00 Aa	25,00 Ba	100,00 Aa	78,75 Bb	100,00 Aa	100,00 Aa
0	1	100,00 Aa	10,00 Cb	100,00 Aa	93,00 Aa	100,00 Aa	100,00 Aa
10	0	100,00 Aa	26,25 Ba	100,00 Aa	100,00 Aa	100,00 Aa	90,00 Ba
10	1	100,00 Aa	10,00 Cb	100,00 Aa	100,00 Aa	100,00 Aa	90,00 Ba
20	0	100,00 Aa	26,25 Ba	100,00 Aa	100,00 Aa	100,00 Aa	100,00 Aa
20	1	100,00 Aa	31,25 Ba	100,00 Aa	100,00 Aa	100,00 Aa	100,00 Aa
40	0	100,00 Aa	26,25 Ba	100,00 Aa	100,00 Aa	100,00 Aa	100,00 Aa
40	1	100,00 Aa	23,75 Ba	100,00 Aa	100,00 Aa	100,00 Aa	95,00 Ba
80	0	100,00 Aa	62,50 Ab	100,00 Aa	100,00 Aa	100,00 Aa	90,00 Ba
80	1	100,00 Aa	51,25Ab	100,00 Aa	100,00 Aa	100,00 Aa	100,00 Aa

*Médias com a mesma letra na linha e na coluna não diferem entre si pelo teste de *Scott-Knott* em nível de 5% de probabilidade.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

É possível a formação de calos em *Bauhinia monandra* em todos os tratamentos testados.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, J.P.; SOUSA, F.P.; SANTANA, J.R.F. Multiplicação in vitro de *Bauhinia monandra* Kurz (Fabaceae). In: Seminário de Iniciação Científica-UEFS, n.20, 2016. Anais...Feira de Santana: SEMIC, 2016.

BARRUETO CID, L.P.B. A cultura de células vegetais em meio líquido. **ABCTP Notícias**, n.18, p.2-7, 1992.

BUENO, A. X et al. Effects of the aqueous extract from *Hyptis pectinata* leaves on rodent central nervous system. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 16, p. 317-323, 2006.

CARNEIRO. F.S. et al. Embriogênese somática em *Agave sisalana* Perrine: indução, caracterização anatômica e regeneração. **Pesquisa Agropecuária. Tropical**, Goiânia, v. 44, n. 3, p. 294-303, 2014

COSTA, J. G. M et al. Estudo químico-biológico dos óleos essenciais de *Hyptis martiusii*, *Lippia sidoides* e *Syzigium aromaticum* frente às larvas do *Aedes aegypti*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 15 (4), p. 304-309, 2005.

FALCÃO, D. Q.; MENEZES, F. S. Revisão etnofarmacológica, farmacológica e química do gênero *Hyptis*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.84, n.3, p.69-74, 2003.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciencia e Agrotecnologia**. v.35, n.6, p. 1039-1042. 2011.

FERREIRA, D.F. Sisvar: a computerstatisticalanalysis system. *Ciência e Agrotecnologia*. v.35, n.6, p. 1039-1042, 2011.

GEORGE, E. F. **Plant propagation by tissue culture: part 1: the technology**. Edington: Exegetics, 1996. 574 p.

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M.A. 1998. Micropropagacao. In: TORRES, A.C.; CALDAS, L.S.; BUSO, J.A. (Orgs.). **Cultura de Tecidos e Transformação Genética de Plantas**. Brasília: Embrapa – SPI / Embrapa – CNPH. p.:183-260.

GRATTAPAGLIA, D.;MACHADO, M.A. Micropropagação. In: TORRES, A.C.; CALDAS,L.S.; BUSO,J.A. *Cultura de Tecidos e Transformação Genética de Plantas*. Brasília: Embrapa. p.183-260, 1998.

HARLEY, R.; FRANÇA, F.; SANTOS, E.P.; SANTOS, J.S.; PASTORE, J.F. *Lamiaceae* in **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB142>>. Acesso em: 19 Fev. 2015.

LAMEIRA, O. A. **Propagação in vitro e in vivo dinâmica de crescimento de células, nutrição e identificação de flavonóides em erva-baleeira (Cordia verbenácea L.)**. 1997. 88f. (Tese - Doutorado em Fitotecnia). Lavras: UFLA.

LANDA, F.S.L.; PAIVA, R.; PAIVA, P.D.O. & BUENO, J.S.S.F. 2000. Alves, M.C.S. 2003. Crescimento inicial de mudas de Indução in vitro de calos em explantes foliares de pequiheiro mentrasto “forma florífera”. *Ciência Agrônômica* 34(1): (Caryocar brasiliense Camb.). *Ciência e Agrotecnologia* 5–10. 24(Edição Especial): 56–63

MAIA, S.S.S. et al. Germinação de sementes de *Hyptis suaveolens* (L.) Poit. (Lamiacea) em função da luz e da temperatura. **Caatinga**, v.21, n.4, p.212-8, 2008.

MENEZES, F.S. et al. HypoglycemicactivityoftwoBrazilian Bauhiniaspecies: *Bauhinia forficata* L. and *Bauhinia monandra* Kurz. **Revista brasileira farmacognosia**, João Pessoa,vol.17, n.1, 2007. Rede de catálogos polínicos online. Disponível em: < <http://chaves.rcpol.org.br/> >. acesso em: 1/7/2018.