

Efeito da Água de coco na indução de calos organogênicos de *Passiflora gibertii* (Passifloraceae).

Figueiredo, Milene Alves¹; Paiva, Renato²; Campos, Ana Carolina Atala Lombelo³; Silva, Diogo Pedrosa Corrêa da⁴; 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; ⁴Mestrando do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fisiologia Vegetal (UFLA), bolsista CNPq, e-mail: pedrosacorrea@yahoo.com.br; ⁵Graduação em Agronomia (UFLA).

INTRODUÇÃO

O estabelecimento *in vitro* de maracujazeiro é essencial quando se deseja fazer a manutenção de germoplasma de *Passiflora*, utilizando-se procedimentos biotecnológicos. Para tanto, devem estar disponíveis, na literatura, protocolos específicos para as diversas espécies.

Segundo Torres et al. (2001), os aditivos orgânicos complexos podem ser adicionados ao meio, visando melhor resposta no padrão de crescimento. A adição de água de coco, 2iP e ANA estimula o rápido crescimento e a progressão de culturas de calo em eixo embrionário, segmentos caulinares e segmentos de folhas jovens clorofiladas (Ledo et al., 2002). Segundo Hall et al. (2000), para muitas espécies, incluindo *Passiflora*, a água de coco contém substâncias de crescimento essenciais para uma maior regeneração. Lombardi (2003) afirma que o número de explantes com brotos obtidos de diferentes espécies de *Passiflora* foi também maior quando combinado BAP e água de coco.

De acordo com Taiz & Zeiger (2004), a água de coco é o líquido do endosperma de sementes de coco que contém citocininas e outros fatores nutricionais. A zeatina, uma citocinina de ocorrência natural que estimula a divisão de células vegetais maduras, foi identificada na água de coco. Algumas culturas possuem necessidade desse hormônio vegetal para o melhor desenvolvimento e produtividade no meio de cultura e, para outras, esse componente é fator de sucesso ou insucesso no cultivo *in vitro* (Cardoso, 2007).

A composição da água de coco e da polpa depende de fatores, como variedade da palmeira, grau de maturação e natureza do solo no qual o fruto cresceu (Aleixo et al., 2000).

O objetivo deste trabalho foi determinar necessidade de água de coco para organogênese indireta de maracujazeiro *Passiflora gibertii*.

MATERIAL E MÉTODOS

Como material vegetal 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 109 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.

Foi testado meio MS (Murashige & Skoog, 1962) contendo metade da concentração de seus sais, acrescido ou não de água de coco (5%), suplementado com BAP (8,88 μM), sacarose (3%) e solidificado com ágar (0,5%)

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

Após inoculação, os explantes foram mantidos em sala de crescimento, no escuro, à temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, 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.

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 μM), 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 μM), 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.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, constituído de 45 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. O escore é medido em pontos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A adição ou não de água de coco ao meio de cultura diferiu estatisticamente na indução de calos. Melhores resultados foram observados na presença de água de coco, com escore de 0,72 pontos, contrastando com 0,28 pontos na ausência de água de coco (Figura 1).

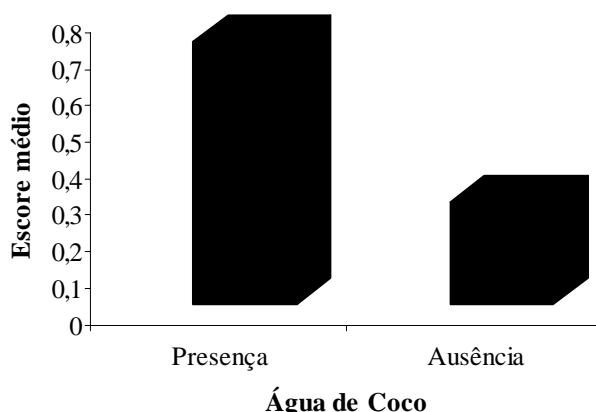


FIGURA 1. Indução de calos em segmentos foliares de *P. gibertii* na presença e na ausência de água de coco em meio de cultura MS contendo metade da concentração de seus sais e suplementado com BAP (8,88 μM), aos 30 dias de cultivo. UFLA, Lavras, MG, 2007.

Após transferência dos calos para novo meio de cultura, calos provenientes do meio contendo água de coco promoveram a formação de gemas (Figura 2 a, b), enquanto que

calos provenientes de meio sem a adição de água de coco não formaram gemas (Figura 2 c, d).

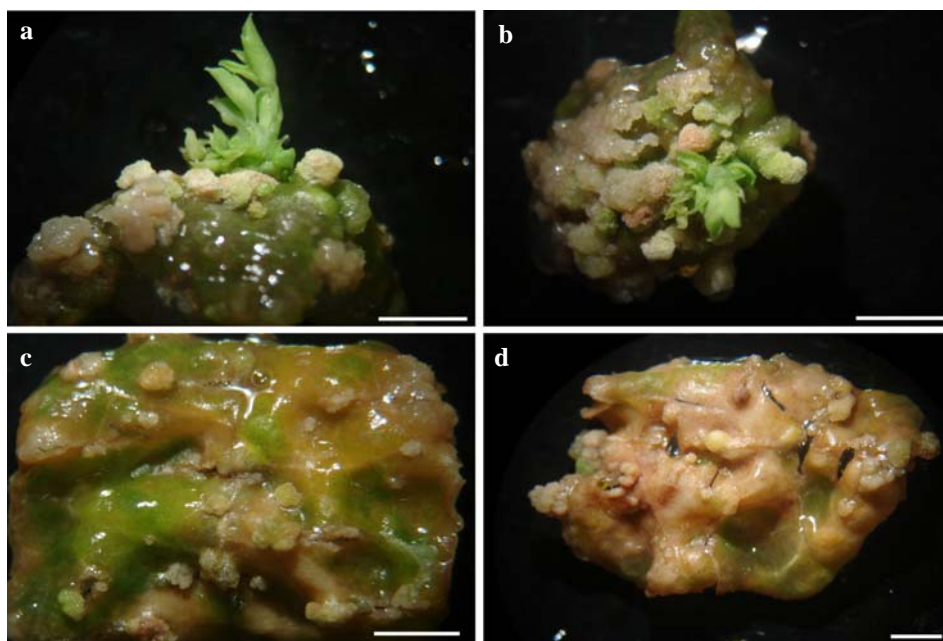


FIGURA 2. Calos organogênicos obtidos de segmentos foliares de *P. gibertii* cultivados em meio de cultura suplementado com água de coco (**a, b**); calos obtidos de segmentos foliares de *P. gibertii* cultivados em meio de cultura na ausência de água de coco (**c, d**). Barra = 3 mm (a, b, c, d). UFLA, Lavras, MG, 2007.

Estes resultados estão de acordo com vários autores, que enfatizam que a adição da água de coco ao meio de cultura em diferentes espécies de *Passiflora* spp. promove a organogênese (Dornelas & Vieira, 1994; Hall et al., 2000; Lombardi, 2003).

Kantharajah & Dodd (1990) verificaram que a adição de 20% de água de coco ao meio MS contendo 8,88 μM de BA elevou significativamente a produção de gemas de *P. edulis* var. Norfolk Island.

Al-Khayri et al. (1992) examinaram a influência de várias concentrações de água de coco na indução de calos a partir de discos foliares e na regeneração de gemas de espinafre (*Spinacia oleracea* L.). Os autores constataram que a adição de 15% de água de coco ao meio de cultura aumentou o crescimento do calo, o potencial regenerativo e o crescimento das gemas.

De acordo com Fernando (2005), segmentos de hipocótilo de *P. edulis* f. *flavicarpa* inoculados em meio MS contendo 5% de água de coco apresentaram maior número de gemas e protuberâncias. Contudo, independentemente da adição de água de coco, a organogênese *in vitro* foi similar, ou seja, houve formação de protuberâncias e gemas em ambas as condições de cultivo *in vitro*. Portanto, a adição de água de coco ao meio de cultura é vantajosa para a micropropagação, uma vez que o número de gemas formado é significativamente superior e morfológicamente similar, em ambos os tratamentos.

CONCLUSÃO

A adição de água de coco ao meio de cultura é essencial, tanto para indução de calos como para a formação de gemas em *P. gibertii*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALEIXO, P. C.; NÓBREGA, J. A.; SANTOS JÚNIOR, D.; MULLER, R. C. S. Determinação direta de selênio em água de coco e em leite de coco utilizando espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica em forno de grafite. **Química Nova**, São Paulo, v. 23, n. 3, p. 310-312, mai./jun. 2000.
- AL-KHAYRI, J. M.; HUANG, F. H.; MORELOCK, T. E.; BUSHARAR, T. A. Spinach tissue culture improved with coconut water. **HortScience**, Alexandria, v. 27, n. 4, p. 357-358, Apr. 1992.
- CARDOSO, J. C. **Prêmio Banco da Amazônia de Empreendedorismo Consciente: Seleção e Aproveitamento Econômico de Espécies Vegetais Nativas da Amazônia**. Pompéia, SP. Disponível em: www.fca.unesp.br/arquivo_de_noticias/bancoamazonia.pdf. Acesso em fevereiro de 2007.
- DORNELAS, M. C.; VIEIRA, M. L. C. Tissue culture studies on species of *Passiflora*. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Amsterdam, v. 36, n. 2, p. 211-217, Feb. 1994.
- FERNANDO, J. A. **Estudos anatômicos e ultra-estruturais da organogênese *in vitro* de *Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg.** 2005. 106 p. Tese (Doutorado) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP.
- HALL, R. M.; DREW, R. A.; HIGGINS, C. M.; DIETZGEN, R. G. Efficient organogenesis of an Australian passionfruit hybrid (*Passiflora edulis* x *Passiflora edulis* var. *flavicarpa*) suitable for gene delivery. **Australian Journal of Botany**, Collingwood, v. 48, n. 5, p. 673-680, 2000.
- KANTHARAJAH, A. S.; DODD, W. A. *In vitro* micropropagation of *Passiflora edulis* (purple passionfruit). **Annals of Botany**, Oxford, v. 65, n. 3, p. 337-339, Mar. 1990.
- LEDO, A. S.; LAMEIRA, O. A.; BENBADIS, A. K. Explantes de cupuaçuzeiro submetidos a diferentes condições de cultura *in vitro*. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 24, n. 3, p. 604-607, dez. 2002.
- 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.
- 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.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. Porto Alegre: Artmed. 2004.
- TORRES, A. C.; BARBOSA, N. V.; WILLADINO, L.; GUERRA M. P.; FERREIRA, C. F.; PAIVA, S. A. V. **Meio e condições de incubação para cultura de tecidos de plantas**. Brasília: EMBRAPA-CNPq, 2001. 20 p. (EMBRAPA-CNPq. Circular Técnica).

PALAVRAS-CHAVE

Passiflora gibertii N. E. Brown; calogênese; suplemento mineral; cultura de tecidos.