

## Indução de calos organogênicos em diferentes explantes de *Passiflora gibertii*.

Figueiredo, Milene Alves<sup>1</sup>; Paiva, Renato<sup>2</sup>; Campos, Ana Carolina Atala Lombelo<sup>3</sup>; Silva, Diogo Pedrosa Corrêa da<sup>4</sup>; Porto, Jorge Marcelo Padovani<sup>5</sup>.

<sup>1</sup>Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fisiologia Vegetal (UFLA), bolsista CNPq, e-mail: [migueiredo@yahoo.com.br](mailto:migueiredo@yahoo.com.br); <sup>2</sup>Professor 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](mailto:renpaiva@ufla.br); <sup>3</sup>Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fisiologia Vegetal (UFLA), bolsista CAPES, e-mail: [carolinatala@hotmail.com](mailto:carolinatala@hotmail.com); <sup>4</sup>Mestrando do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fisiologia Vegetal (UFLA), bolsista CNPq, e-mail: [pedrosacorrea@yahoo.com.br](mailto:pedrosacorrea@yahoo.com.br); <sup>5</sup>Mestrando do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fisiologia Vegetal (UFLA), bolsista FAPEMIG, e-mail: [marcelo\\_pado@yahoo.com.br](mailto:marcelo_pado@yahoo.com.br).

## INTRODUÇÃO

Algumas espécies não cultivadas de maracujazeiro, como *Passiflora gibertii* N. E. Brown, têm acenado com contribuições importantes ao melhoramento genético, por apresentarem resistência a doenças (Barbosa, 1995; Kuroda, 1981; Oliveira, 1987) e a pragas, maior 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.

Existem vários estudos sobre a regeneração *in vitro* de diversas espécies de *Passiflora*, mas a variação da resposta entre genótipos contribui para que o assunto não seja extinto. Essa variação ocorre, principalmente, em espécies silvestres de maracujazeiro, nas quais a variabilidade genética existente é muito grande. Os diferentes explantes utilizados também contribuem para a variabilidade da resposta de regeneração *in vitro*.

O objetivo deste trabalho foi estudar a indução de calos organogênicos em diferentes explantes de *Passiflora gibertii*.

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados explantes foliares e nodais obtidos de plântulas germinadas *in vitro* de *Passiflora gibertii* N. E. Brown - acesso CPAC MJ-22-01, da coleção de germoplasma da Embrapa Cerrados (CPAC) Planaltina, DF.

As folhas foram excisadas em diâmetros de  $\approx 1 \text{ cm}^2$  e os explantes nodais com  $\approx 1 \text{ cm}$  de comprimento. Segmentos foliares (face abaxial em contato com o meio de cultura) e nodais foram inoculados em meio de cultura MS (Murashige & Skoog, 1962) contendo metade da concentração de seus sais, suplementado com BAP (4,44  $\mu\text{M}$ ), água de coco (5%) e sacarose (3%). O pH do meio foi ajustado para  $5,8 \pm 0,1$  e este solidificado com ágar (0,5%), antes da autoclavagem, a  $120^\circ\text{C}$ , durante 20 minutos.

Após a 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 60 dias.

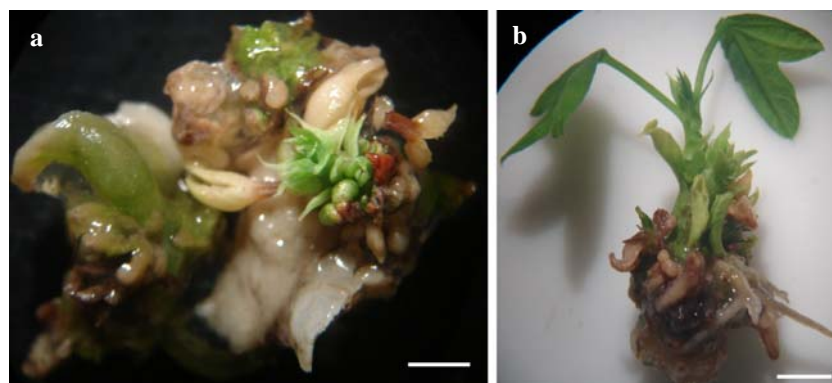
Os calos formados foram transferidos para meio de cultura MS contendo metade da concentração de seus sais, suplementado com BAP (4,44  $\mu\text{M}$ ), sacarose (3%), água de coco (5%) e solidificado com ágar (0,5%). Após inoculação, os explantes foram mantidos em sala de crescimento sob irradiância 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 quatro meses (122 dias).

Após esse período, calos organogênicos foram transferidos para meio de cultura MSM (Monteiro et al., 2000a), específico para maracujazeiro, suplementado com sacarose (3%) e  $\text{GA}_3$  (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

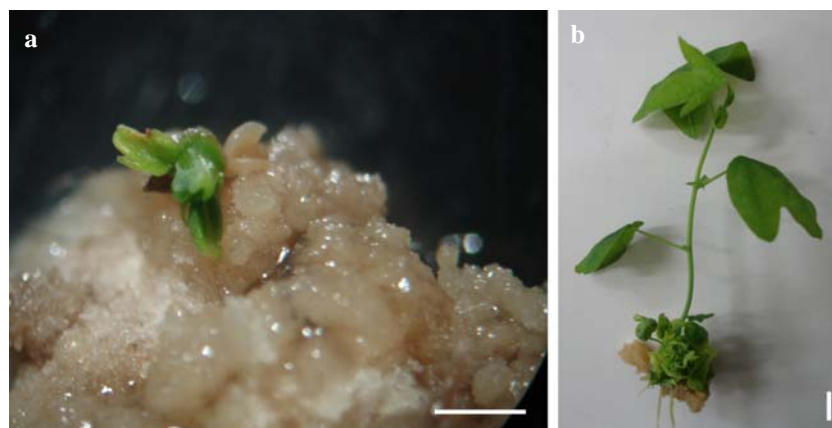
ágar (0,5%), antes da autoclavagem, a 120°C, durante 20 minutos. Avaliou-se a presença de calos organogênicos nos diferentes explantes de *Passiflora gibertii*.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após quatro meses em sala de crescimento, alguns explantes foliares (Figura 1a) e nodais (Figura 2a) com calos de *Passiflora gibertii* formaram gemas na superfície, em meio MS que, ao serem transferidos para meio de cultura MSM, suplementado com sacarose (3%) e GA<sub>3</sub> (2,89 µM), desenvolveram propágulos (Figuras 1b e 2b).



**FIGURA 1.** (a) Calos organogênicos obtidos de segmentos foliares de *P. gibertii* cultivados em meio MS contendo metade da concentração de seus sais, suplementado com BAP (4,44 µM) e água de coco (5%), aos 122 dias de cultivo. (b) Propágulo obtido de calo organogênico cultivado em meio MSM suplementado com GA<sub>3</sub> (2,89 µM), aos 30 dias de cultivo. Barra = 3 mm (a, b). UFLA, Lavras, MG, 2007.



**FIGURA 2.** (a) Calos organogênicos obtidos de segmentos nodais de *P. gibertii* cultivados em meio MS contendo metade da concentração de seus sais, suplementado com BAP (4,44 µM) e água de coco (5%), aos 122 dias de cultivo. (b) Propágulo obtido de calo organogênico cultivado em meio MSM suplementado com GA<sub>3</sub> (2,89 µM), aos 30 dias de cultivo. Barra = 3 mm (a), 5 mm (b). UFLA, Lavras, MG, 2007.

Dornelas & Vieira (1994) avaliaram o efeito de diferentes fontes de explante e concentrações de fitorreguladores na cultura *in vitro* de *P. edulis* f. *flavicarpa*. Estes autores observaram que a formação de gemas ocorreu sem a fase de calo e que o meio MS,

acrescido de 8,88  $\mu\text{M}$  de BA e 10% de água de coco, favoreceu a organogênese nos explantes cotiledonares e hipocotiledonares. Já para os explantes foliares, foram necessárias concentrações de 4,44  $\mu\text{M}$  de BA e 10% de água de coco para promover a organogênese. Similarmente, Hall et al. (2000) verificaram a influência do explante, bem como da adição de água de coco na organogênese do híbrido australiano *P. edulis* x *P. edulis* f. *flavicarpa*. Os autores enfatizaram que os explantes cotiledonares foram mais eficientes que os explantes foliares no processo de regeneração e que a adição de 10% de água de coco ao meio MS contendo 8,88  $\mu\text{M}$  de BA promoveu um rápido desenvolvimento de gemas.

Na organogênese *in vitro*, em diferentes acessos de maracujazeiro azedo, cultivados em meio MS suplementado com 8,88  $\mu\text{M}$  de BAP, o segmento nodal apresentou melhor desempenho no cultivo, com produção de maior número de brotações; os piores resultados foram obtidos com o fragmento foliar, que não produziu brotações. Foram observados, em cortes histológicos, numerosos meristemóides e gemas sem conexão vascular com os tecidos originais (Ribeiro et al., 2006).

Monteiro et al. (2000b), de forma semelhante ao presente trabalho, observaram a formação de gemas a partir de calos de *Passiflora suberosa*, após o cultivo em meio de cultura MSM acrescido de 2,89  $\mu\text{M}$  de  $\text{GA}_3$ . Entretanto, apesar da produção de calo em 100% dos explantes foliares, a formação de gemas a partir dessa região proliferada foi considerada baixa.

O processo organogênico *in vitro* em *P. edulis* f. *flavicarpa* população FB-100 caracterizou-se pela formação de primórdios foliares, gemas e protuberâncias em ambas as extremidades dos explantes hipocotiledonares e na superfície abaxial dos explantes foliares, principalmente na região da nervura central. A formação de calo foi verificada somente nos explantes hipocotiledonares (Fernando et al., 2005).

## CONCLUSÃO

Calos obtidos a partir de segmentos nodal e foliar de *P. gibertii*, após transferidos para meio MSM contendo  $\text{GA}_3$ , formam gemas.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BARBOSA, L. S. **Resistência de *Passiflora* spp. a *Xanthomonas campestris* pv. *passiflorae* e detecção do patógeno em sementes.** 1995. 66 p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

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.; VIEIRA, M. L. C.; APPEZZATO-DA-GLÓRIA, B. Organogênese *in vitro* a partir de explantes foliares e hipocotiledonares de *Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg. In: FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F.; PINTO, A. C. Q.; SOUSA, E. S. (Ed.). **Reunião técnica de pesquisas em maracujazeiro: trabalhos apresentados**, 4. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2005. p. 192-195.

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.

KURODA, N. **Avaliação do comportamento quanto a resistência de espécies e progênies de maracujazeiro a *Xanthomonas campestris* pv. *passiflorae*.** Jaboticabal: FCAV-UNESP. 1981. 45 p.

MONTEIRO, A. C. B. de A.; HIGASHI, E. N.; GONÇALVES, A. N.; RODRIGUEZ, A. P. M. A novel approach for the definition of the inorganic medium component for micropropagation of yellow passion fruit (*Passiflora edulis* Sims. f. *flavicarpa* Deg.). **In Vitro Cellular and Development Biology Plant**, Largo, v. 36, n. 5, p. 527-531, Nov./Dec. 2000a.

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. 2000b.

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.

OLIVEIRA, J. C. Melhoramento genético. In: RUGGIERO, C. (Ed.). **Cultura do maracujazeiro**. Ribeirão Preto: L. Summa, 1987. p. 218-246.

RIBEIRO, L. M.; PEIXOTO, J. R.; ANDRADE, S. R. M.; SIMÕES, M. O. M.; FONSECA, R. S.; VIEIRA, L. M. Organogênese *in vitro* em acessos de maracujazeiro-azedo infectados pelo vírus do endurecimento dos frutos. In: Frutas do Brasil: Saúde para o mundo. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 19., 2006, Cabo Frio-RJ. **Palestras e Resumos...** SBF/UENF/UFRuralRJ, 2006. p. 172.

#### PALAVRAS-CHAVE

*Passiflora gibertii* N. E. Brown; maracujá, organogênese indireta, material vegetal, regulador de crescimento.