

UTILIZAÇÃO DO 2,4-D NA INDUÇÃO DE CALOGÊNESE EM INSULINA-VEGETAL

BRUNO ÉRIC SIQUEIRA ALBINO¹, BRENO RÉGIS SANTOS², MARI MILA MARCHENTI DE MELLO³, SANDRO BARBOSA⁴, MARCELO POLO⁵, ERIC BATISTA FERREIRA⁶

RESUMO

Este trabalho foi realizado com o objetivo de estudar o efeito do 2,4-D na calogênese em explantes foliares de *Cissus sicyoides* L. Os explantes foram obtidos de plantas cultivadas no Horto de Plantas Mediciniais da UNIFAL-MG. As folhas foram desinfestadas utilizando-se imersão em álcool etílico 70% por 1 minuto e 10 minutos em hipoclorito de sódio comercial 50% (v/v), em seguida estas foram lavadas por três vezes em água destilada e autoclavada. A inoculação ocorreu em meio de cultura MS, solidificado com 0,7% de ágar, suplementado com 3% de sacarose e diferentes concentrações de 2,4-D (4,52; 9,04; 18,08; 27,12 e 36,16 µM) e a ausência deste. O pH do meio foi ajustado em 5,8, antes da autoclavagem. A incubação foi realizada na ausência de luz e em temperatura de ±25 °C. Utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado, com seis tratamentos e seis repetições por tratamento, sendo cada repetição composta por cinco tubos de ensaio com um explante cada. Aos 30 dias após a inoculação avaliou-se a porcentagem de formação de calos e a área coberta por calos. Todos os tratamentos que continham 2,4-D adicionado ao meio de cultivo foram estatisticamente iguais entre si para as duas variáveis analisadas. O tratamento mais indicado para a indução e proliferação de calos foi aquele que utilizou 4,52 µM de 2,4-D, proporcionando economia de regulador de crescimento e obtendo-se 93,33% de calogênese com 33,25% de área coberta. No entanto o 2,4-D possivelmente ocasionou atividade fitotóxica aos explantes foliares de *Cissus sicyoides* L.

Palavras-chave: *Cissus sicyoides* L.; cultura de tecidos; ácido 2,4 diclorofenoxiacético

INTRODUÇÃO

O gênero *Cissus* é o maior da família Vitaceae, com cerca de 350 espécies distribuídas entre as Américas, a Ásia e a Austrália. Estudos realizados com algumas espécies de *Cissus* têm revelado várias propriedades farmacológicas, dentre as quais destacam-se as atividades: antioxidante e antimicrobiana (SILVA et al., 2007), inibidor da enzima acetilcolinesterase (BARBOSA-FILHO et al., 2006), hipoglicemiante (BARBOSA et al., 2002) entre outras.

O cultivo de calos pode ser utilizado para se estudar o desenvolvimento celular, explorar produtos provenientes do metabolismo primário e secundário, obter suspensão celular e propagação via formação de gemas ou embriões somáticos (LANDA et al., 2000).

Em relação aos reguladores de crescimento vegetal, a indução de calos friáveis é geralmente favorecida por uma alta relação auxina/citocinina. Dentre as auxinas existentes, o ácido 2,4 diclorofenoxiacético (2,4-D) é o mais freqüentemente empregado. O objetivo deste trabalho foi estudar o efeito do 2,4-D na indução de calogênese em explantes foliares de *Cissus sicyoides* L.

MATERIAL E MÉTODOS

Os explantes foram retirados de plantas matrizes cultivadas no Horto de Plantas Mediciniais da Universidade Federal de Alfenas (UNIFAL-MG). As folhas foram desinfestadas utilizando-se imersão em álcool etílico 70% por 1 minuto e 10 minutos de hipoclorito de sódio comercial 50% (v/v), em

¹ Aluno de iniciação científica, UNIFAL-MG, brunoeric.biotec@hotmail.com

² Professor ICN, UNIFAL-MG, brenors@yahoo.com.br

³ Aluna de iniciação científica, UNIFAL-MG, marimilamello@hotmail.com

⁴ Professor ICN, UNIFAL-MG, sandro@unifal-mg.edu.br

⁵ Professor ICN, UNIFAL-MG, marcelo.polo@unifal-mg.edu.br

⁶ Professor ICE, UNIFAL-MG, eric@unifal-mg.edu.br

seguida elas foram lavadas por três vezes em água destilada e autoclavada. Segmentos foliares com tamanho aproximado de 0,5 cm² foram inoculados em tubos de ensaio contendo o meio de cultura MS (MURASHIGE & SKOOG, 1962), suplementado com 3% de sacarose e diferentes concentrações de 2,4-D (4,52; 9,04; 18,08; 27,12 e 36,16 µM) e a ausência deste. O meio foi solidificado com 0,7% de ágar e o pH ajustado em 5,8, antes da autoclavagem. A incubação foi realizada em sala de crescimento na ausência de luz e em temperatura de ±25 °C. Utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado, constando de seis tratamentos com seis repetições por tratamento, sendo cada repetição composta por cinco tubos de ensaio com um explante cada. A avaliação foi realizada aos 30 dias após a inoculação observando a porcentagem de formação de calos e de área do explante coberta por calo. Os dados foram submetidos à análise de variância, sendo as médias comparadas pelo teste Tukey a 5% de significância.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após o período de incubação foi observado que houve diferença significativa ($p < 0,05$) para a porcentagem de formação e para a área coberta por calos. Não houve formação de calos na ausência de regulador de crescimento, sendo que todas as outras concentrações de 2,4-D proporcionaram calogênese em 70% ou mais dos explantes, como demonstra a figura 1.

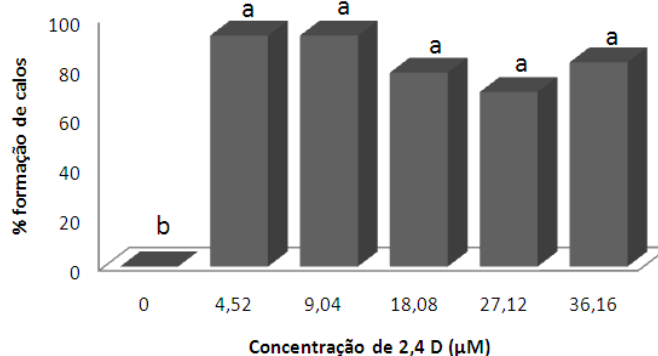


Figura 1- Porcentagem de formação de calos em função da concentração de 2,4-D.

Maior porcentagem de formação de calos (93,33%) foi obtida nos tratamentos que utilizaram 4,52 µM e 9,04 µM de 2,4-D, sendo o primeiro o mais indicado por proporcionar economia de regulador de crescimento.

Maior área coberta por calos nos explantes (33,25%) foi obtida na concentração de 4,52 µM de 2,4-D (Fig. 2). Assim, esta concentração é a mais indicada por proporcionar economia de regulador de crescimento.

Esses resultados estão de acordo com NOGUEIRA et al. (2007) que trabalhando com calogênese em explantes foliares de murici-pequeno (*Byrsonima intermedia* A. Juss.) obteve melhor indução e proliferação de calos em meio MS suplementado com 4,52 µM de 2,4-D.

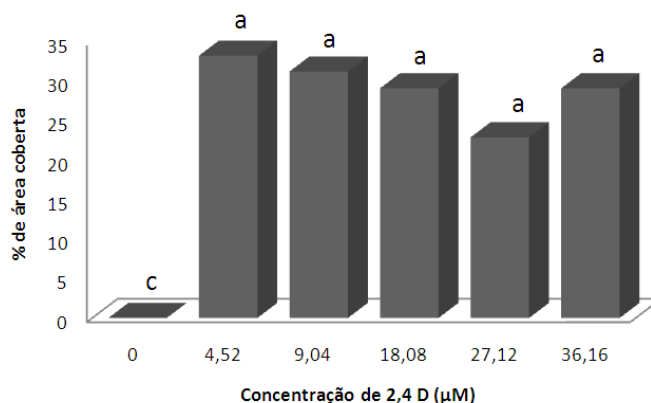


Figura 2 – Porcentagem de área coberta por calos em função da concentração de 2,4-D.

Porém, após quarenta e cinco dias de incubação foi observado que os explantes no meio com 2,4-D começaram a necrosar devido ao efeito fitotóxico deste regulador de crescimento, como demonstra a Figura 3.

Dados confluentes com os deste trabalho foram observados por COSTA et al. (2008) que trabalhando com calogênese em explantes foliares de pimenta longa (*Piper hispidinervum* C. DC.) observou que o 2,4-D não era efetivo para a calogênese e apresentava atividade fitotóxica, sendo que na concentração de 22,6 µM 63,5% dos explantes estavam necrosados.

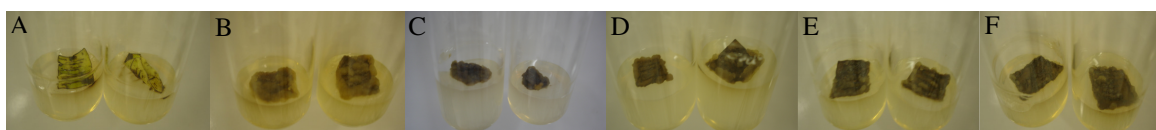


Figura 3 – Calogênese em explantes foliares de *Cissus sicyoides* L. A- Testemunha com ausência de formação de calos; B- Tratamento com 4,52 µM de 2,4-D; C- Tratamento com 9,04 µM de 2,4-D; D- Tratamento com 18,08 µM de 2,4-D; E- Tratamento com 27,12 µM de 2,4-D; F- Tratamento com 36,16 µM de 2,4-D.

CONCLUSÃO

Não se verificou indução de calogênese em explantes foliares de insulina-vegetal na ausência de 2,4-D.

Possivelmente o 2,4-D apresentou atividade fitotóxica aos explantes foliares de insulina-vegetal após 45 dias de incubação.

Para a indução de calos em explantes foliares de insulina-vegetal, recomenda-se o uso do meio MS acrescido de 4,52 µM de 2,4-D.

REFERÊNCIAL BIBLIOGRÁFICO

BARBOSA, W.L.R.; SANTOS, W.R.A.; PINTO, L.N.; TAVARES, I.C.C. Flavonóides de *cissus verticillata* e a atividade hipoglicemiante do chá de suas folhas. **Rev. Bras. Farmacognosia**, Curitiba, v. 12, n.2, p. 13-15, mar./abr. 2002.

BARBOSA-FILHO, J.M.; MEDEIROS, K.C.P.; DINIZ, M.F.F.M.; BATISTA, L.M.; ATHAYDE-FILHO, P.F.; SILVA, M.S.; CUNHA, E.V.L.; ALMEIDA, J.R.G.S.; QUINTANS-JÚNIOR, L.J. Natural products inhibitors of the enzyme acetylcholinesterase. **Rev. Bras. Farmacognosia**, Curitiba, v. 16, n.1, p. 258-285, jan./mar. 2006.

COSTA, H.S.; LOUREIRO, T.S.; PEREIRA, J.E.S. Influência de auxinas e tipos de explantes na indução de calos friáveis em *Piper hispidinervum* C. DC¹. **Rev. Ciên. Agron.**, Fortaleza, v.39, n.2, p. 269-274, 2008.

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

LANDA, F.S.L.; PAIVA, R.; PAIVA, P.D.O.; FILHO, J.S.S.B. Indução *in vitro* de calos em explantes foliares de pequizeiro (*Caryocar brasiliense* Camb.). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.24 (Edição Especial), p.56-63, 2000.

NOGUEIRA, R.C.; PAIVA, R.; OLIVEIRA, L.M.; SOARES, G.A.; SOARES, F.P.; CASTRO, A.H.F.; PAIVA, P.D.O. Indução de calos em explantes foliares de Murici-pequeno (*Byrsonima intermedia* A. Juss.). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.31, n.2, p. 366-370, 2007.

SILVA, L.; ONIKI, G.H.; AGRIPINO D.G.; MORENO P.R.H.; YOUNG M.C.M.; MAYWORM M.A.S.; LADEIRA A.M. Bicyclergmacreno, resveratrol e atividade antifúngica em extratos de folhas de *Cissus verticillata* (L.) Nicolson & Jarvis (Vitaceae). **Rev. Bras. Farmacognosia**, Curitiba, v. 17, n. 1, p. 361-367, jan./mar. 2007.