

EFEITO DO BAP E 2,4-D NA INDUÇÃO DE CALOS EM EXPLANTES COTILEDONARES DE BACUPARI

FLÁVIA PEREIRA BALIEIRO¹, BRENO RÉGIS SANTOS²; BRUNO ÉRIC SIQUEIRA ALBINO³, SANDRO BARBOSA⁴, MARCELO HENRIQUE DOS SANTOS⁵, ERIC BATISTA FERREIRA⁶.

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi determinar o efeito das possíveis interações entre os reguladores de crescimento 2,4 diclorofenoxyacético (2,4-D) e 6-bezilaminopurina (BAP) para a formação de calos a partir de explantes cotiledonares de bacupari. Os cotilédones foram desinfestados com álcool e hipoclorito e inoculados em meio WPM (*Wood Plant Medium*) suplementado com sacarose e os reguladores de crescimento. A combinação de 9,04 μM de 2,4-D com 4,44 μM de BAP é mais indicada para porcentagem de formação de calos (95,83%). Quanto à porcentagem de área coberta por calo o melhor tratamento foi aquele que utilizou 4,52 μM de 2,4-D e 8,88 μM de BAP apresentando índice de 4,31 (em uma escala de notas de 1 a 5). Foi observado formação de brotações em alguns tratamentos que continham citocinina. Assim, de acordo com os resultados, pode-se inferir que o balanço de auxina/citocinina possui influência significativa na calogênese de explantes cotiledonares de bacupari.

Palavras-chaves: *Garcinia brasiliensis* (Mart.), calogênese, 2,4-D; BAP.

INTRODUÇÃO

A espécie *Rheedia brasiliensis* (Mart.), ou *Garcinia brasiliensis* (Mart.), é nativa da região Amazônica e é cultivada em todo o território brasileiro, sendo conhecida popularmente como bacuri, bacupari, porocó e bacuripari, no Brasil e como guapomo na Bolívia. É uma espécie nativa do Brasil, Paraguai e norte da Argentina (MORTON, 1987).

O bacuparizeiro é uma árvore em forma de pirâmide rica em látex amarelo. Suas folhas são em formato de lança e as flores são abundantes e polígamas. Os frutos são comestíveis (POTT et al., 2004), ovais, com casca (pericarpo) elástica e amarela que pode ser facilmente removida, a polpa é branca, suave, saborosa e possui de 2 a 3 sementes (MORTON, 1987). Cerca de 8 a 9% do peso das sementes é referente ao óleo que é utilizado em cataplasmas para o tratamento de feridas e panarício. Os frutos são ainda utilizados no tratamento de tumores, inflamações do trato urinário, artrite e para aliviar dores (CORRÊA & PENNA, 1984).

A cultura de tecidos vegetais compreende um conjunto de técnicas onde um explante (célula, tecido ou um órgão) é isolado e cultivado sob condições assépticas em um meio artificial. O princípio básico da cultura de tecidos é a totipotencialidade das células, ou seja, qualquer célula no organismo vegetal contém toda a informação genética necessária para a regeneração de uma planta completa (TORRES et al., 1998).

Uma das metodologias para a propagação *in vitro* mais aplicadas é a indução de calos. Calos são definidos como aglomerados de células irregularmente diferenciadas, que se multiplicam

¹ Graduanda em Biotecnologia, ICN/ UNIFAL-MG, f.balieiro@hotmail.com

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

³ Graduando em Biotecnologia, ICN/ UNIFAL-MG, brunoeric.biotec@hotmail.com

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

⁵ Professor Adjunto da FCF/UNIFAL-MG,marcelohs@unifal-mg.edu.br

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

desordenadamente e se desenvolvem em resposta a injúrias químicas ou físicas. No entanto, os calos podem se diferenciar em tecidos e órgãos (TORRES et al., 1998).

As auxinas, uma das classes de fitormônios, têm sido amplamente utilizadas nos meios de cultivo para a indução de calos e, geralmente, dependendo da concentração, causam alongação, expansão ou divisão celular. Em geral, com o uso de baixas concentrações de auxinas, predomina a formação de raízes adventícias, enquanto que altas concentrações induzem a formação de calos. A interação entre auxinas e citocininas também é muito utilizada para a indução de calos (GOMES, 1999).

Segundo Soares et al., (2007) a aplicação exógena da auxina 2,4-D é uma condição necessária para a indução de calos em explantes foliares e caulinares de mangabeira, sendo que a adição da citocinina BAP combinada com o 2,4-D aumenta a formação de calos em explantes foliares e diminui em explantes caulinares.

Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar os possíveis efeitos das combinações da auxina 2,4-D e da citocinina BAP na indução de calos em explantes cotiledonares de bacupari.

MATERIAIS E MÉTODOS

Coleta e montagem do experimento

O trabalho foi realizado no Laboratório de Biotecnologia e Genética Vegetal da Universidade Federal de Alfenas (UNIFAL-MG).

Foram utilizados como explantes segmentos cotiledonares de bacupari com cerca de 1 cm cada. As sementes foram coletadas no município de Viçosa – MG, desinfestadas com álcool etílico 70% por 4 minutos e hipoclorito de sódio 50% (v/v) da solução comercial por 30 minutos e lavadas com água destilada e autoclavada por três vezes. Os segmentos foram inoculados em tubos contendo 15 ml de meio *Wood Plant Medium* (WPM - Lloyd e McCown, 1980) acrescido de 30 g.L⁻¹ de sacarose, 7 g.L⁻¹ de ágar e diferentes combinações de reguladores de crescimento. O pH foi ajustado para 5,8 antes da autoclavagem a 121°C e 1 atm de pressão por 20 minutos.

Estudou-se o efeito de diferentes combinações de BAP (0; 4,44; 8,88 e 17,76 µM) e 2,4-D (0; 4,52; 9,04 e 18,08 µM). Os tubos foram mantidos em sala de crescimento com temperatura de 25 °C e ausência de luz, durante 90 dias.

As variáveis analisadas foram formação de calos e área coberta por estes, utilizando-se o sistema de notas (1=0%, 2=25%, 3=50%, 4=75% e 5=100% de área coberta).

Análise estatística

O experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado constando de 16 tratamentos com 4 repetições, sendo cada repetição composta por 8 tubos de ensaio tendo um explante cotiledonar cada um.

Para análise estatística utilizou-se análise de variância (ANAVA), sendo as médias comparadas com auxílio do programa Sisvar (FERREIRA, 1999) utilizando o teste de Tukey a 5% de probabilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com os resultados obtidos verificou-se que houve diferença significativa ($p < 0,05$) entre os tratamentos (TABELA 1).

Tabela 1: Resumo da análise de variância para a variável porcentagem de calos formados relativa aos reguladores de crescimento.

FV	GL	QM	Pr>Fc
2,4-D	3	20661.26	0.000*
BAP	3	20661.26	0.000*
2,4D x BAP	9	2359.63	0.000*
Erro	48	43.86	
CV(%)	12.30		

*: diferença significativa ao nível de 5% de probabilidade.

XIX CONGRESSO DE PÓS-GRADUAÇÃO DA UFPA
27 de setembro a 01 de outubro de 2010

Não houve formação de calos utilizando somente a auxina (2,4-D) ou somente a citocinina (BAP). Os tratamentos que proporcionaram melhor formação de calos (100%) foram os que continham as seguintes combinações entre auxina/citocinina: 9,04/17,76 μM ; 9,04/8,88 μM ; 4,52/8,88 μM e 18,08/4,44 μM .

Esse resultado está de acordo com o obtido por Costa et al., (2008) que trabalhando com calogênese em explantes foliares de pimenta longa (*Piper hispidinervum* C. DC.) não obteve formação de calos em meio contendo apenas 2,4-D. Lima et al. (2008) também não conseguiu indução de calos em explantes foliares de sangra d'água (*Croton urucurana* Baill.) utilizando BAP isoladamente e nem em combinação com 2,4-D.

O melhor tratamento foi aquele que utilizou 9,04 μM de 2,4-D combinado com 4,44 μM de BAP, pois proporciona economia de regulador de crescimento e calogênese em 95,83% dos explantes, como demonstra a Tabela 2.

Esse resultado corrobora o obtido por Azevedo (2003) que obteve melhor formação de calos em copaíba (*Copaifera langsdorffii* Desf.), utilizando 9,04 μM de 2,4-D combinado com 4,44 μM de BAP.

Tabela 2: Porcentagem de formação de calos de *Garcinia brasiliensis* (Mart) em função da interação dos reguladores de crescimento 2,4-D e BAP.

2,4 D (μM)	BAP (μM)			
	0,00	4,44	8,88	17,76
0,00	0,00 aA	0,00 cA	0,00 bA	0,00 cA
4,52	0,00 aC	87,50 bB	100,00 aA	95,00 abAB
9,04	0,00 aB	95,83 aA	100,00 aA	100,00 aA
18,08	0,00 aC	100,00 aA	95,83 aAB	87,50 bB

* Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si, de acordo com o teste Tukey, a 5% de probabilidade.

Quanto à área de calo formada no explante houve diferença significativa ($p < 0,05$) quando se utilizou auxina, citocinina e a interação entre elas, como demonstrado na Tabela 3.

Tabela 3: Resumo da análise de variância para a variável porcentagem de calos formados relativa aos reguladores de crescimento.

FV	GL	QM	Pr>F _c
2,4-D	3	17,975	0,000*
BAP	3	18,571	0,000*
2,4D x BAP	9	2,128	0,000*
Erro	48	0,089	
CV (%)	11.58		

*: diferença significativa ao nível de 5% de probabilidade.

Os tratamentos que proporcionaram maior área coberta por calo foram aqueles que continham a relação auxina e citocinina em 4,52/8,88 μM ; 9,04/4,44 μM ; 18,08/4,44 μM ; 9,04/8,88 μM ; 18,08/8,88 μM ; 9,04/17,76 μM ; 18,08/17,76 μM não diferindo entre si estatisticamente.

Porém o tratamento mais indicado é aquele que contém 4,52 μM de 2,4-D e 8,88 μM de BAP por ser o que apresentou melhor resultado e por ter o menor consumo de regulador, como demonstra a Tabela 4.

Esse resultado discorda com o obtido por Nogueira et al. (2007) que trabalhando com indução de calos em explantes foliares de murici-pequeno (*Byrsonima intermedia* A. Juss.) obteve 100% de área coberta por calos em meio contendo 4,52 μM de 2,4-D, sendo que a combinação desta auxina com a citocinina BAP não favorecia esta variável resposta.

XIX CONGRESSO DE PÓS-GRADUAÇÃO DA UFLA
27 de setembro a 01 de outubro de 2010

Tabela 4: Porcentagem de área coberta por calos de *Garcinia brasiliensis* (Mart) em função da interação dos reguladores de crescimento 2,4-D e BAP

2,4 D (μM)	BAP (μM)			
	0,00	4,44	8,88	17,76
0,00	1,00 aA	1,00 bA	1,00 bA	1,00 bA
4,52	1,00 aC	3,27 aB	4,31 aA	3,59 aB
9,04	1,00 aB	3,70 aA	4,06 aA	3,80 aA
18,08	1,00 aB	3,71 aA	4,19 aA	3,75 aA

* Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si, de acordo com o teste Tukey, a 5% de probabilidade.

Durante o experimento observou-se a formação de brotações nos tratamentos com as relações 0/4,44 μM ; 0/8,88 μM ; 0/17,76 μM e 4,52/17,76 μM de 2,4 D e BAP (FIGURA 1). O tratamento 8,88 μM de BAP foi o que apresentou maior média quanto ao número de brotações correspondente a 10,33 brotos. (FIGURA 1-A)

Menores médias do número de brotos (0,62 e 0,18) foram obtidas, respectivamente, nos tratamentos com 17,76 μM de BAP combinado com 0 e 4,52 μM de 2,4 D. (FIGURA 1- C e 1-D)

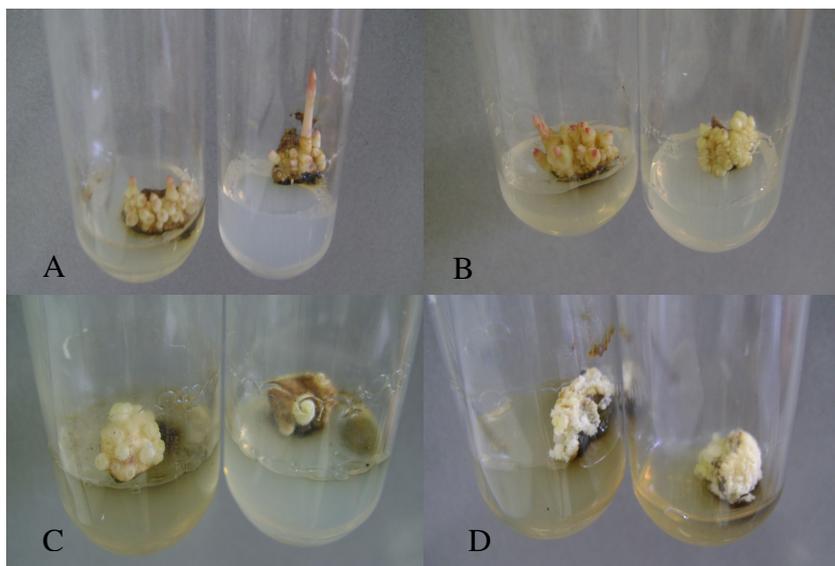


Figura 1: Brotações verificadas com as interações entre auxina e citocinina.

CONCLUSÃO

A partir dos dados obtidos verificou-se que o tratamento que utilizou 9,04 μM de 2,4-D combinado com 4,44 μM de BAP, é o mais indicado para formação de calos, pois proporciona economia de regulador de crescimento e calogênese em 95,83% dos explantes

O tratamento mais indicado para se obter maior área coberta por calos é aquele que contém 4,52 μM de 2,4-D e 8,88 μM de BAP por ser o que apresentou melhor resultado e por ter o menor consumo de regulador.

Os resultados indicam que utilização de 4,44 μM de BAP foi a que apresentou melhor formação de brotações em explantes cotiledonares de bacupari.

Apoio: FAPEMIG

REFERÊNCIAL BIBLIOGRÁFICO

AZEVEDO, K. de S. **Indução e análises bioquímicas de calo e aspectos da anatomia foliar de copaíba (*Copaifera langsdorffii* Desf.)**. 2003. 86 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) Universidade Federal de Lavras, Lavras - MG, 2003.

CORRÊA, M. P.; PENNA, L. A. **Dicionário das Plantas Úteis do Brasil e das Exóticas Cultivadas**. Brasília: Instituto Brasileiro de Desenvolvimento Florestal, 1984. 481p.

COSTA, F. H. S.; LOUREIRO, T. S.; PEREIRA, J. E. S. Influência de auxinas e tipos de explantes na indução de calos friáveis em *Piper hispidinervum*. **Rev. Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 39, n. 02, p. 269-274, Abr.- Jun., 2008

FERREIRA, D. F. **SISVAR 4.3 Sistema de análises estatísticas**. Lavras: UFLA, 1999.

GOMES, G. A. C. **Propagação in vitro de Moreira (*Maclura tinctoria*)**. 1999. 92 p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Lavras, Lavras – MG, 1999.

LIMA, E. C.; PAIVA, R.; NOGUEIRA, R. C.; SOARES, F. P.; EMRICH, E. B.; SILVA, A. A. N.; Indução de calos em segmentos foliares de sangra d água (*Croton urucurana* Baill.). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 32, n. 1, p. 17-22, jan./fev., 2008

LLOYD, G.; McCOWN, B. Commercially-feasible micropropagation of mountain laurel, *Kalmia latifolia*, by use of shoot-tip culture. **Combined Proceedings of International Plant Propagators' Society**, Seattle, v.30, p.421-427, 1980.

MORTON, J. **Fruits of warm climate**. Miami: Julia F. Morton, 1987. 478 p.

NOGUEIRA, R. C.; PAIVA, R.; OLIVEIRA, L. M.; SOARES, G. A.; SOARES, F. P.; CASTRO, A. H. F. C.; PAIVA, P. A. O. Calli induction from leaf explants of murici-pequeno (*Byrsonima intermedia* A. Juss.) **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 31, n. 2, p. 366-370, mar./abr., 2007

POTT, A.; POTT, V. J.; SOBRINHO, A. A. B. Plantas úteis à sobrevivência no Pantanal. In: IV SIMPÓSIO SOBRE RECURSOS NATURAIS E SÓCIO-ECONÔMICOS DO PANTANAL, 2004, Corumbá. Anais... Corumbá : 2004. p. 39-40.

SOARES, F. P.; PAIVA, R.; ALVARENGA, A. A. DE.; NOGUEIRA, R. C.; EMRICH, E. B.; MARTINOTTO, C. Organogênese direta em explantes caulinares de mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 31, n. 4, p. 1048-1053, jul/ago, 2007.

TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. **Cultura de Tecidos e Transformação Genética de Plantas**. 1ª ed. Brasília: Embrapa-SPI, 1998.