

INDUÇÃO DE CALOS EM DIFERENTES TIPOS DE EXPLANTES DE MAMOEIRO “TAINUNG 01”

Wanderson Souza Rabello¹, Leandro Mendel da Cruz², Omar Schmidt³ José Augusto Teixeira do Amaral⁴, Edilson Romais Schmidt⁵

¹Universidade Federal do Espírito Santo/Produção Vegetal, Rua Vivaldo Rosa Vieira, 55 – Vila do Sul, CEP 29500-000, Alegre-ES, rabelloicm@yahoo.com.br.

²Universidade Federal do Espírito Santo/Produção Vegetal, Cx. Postal 16, CEP 29500-000, Alegre-ES, leandro.mendel@hotmail.com.

³Universidade Federal do Espírito Santo/Produção Vegetal, Cx. Postal 16, CEP 29500-000, Alegre-ES, omar_dr@uenf.br

⁴Universidade Federal do Espírito Santo/Produção Vegetal, Cx. Postal 16, CEP 29500-000, Alegre-ES, jata@cca.ufes.br.

⁵Universidade Federal do Espírito Santo /Centro Universitário Norte do Espírito Santo (CEUNES), Departamento de Ciências da Saúde, Biológicas e Agrárias, Av. Humberto de Almeida Francklin, Bairro Universitário, CEP 29933-415, São Mateus – ES (Sede Provisória). E-mail: edilsonschmidt@ceunes.ufes.br

Resumo - Este trabalho teve como objetivo a indução de calos em diferentes explantes de mamoeiro *Carica papaya* “Tainung 01”. Os explantes iniciais foram obtidos por meio de germinação *in vitro*, de sementes de frutos hermafroditas oriundos de brotações laterais. Foram utilizados quatro tipos de explantes (hipocótilo seccionado com 5 mm de comprimento; folhas cotiledonares; epicótilo seccionado com 3 mm de comprimento e segmentos de raízes) cultivados em: ½ MS suplementado com 1 mg L⁻¹ de ANA e 0,2 mg L⁻¹ BAP e ½ MS suplementado com 1 mg L⁻¹ de ANA e 0,2 mg L⁻¹ de Cinetina. O desenvolvimento dos calos foi observado durante 20 dias de cultivo. Aos 20 dias de cultivo todos os explantes apresentaram formação de calos nos dois meios de cultivo utilizados.

Palavras-chave: *Carica papaya*, cultura de tecidos, calogênese.

Área do Conhecimento: Biotecnologia

Introdução

A aplicação de técnicas de cultura de tecidos vegetais, como a micropropagação, tem como principais vantagens o aumento rápido do número de indivíduos e a possibilidade de conservação de germoplasma, garantindo a manutenção da biodiversidade (ECHEVERRIGARAY et al., 2001). Uma das maneiras de multiplicação é por meio da organogênese indireta, passando pela fase de calo. Para ocorrer a indução de calo, qualquer tecido vegetal pode ser utilizado como explante (NOGUEIRA et al., 2001).

Calo é basicamente um tecido tumoral, mais ou menos organizado, que geralmente surge sobre feridas de órgãos e tecidos diferenciados (SOARES et al., 2002). Os calos possuem a capacidade de se diferenciar em tecidos, órgãos e até embriões, regenerando plantas inteiras (PIERIK, 1990; TORRES e CALDAS, 1990).

Para a indução da formação de calos, muitas vezes é necessário o suprimento exógeno de reguladores de crescimento, sendo que a necessidade do regulador, no que diz respeito ao tipo, concentração, relação auxina/citocinina, depende do genótipo e conteúdo endógeno de hormônio (VIETZ e SAN JOSÉ, 1996).

Um dos fatores mais importantes para se obter a calogênese é a escolha do explante (BONGA, 1977), uma vez que o potencial morfogenético dos calos geralmente varia com a origem do explante (MEHRA e MEHRA, 1974).

Este trabalho teve como objetivo a indução de calos em diferentes tipos de explantes de mamoeiro *Carica papaya* “Tainung 01”.

Metodologia

O experimento foi conduzido no laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais no Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo – CCA-UFES, situado em Alegre, no sul do Estado do Espírito Santo.

Os explantes iniciais do mamoeiro ‘Tainung 01’ foram obtidos de plântulas germinadas *in vitro*. As sementes foram obtidas de frutos hermafroditas, oriundos de brotações laterais. A desinfestação das sementes foi realizada em solução de álcool 70% por trinta segundos, solução comercial de hipoclorito de sódio com 1% de cloro ativo por 20 minutos, sendo, em seguida, lavados com água destilada e esterilizada por três vezes. Utilizou-se meio básico de MS (MURASHIGE e SKOOG, 1962), sem reguladores de crescimento e

solidificado com 6 g.L⁻¹ de agar. O pH foi ajustado em 5,7 antes da adição do agar. As condições de germinação das sementes foram: sessenta dias de cultivo no escuro com temperatura de 27+/- 2°C e trinta dias recebendo intensidade luminosa de 22,8 µmol/m²/s de fluxos de fótons fotossintéticos, fotoperíodo de 16 horas e temperatura de 27+/- 2°C.

Para a indução de calos foram utilizados como explantes: o hipocótilo seccionado com 5 mm de comprimento; folhas cotiledonares; epicótilo seccionado com 3 mm de comprimento e segmentos de raízes. Os explantes foram introduzidos em frascos com capacidade de 240 ml, contendo os seguintes meios de cultura: a) ½ MS suplementado com 1 mg L⁻¹ de ANA e 0,2 mg L⁻¹ BAP; b) ½ MS suplementado com 1 mg L⁻¹ de ANA e 0,2 mg L⁻¹ de Cinetina. O meio com pH regulado em 5,7 foi padronizado a 20ml, autoclavado a 121°C e pressão de 15 lib/pol², durante 15 minutos. Os frascos foram mantidos em sala de cultura, sob lâmpadas fluorescentes fornecendo 22,8 µmol/m²/s de fluxos de fótons fotossintéticos e 16 horas de fotoperíodo com temperatura controlada em 27+/-2°C.

As avaliações foram realizadas durante 20 dias de cultivo, observando a presença ou ausência de calos nos explantes.

Resultados

A tabela 1.0 apresenta os resultados referentes à porcentagem de indução de calos obtida com os quatro tipos de explantes nos dois meios de cultura utilizados durante os 20 dias de cultivo.

O início do desenvolvimento de calos não foi observado durante os primeiros três dias após a introdução do explante em meio de cultura.

Independentemente do tipo de explante e do meio de cultura, em todos os casos observou-se 100% de indução de calos (tabela 1.0). Entretanto os calos apresentaram coloração esbranquiçada e pouco peso fresco.

Tabela 1.0 Porcentagem de calos em dois meios de cultura utilizando diferentes tipos de explantes, aos 20 dias de cultivo.

Explante	Meio de Cultura	
	½ MS + 1 mg L ⁻¹ ANA e 0,2 mg L ⁻¹ BAP	½ MS + 1 mg L ⁻¹ ANA e 0,2 mg L ⁻¹ Cinetina
Hipocótilo (5 mm)	100%	100%
Epicótilo (3 mm)	100%	100%
Folhas Cotiledonares	100%	100%
Segmentos de raízes	100%	100%

Discussão

A não formação de calos durante os primeiros dias de cultivo discorda de Almeida et al. (2001) que observou a formação de calos com três a cinco dias de cultivo em meio de cultura, atingindo um máximo crescimento aos 20 dias.

Apesar da maioria dos trabalhos relatar que a calogênese desenvolve-se melhor no escuro, no presente trabalho observou-se o desenvolvimento de calos em todos os explantes submetidos a ação da luz. Faria (1996) também não observou diferença significativa entre períodos de escuro na intensidade de calos de macieira cv. Marubakaido.

No presente trabalho observou-se a formação de calos em todos os explantes independente do meio de cultura utilizado. Esses resultados discordam de Oliveira et al. (1998) que obtiveram diferenças significativas no comportamento *in vitro* dos explantes com a cv. Baixinho de Santa Amália, tendo o hipocótilo com folhas cotiledonares apresentado o melhor desempenho para a indução de calos.

Almeida et al. (2001) trabalhando com o mamoeiro *Carica papaya* "Tainung 01", utilizando diversos tipos de explantes e diferentes meios de cultivo obteve respostas variadas com relação à porcentagem de indução de calos, observando uma maior indução e desenvolvimento de calos quando se utilizou como explante o hipocótilo com folhas cotiledonares em meio de cultura ½ MS suplementado com 10 mg L⁻¹ de 2,4-D durante 20 dias, sob condições de escuro. Entretanto Salman (2002) obteve 100% de calos desenvolvidos a partir de segmentos foliares de *Gypsophila paniculata* incubados em meio suplementado com 2,4-D e BAP. Em seu estudo, a maior taxa de calos foi obtida mantendo-se a relação auxina/citocinina igual a 0,2. Blando et al. (1993) relataram que cerca de 90% de explantes foliares de morangueiro cv. Pajaro formaram calos com 9µM de 2,4-D e 4,6 µM de Cinetina.

Segundo Oliveira et al. (2006) o uso de citocininas em combinação com auxinas, na indução de calos e formação de brotos, foi aplicado com sucesso no protocolo desenvolvido por Geetha et al. (1997), para regeneração de plantas de *Vigna mungo*, a partir de explantes de hipocótilo, epicótilo, gema axilar, nós cotiledonares e folhas imaturas.

Conclusão

A adição dos reguladores de crescimento Cinetina e BAP ao meio de cultura MS acrescido de ANA, proporciona bons resultados na indução de calos em diversos tipos de explantes do mamoeiro *Carica papaya* "Tainung 01".

Referências

- ALMEIDA, E. P; OLIVEIRA, R. P; DANTAS, J. L. L. Indução e Desenvolvimento de Calos e Embriões Somáticos em Mamoeiro. **Scientia Agricola**, v.58, n.1, p.51-54, jan./mar. 2001.
- BLANDO, F.; NIGLIO, A.; FRATTARELLI, A. Cell suspension culture in strawberry: growth characterization and variability. *Acta Hort.*, v. 336, p. 257-262, 1993.
- BONGA, J.M. **Applications of tissue culture in forestry**. In: REINERT, J.; BAJAJ, Y.P.S. Applied and fundamental aspects of plant cell, tissue and organ culture. Berlin: Springer-Verlag, 1977. p.93-108.
- ECHEVERRIGARAY, S.; ANDRADE, L. B.; DELAMARE, A. P. L.; ZENI, A. L. B.; CARRER, R. Cultura de tecidos e micropropagação de plantas aromáticas e medicinais. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. **Biotecnologia na agricultura e na agroindústria**. Guaíba: Agropecuária, 2001. p. 257-276.
- FARIA, J. T. C. Calogênese e organogênese em porta enxerto de macieira cv. Marubakaido (*Malus prunifolia* Willd, Borkh). Pelotas-RS. 51 p. Tese (Mestrado em Agronomia) - Curso de Pós-Graduação em Agronomia, Universidade Federal de Pelotas, 1996.
- GEETHA, N.; VENKATACHALAM, P.; RAO, G. R. In vitro plant regeneration from different seedling explants of blackgram [*Vigna mungo* (L.) Hepper] via organogenesis. **Breeding Science**, v.47, n.4, p.311-315, 1997.
- MEHRA, A.; MEHRA, P.N. Organogenesis and plantlet formation *in vitro* in almond. **Botanical Gazette**, v.135, p.61-73, 1974.
- MURASHIGE, T. ; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, v.15, p.473-497, 1962.
- NOGUEIRA, R. C; P, R; OLIVEIRA, L. M; SOARES, G. A; S, F. P; CASTRO A. H. F; PAIVA, P. D. O. **Indução de Calos em Explantes Foliares de Murici-Pequeno (*Byrsonima intermedia* A. Juss.)**. Ciênc. agrotec., Lavras, v. 31, n. 2, p. 366-370, mar./abr., 2007.
- OLIVEIRA, R.P.; ALMEIDA, E.P.; DANTAS, J.L.L.; NICKEL, O. Papaya somatic embryogenic protocol (*Carica papaya* L. cv. Baixinho de Santa Amália). In: LATIN-AMERICAN MEETING ON PLANT BIOTECHNOLOGY, 3., Havana, 1998. **Abstracts**. Havana, 1998. p.123.
- OLIVEIRA, V. P; BENBADIS, A. K; CARVALHO, A. C. P. P. **Avaliação da regeneração *in vitro* de explantes de caupi e soja**. Rev. Ciênc. Agron., v.37, n.2, p.153-159, 2006.
- PIERIK, R.L.M. Cultivo *in vitro* de las plantas superiores. [S.l.]: **Martins Nijoff Publishers**, 1990. 326p.
- SALMAN, M.N. Establishment of callus and suspension cultures from *Gypsophila paniculata* leaf segments and study of the attachment of host cells by *Erwinia herbicola* pv. *Gypsophila*. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v.69, p.189-196, 2002.
- SOARES, G. A.; PAIVA, R.; SOARES, F. P.; NOGUEIRA, R.C.; SANTOS, C. G.; SANTANA, J. R. F.; PAIVA, P.D.O. Indução de calos em explantes foliares e segmentos internodais de *Inga affinis* em meio MS suplementado com diferentes concentrações de 2,4-D. In: XVII Congresso Brasileiro de Fruticultura, 2002, Belém. **Anais do XVII Congresso Brasileiro de Fruticultura, 2002**.
- TORRES, A.C.; CALDAS, L.S. **Técnicas e aplicações da cultura de tecidos de plantas**. Brasília: EMBRAPA-CNPq, 1990. 433p.
- VIETEZ, A.M.; SAN JOSÉ, M.C. Adventitious shoot regeneration from *Fagus sylvatica* leaf explants *in vitro*. **In Vitro Cellular Development Biology**, Columbia, v.32, p.140-147, July./Sept.1996.