



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE FEIRA DE SANTANA

Autorizada pelo Decreto Federal nº 77.496 de 27/04/76
Recredenciamento pelo Decreto nº 17.228 de 25/11/2016



PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
COORDENAÇÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

XXIV SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UEFS SEMANA NACIONAL DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA - 2020

INDUÇÃO DE CALOS EM *Poincianella pyramidalis* [TUL.] L. P. QUEIROZ

Jozilene Ferreira de Jesus¹; José Raniere Ferreira De Santana² e Rosembrando S. L. C. Filho³

1. Bolsista PIBIC/CNPq, Graduando em Licenciatura em Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: joziferreira10@gmail.com
2. Orientador, Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: jose.raniere@gmail.com
3. Agrônomo, Mestrando em Recursos Genéticos Vegetais, Universidade Estadual de Feira de Santana, email: eagronomocarvalho@gmail.com

PALAVRAS-CHAVE: catingueira; calos; reguladores de crescimento.

INTRODUÇÃO

Poincianella pyramidalis (Tul.) L. P. Queiroz é uma leguminosa tipicamente encontrada no bioma caatinga, de acordo com Matias et al. (2017), é comumente conhecida como catingueira, catinga-de-porco e catingueira-das-folhas-largas, sendo estes nomes referentes ao odor desagradável que suas folhas possuem. A catingueira é utilizada como fonte de madeira para lenha, na alimentação animal, produção de álcool combustível, assim como, na medicina popular, sendo indicada no tratamento de infecções catarrais e diarreias (MAIA, 2012). Espera-se que estudos voltados para elaboração de ferramentas de multiplicação e conservação com viés sustentável sejam realizados, contribuindo para preservação da referida espécie. Dentre as técnicas de cultura de tecidos vegetais está a micropropagação, que permite o alcance de elevado número de plantas com qualidade fitossanitária em curto um período (MASCARENHAS; SANTANA; BRITO, 2019). O processo de desenvolvimento *in vitro* pode ser controlado pelo uso dos reguladores de crescimento (BOTIN; CARVALHO, 2015), para a indução da calogênese, como é o caso das citocininas e auxinas, resultando no cultivo de massas celulares, denominadas calos (BARBOZA, 2014).

Nesse contexto, o presente trabalho objetivou avaliar o efeito de diferentes concentrações de auxina 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D) e da citocinina 6-Benzilaminopurina (BAP) no processo de indução de calos em *Poincianella pyramidalis* (Tul.) L. P. Queiroz.

MATERIAL E MÉTODOS

Segmentos foliares foram excisados nas extremidades longitudinais ($\pm 0,5 \text{ cm}^2$) e imersos em ácido ascórbico (1,14 mM) durante 10 minutos. Em seguida, estes explantes foram inoculados em placas de Petri (90 mm x 15 mm) contendo 30 mL de meio de cultura MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962), suplementado com 0,0; 2,5; 5,0; 10,0 μM de 2,4-D combinadas com 0,0; 2,5 e 5,0 μM de BAP. O meio de cultura foi acrescido com 87,64 mM de sacarose e solidificado com 7g.L-1 de ágar, tendo o seu pH ajustado para $5,7 \pm 0,1$.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC) em esquema fatorial 4 x 3 (concentrações de 2,4-D x concentrações de BAP), totalizando 12 tratamentos, constituído por cinco repetições (placas), sendo cada repetição composta por 5 unidades experimentais (cinco explantes). As culturas foram mantidas em câmara de incubação, tipo B.O.D (*Biochemical Oxygen Demand*), com temperatura de $25 \pm 3^\circ \text{C}$, na ausência de luz. Após 56 dias de cultivo foram avaliadas: porcentagem dos explantes que formaram calos (%EFC), massa fresca dos explantes com calos (MFEC), porcentagem da área do explante recoberta por calos

(%ARC) (de acordo com a seguinte escala visual: 0% – ausência de calos, aproximadamente 25%, aproximadamente 50%, aproximadamente 75% e 100% da área do explante recoberta por calos). Os dados foram avaliados estatisticamente por meio do Software SISVAR (FERREIRA, 2011). Estes foram submetidos ao teste de normalidade Shapiro-Wilk em seguida foi realizada a análise de variância; as médias foram submetidas ao teste que mais se adequou a proposta, neste caso, Scott-Knott a 5% de probabilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise de variância demonstrou efeito altamente significativo ($p \leq 0,01$) da interação entre os fatores AUXINA x CITOCININA para todas as variáveis analisadas. Ao analisar a porcentagem de explantes que formaram calos, verificou-se que as maiores médias foram obtidas quando combinadas diferentes concentrações da citocinina 6-benzilaminopurina (BAP) e da auxina 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D) (Tabela 1). É importante destacar que resultados acima de 60% quando avaliado o efeito da citocinina na ausência da auxina e vice versa, pode estar relacionado ao conteúdo destes hormônios produzidos pela própria planta, em que o balanço endógeno com a concentração disponível em meio de cultura favorece a formação de massas celulares.

Tabela 1: Porcentagem de explantes que formaram calos (% EFC) em segmentos foliares de *Poincianella pyramidalis* [Tul.] L.P. Queiroz submetidos a diferentes concentrações da citocinina 6-benzilaminopurina (BAP) e da auxina 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D) aos 56 dias de cultivo. Feira de Santana, BA. 2020.

2,4-D μM	BAP		
	0,0 μM	2,5 μM	5,0 μM
0,0	8,00Bb	92,00Aa	44,00Bb
2,5	88,00Aa	96,00Aa	96,00Aa
5,0	60,00Ab	88,00Aa	96,00Aa
10,0	80,00Ab	72,00Ab	100,00Aa

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na mesma linha e maiúscula na coluna em relação a cada concentração de 2,4-D, não diferem estatisticamente entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste Scott-Knott.

Esses dados são semelhantes aos Silva et al. (2018), que demonstraram em seus resultados que a interação entre citocininas e auxinas promovem a formação de calos nos explantes de segmentos nodais e foliares de pau-ferro ferro (*Caesalpinia ferrea*). Oliveira et al. (2007) obtiveram resultados que corroboram a eficiência da interação da auxina 2,4 -D e da citocinina BAP na indução de calos *in vitro* na espécie *Vigna unguiculata* (L.) Walp. (Fabaceae). Dessa forma, admite-se a importância do balanço hormonal para desencadear os processos de desdiferenciação celular e promoção eficiente da calogênese (WERNER et al. 2010). A partir da porcentagem de explantes que formaram calos na ausência de 2,4-D com queda de cerca de 50% na formação de calos quando a concentração passa a ser 5,0 μM de BAP, sugere que a alta concentração de moléculas de citocinina nos tecidos pode fazer com que se tornem inibidoras das divisões celulares (SILVA et al. 2018). Este padrão de respostas ao uso combinado da auxina e da citocinina é demonstrado também quanto à massa fresca dos explantes que formaram calos (MFEC) (Tabela 2), onde foi possível alcançar as maiores medias entre as maiores concentrações dos reguladores de crescimento testados.

Tabela 2: Médias para massa fresca dos explantes que formaram calos (MFEC mg) em explantes foliares de *Poincianella pyramidalis* [Tul.] L.P. Queiroz submetidos a diferentes concentrações da citocinina 6-benzilaminopurina (BAP) e da auxina 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D) aos 56 dias de cultivo. Feira de Santana, BA. 2020.

2,4-D μM	<u>BAP</u>		
	<u>0,0 μM</u>	<u>2,5 μM</u>	<u>5,0 μM</u>
0,0	2,76Ba	38,78Ba	12,16Ba
2,5	86,76Ab	196,86Aa	276,96Aa
5,0	13,32Ba	248,76Aa	282,24Aa
10,0	140,76Ab	224,86Aa	247,58Aa

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na mesma linha e maiúscula na coluna em relação a cada concentração de 2,4-D, não diferem estatisticamente entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste Scott-Knott.

Levando em conta que as médias de massa fresca dos explantes indicam a multiplicação celular que ocorreu nos explantes para a formação dos calos (WERNER et al. 2010), a interação da auxina com a citocinina promove aumento das divisões celulares nas células dos explantes, já que as maiores médias de massa fresca estavam atrelados às maiores concentrações de 2,4-D combinados com as com as maiores concentrações de BAP utilizadas nesse experimentos. No trabalho de Werner et al. (2010) a massa seca de calos de *Caesalpinia echinata* (pau-brasil) demonstraram que os melhores resultados estavam associados a auxina 2,4-D combinado com a citocinina BAP. Analisando a porcentagem da área do explante recoberta por calos (% ARC), presentes na tabela 3, o maior resultado (93%) foi obtido quando combinado a concentração mais alta da auxina, correspondente 10,0 μM de 2,4-D e a maior concentração da citocinina, equivalente a 5,0 μM de BAP. Observou-se que na presença de 5,0 μM de BAP, a porcentagem cresceu de forma linear quando aumentadas as concentrações de 2,4 D, embora, considere-se a similaridade estatística existente.

Tabela 3: Porcentagem da área do explante recoberta por calos (% ARC) a partir de segmentos foliares em *Poincianella pyramidalis* [Tul.] L.P. Queiroz submetidos a diferentes concentrações da citocinina 6-benzilaminopurina (BAP) e da auxina 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D) aos 56 dias de cultivo. Feira de Santana, BA. 2020.

2,4-D μM	<u>BAP</u>		
	<u>0,0 μM</u>	<u>2,5 μM</u>	<u>5,0 μM</u>
0,0	8,00Bb	74,00Aa	35,00Bb
2,5	67,00Aa	81,00Aa	84,00Aa
5,0	26,00Bb	81,00Aa	86,00Aa
10,0	72,00Aa	65,00Aa	93,00Aa

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na mesma linha e maiúscula na coluna em relação a cada concentração de 2,4-D, não diferem estatisticamente entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste Scott-Knott.

Nogueira et al. (2007) comenta que as auxinas são capazes de iniciar a divisão celular e controlar os processos de crescimento e alongação celular, por isso indica que para a indução de calos de murici-pequeno na ausência de luz deve haver o uso de 2,4-D. No entanto, afirma e que a interação desta auxina com uma citocinina (TDZ ou BAP) não promoveu aumento na área recoberta por calo, diferente do resultados observados no presente trabalho.

Os resultados deste estudo indicaram que, isoladamente, os reguladores de crescimento testados não apresentam efeitos satisfatórios na indução de calos em *P. pyramidalis*. Entretanto, a combinação entre auxina e citocinina mostrou ser extremamente eficiente na indução de calos desta espécie, o que seria o passo inicial para o desenvolvimento de estudos mais aprofundados

de organogênese e embriogênese somática indireta possibilitando a reprodução clonal em massa da espécie estudada.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente estudo evidenciou que o uso da auxina 2,4-D associada à citocinina BAP estimulam a formação de calos nos explantes foliares desta espécie. Assim, este trabalho pode servir de base científica para que futuros estudos de organogênese e embriogênese somática indireta da catingueira, sejam desenvolvidos.

REFERÊNCIAS

- BARBOZA, T.J.S. et al. Efeito de diferentes meios nutritivos e fitorreguladores visando à otimização da calogênese de *Annona mucosa* (Jacq.). Revista Brasileira de Plantas Mediciniais. Botucatu, v. 16, n. 4, p. 905-911, Dez. 2014. Disponível em <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S151605722014000400017&lng=en&nrm=iso>. Acesso em 06 Jun 2020.
- BOTIN, A. A.; CARVALHO, A. Reguladores de crescimento na produção de mudas florestais. Revista de Ciências Agroambientais, v. 13, n. 1, p. 83-96, 2015. <http://www.unemat.br/revistas/rcaa/docs/vol13-1/10_artigo_rcaa_v13n1a2015.pdf> Acesso em 05 jun. 2020.
- FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. Ciência e Agrotecnologia, Lavras, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, 2011.
- MAIA, G. N. Caatinga: árvores e arbustos e suas utilidades. 2.ed. Printcolor Gráfica e Editora, Fortaleza, 2012. 413 p.
- MASCARENHAS, L. M. S.; SANTANA, J. R. F.; BRITO, A. L. Micropropagação de *Physalis peruviana* L. Pesquisa Agropecuária Tropical., Goiânia, v. 49, e55603, 2019. Disponível em <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S198340632019000100217&lng=en&nrm=iso>. acesso em 17 de junho de 2020.
- MATIAS, J. R.; SILVA, F.F.S; DANTAS, B.F; Catingueira-verdadeira *Poincianella pyramidalis* [Tul.] L.P.Queiroz. Comitê Técnico de Sementes Florestais (CTSF), Nota Técnica n° 6, 2017.
- MCCOWN, B.; LLOYD, G. 1981. Woody plant medium (WPM) a revised mineral formulation for micro-culture of woody plant species. HortScience. 16:453.
- NOGUEIRA, R. C. et al. 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.
- OLIVEIRA, A. L.; KIDO, E. A.; BENKO-ISEPPON, A. M.; KIDO, L. M. H. Efeito dos Fitorreguladores BAP e 2,4-D Sobre a indução de calos em *Vigna unguiculata*. Revista Brasileira de Biociências, v. 5, n. 2, p. 69-71, 2007.
- SILVA, D. et al. Indução de calos friáveis em explantes foliares e segmentos nodais de pau-ferro (*Caesalpinia ferrea*). Revista de Ciências Agrárias, Lisboa, v. 41, n. 4, p. 181-190, dez. 2018. Disponível em <http://www.scielo.mec.pt/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0871018X2018000400019&lng=pt&nrm=iso>. acesso em 20 jun. 2020.
- SILVA, M. et al. Concentrações de AIB (ácido indolbutírico) e BAP (6-benzilaminopurina) na estaquia de Jamboleiro (*Syzygium cumini* (L.) Skeels). Colloquium Agrariae, v. 14, n.4, Out-Dez. 2018, p. 20-29. DOI: 10.5747/ca.2018.v14.n4.a245.
- WERNER, E. T. et al. Meios de cultura, reguladores de crescimento e fontes de nitrogênio na regulação da calogênese do pau-brasil (*Caesalpinia echinata* Lam.). Acta Bot. Bras., Feira de Santana, v. 24, n. 4, p. 1046-1051, Dez. 2010. Disponível em <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S010233062010000400019&lng=en&nrm=iso>. Acesso em 08 Jul. 2020.