

MICROPROPAGAÇÃO VIA ORGANOGÊNESE ADVENTÍCIA A PARTIR DE MERISTEMAS AXILARES DE SOMACLONES DE *CEREUS PERUVIANUS* MILL. (CACTACEAE)

Yannis de Oliveira Perin (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Maria de Fátima Pires da Silva Machado (Orientador). E-mail: mfpsmachado@uem.br

Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Biológicas, Maringá, PR.

Área e subárea do conhecimento: Ciências Biológicas/Genética e genética vegetal

Palavras-chave: brotação; reguladores de crescimento; plântulas

RESUMO

O presente estudo investigou a micropropagação de somaclones de *Cereus peruvianus* Mill. utilizando organogênese adventícia a partir de meristemas axilares, visando a produção de mudas livres de patógenos e a conservação do germoplasma. Os segmentos longitudinais de meristemas axilares de somaclones foram inoculados em meio de cultura MS, suplementado com reguladores de crescimento nas concentrações de 0,0; 0,25; 0,50; e 1,00 mg·L⁻¹ de IBA, NAA, KIN e TDZ. Após três meses, os maiores números de brotos foram observados nos meios de cultura contendo 1,0 mg·L⁻¹ de KIN na ausência de IBA (81%), e contendo 1,0 mg·L⁻¹ de NAA e 1,0 mg·L⁻¹ de KIN (84%). As combinações IBA x TDZ gerou muitos calos, mas sem brotos ou raízes, enquanto a combinação NAA x TDZ não foi realizada, uma vez que não houve germinação de sementes para gerar as plântulas com meristemas axilares, usadas como explantes. Os resultados indicaram que a micropropagação de meristemas axilares de somaclones de *C. peruvianus* é uma alternativa viável para a produção de novas mudas, destacando a eficácia das combinações de reguladores de crescimento testadas, que podem atender às demandas comerciais e contribuir para a conservação da diversidade genética da espécie.

INTRODUÇÃO

A micropropagação via organogênese adventícia a partir de meristemas é uma técnica efetiva para a produção de mudas livres de patógenos e conservação de germoplasmas com mínima variação somaclonal (Gupta et al., 2020). Os somaclones de *C. peruvianus*, regenerados a partir de calos induzidos em hipocótilos, apresentam características distintas e maior diversidade genética (Oliveira et al., 1995; Mangolin et al., 1997) do que as plantas dessa espécie cultivadas *in vivo* a partir da germinação de sementes. A proposta no presente estudo foi induzir múltiplas brotações utilizando combinações das auxinas ácido indol-3-butílico (IBA) e ácido naftaleno acético (NAA) com as citocininas cinetina (KIN) e thidiazuron (TDZ), e identificar os reguladores de crescimento mais eficientes para a micropropagação e conservação do germoplasma dos somaclones de *C. peruvianus*.

MATERIAIS E MÉTODOS

A micropropagação de *C. peruvianus* foi realizada utilizando segmentos longitudinais de caules de plântulas de somaclones obtidas a partir de sementes germinadas em condições assépticas e contendo meristemas axilares. Esses explantes, contendo 16-17 aréolas (meristemas), foram inoculados em frascos esterilizados com a superfície cortada mantida em contato com o meio de cultura MS (Murashige e Skoog, 1962), suplementado com vitaminas B5 (Gamborg et al., 1968), 3% de sacarose, 0,7% de ágar e combinações dialélicas dos reguladores de crescimento ácido indol butírico (IBA) e ácido naftaleno acético (NAA) com as citocininas cinetina (KIN) e thidiazuron (TDZ) nas concentrações de 0,0; 0,25; 0,50; 1,00 mg·L⁻¹, e mantidos em câmara de crescimento com 32 ± 2 °C, e fotoperíodo de 16 horas.

Para os testes utilizando as combinações dos reguladores de crescimento TDZ x NAA e TDZ x IBA, os explantes também foram obtidos de plântulas formadas a partir da germinação de sementes dos somaclones. Para a germinação, as sementes foram embebidas em água destilada com duas gotas de detergente Tween por 24 horas e a esterilização foi seguida de imersão em álcool 70% por 5 minutos e imediatamente submetidas a solução de hipoclorito de sódio a 1% de cloro ativo por 10 minutos; no fluxo laminar houve a lavagem com água destilada e as sementes foram inoculadas em frascos estéreis contendo meio Knudson.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As avaliações da formação de brotos nas diferentes concentrações de IBA x KIN e NAA x KIN foram feitas após 3 meses da inoculação dos explantes contendo os meristemas axilares nos meios de cultura suplementados com as combinações dos reguladores de crescimento. Os maiores números de brotos foram observados em meio de cultura contendo 1,0 mg·L⁻¹ de KIN e ausência de IBA (81%), e com 1,0 mg·L⁻¹ de KIN e 1,0 mg·L⁻¹ de NAA (84%) (Figura 1). A Tabela 1 apresenta a quantidade de meristemas axilares inoculados (Nm) e o número de novos brotos (Nb) gerados.

Tabela 1. Formação de brotos nos meristemas axilares dos explantes de somaclones *Cereus peruvianus* Mill. inoculados em meios de cultura suplementados com diferentes concentrações das combinações de NAA e IBA com KIN.

	IBA (mg·L ⁻¹)				NAA (mg·L ⁻¹)			
KIN (mg·L ⁻¹)	0,0	0,25	0,50	1,00	0,0	0,25	0,50	1,00
0,0 (Nb/Nm)	7/32	3/32	3/32	2/32	2/32	3/32	8/32	23/32
0,25 (Nb/Nm)	5/32	7/32	14/32	7/32	2/32	18/32	7/32	20/32
0,50 (Nb/Nm)	10/32	3/32	6/32	7/32	0/32	13/32	18/32	12/32
1,00 (Nb/Nm)	26/32	18/32	19/32	22/32	4/32	10/32	25/32	27/32

NAA: ácido naftaleno acético; IBA: ácido indol butírico; KIN: cinetina

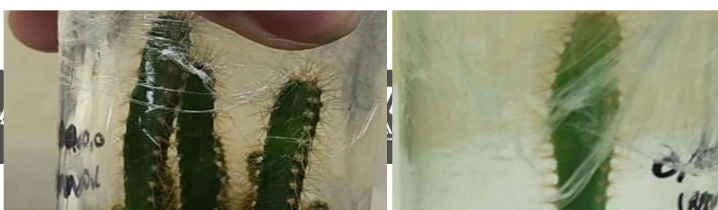


Figura 1 – Formação de brotos a partir meristemas axilares de somaclones de *Cereus peruvianus* nas combinações IBA x KIN e NAA x KIN

Na concentração de IBA x TDZ, foi observado alta geração de calos e nenhuma de brotos e raízes. Na micropropagação via meristemas (apicais ou axilares) a formação de calos é indesejável, uma vez que o objetivo é a formação de brotos com a mesma constituição genômica dos somaclones, enquanto os calos podem induzir variações somaclonais (Larkin e Scowcroft, 1981) indesejáveis quando a finalidade é a propagação clonal e a preservação dos genótipos. A indução de calos, ou calogênese na cultura de tecidos é relevante para o estabelecimento de cultura de calos.

As concentrações da combinação de NAA x TDZ não foram testadas porque não houve germinação de sementes para gerar as plântulas com meristemas axilares, usadas como explantes. Escarificações das sementes com ácido clorídrico mostrou que 10% e 15% de ácido clorídrico promoveu a germinação de 56,4% e 60%, respectivamente, das sementes dos somaclones. Os segmentos longitudinais de caules de plântulas de somaclones obtidas a partir de sementes escarificadas e germinadas em condições assépticas, contendo meristemas axilares, serão futuramente utilizados como explantes para o estudo da micropropagação via organogênese adventícia a partir dos meristemas axilares de somaclones de *C. peruvianus* em meio de cultura suplementado com combinações de NAA x TDZ.

CONCLUSÕES

A micropropagação de meristemas axilares de somaclones de *Cereus peruvianus* pode ser considerada uma alternativa viável para a produção de novas mudas. Na ausência de ácido indol butírico, a citocinina KIN foi mais efetiva para a indução de brotos nos meristemas axilares dos somaclones. Proporções iguais de NAA/KIN e IBA/KIN induzem números de brotos diferentes, e o efeito de KIN na ausência de auxinas é dependente não somente das concentrações aplicadas, mas também depende do genótipo dos explantes. A concentração de $1,0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ KIN na ausência de IBA promoveu a formação de 81% de brotos, enquanto na concentração de $1,0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ KIN na ausência de NAA produziu apenas 13% de brotos. Da mesma forma, na combinação de $1,0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ de IBA na ausência de KIN a brotação foi 6% e na combinação $1,0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ NAA na ausência de KIN a brotação foi 72%. A combinação

IBA x TDZ, é adequada para a indução de calos em explantes de plântulas de somaclones de *C. peruvianus*.

AGRADECIMENTOS

O presente estudo contou com apoio financeiro da Fundação Araucária, da CNPq e da infraestrutura proporcionada pela UEM.

REFERÊNCIAS

- GAMBORG, O.L.; MILLER, R.A.; OJIMA, K. Nutrient requirements of suspension cultures of soybean root cells. **Experimental Cellular Research**, v. 50, p. 151-158, 1968.
- GUPTA, N.; JAIN, V.; JOSEPH, M.R.; DEVI, S. A review on micropropagation culture method. **Asian Journal of Pharmaceutical Research & Development**, v. 8, p 86–93, 2020.
- ARKIN, P.J.; SCOWCROFT, W. Somaclonal variation -a novel source of variability from cell cultures for plant improvement. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 60, p. 197-214, 1981.
- MANGOLIN, C.A.; PRIOLI, A.J.; MACHADO, M.F.P.S. Isozyme variability in plants regenerated from calli of *Cereus peruvianus* (Cactaceae). **Biochemical Genetics**, v. 35, p. 189-204, 1997.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F.A. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. **Physiologia Plantarum**, v. 15, p. 473-497, 1962.
- OLIVEIRA, S.A.; MACHADO, M.D.P.D.; PRIOLI, A.J.; MANGOLIN, C.A. *In Vitro* propagation of *Cereus peruvianus* Mill (Cactaceae). **In Vitro Cellular Developmental Plant**, v. 31, 47-50, 1995.