

CULTIVO *IN VITRO* DE ÁPICES CAULINARES PROVENIENTES DE PLANTAS ADULTAS DE *Passiflora edulis*, ACESSO BGM 38

Tatiana Góes Junghans¹; Solange Rocha Monteiro de Andrade²; Karine da Silva Simões³; Celma dos Santos Caldas³; Antônio da Silva Souza¹; Carlos da Silva Ledo¹

¹Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, Caixa Postal 07, CEP 44380-000, Cruz das Almas, BA. E-mail: tatiana@cnpmf.embrapa.br, assouza@cnpmf.embrapa.br, ledo@cnpmf.embrapa.br; ²Embrapa Cerrados - solange@cpac.embrapa.br; ³Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB) - cayss7@hotmail.com; celmacruzdasalmas@hotmail.com.

Introdução

A principal espécie de maracujá explorada comercialmente é a *Passiflora edulis* Sims, que é o maracujá amarelo ou azedo. Essa espécie é cultivada em quase todo o território nacional, destacando-se como principais produtores os Estados da Bahia, Sergipe, São Paulo, Pará e Minas Gerais que, juntos, são responsáveis pela liderança brasileira na produção mundial dessa fruta (Meletti et al., 2005).

Alguns genótipos superiores têm sido utilizados para obtenção de híbridos de maracujazeiro comerciais. Contudo, é frequente a contaminação desses genótipos por víruses. O cultivo de ápices caulinares *in vitro* é uma técnica utilizada na eliminação de vírus e outros patógenos sistêmicos em espécies não arbóreas desde 1952. Essa metodologia consiste na excisão da cúpula meristemática apical com um ou dois primórdios foliares, sendo cultivado em meio nutritivo adequado para diferenciação e desenvolvimento dos sistemas caulinar e radicular (Junghans & Santos-Serejo, 2006).

A utilização eficaz do cultivo de ápices caulinares *in vitro* em maracujazeiro, no entanto, ainda demanda estudos, uma vez que, alguns trabalhos têm relatado a dificuldade de regeneração de plantas de espécies do gênero *Passiflora* a partir de tecidos adultos (Biricolti & Chiari, 1994; Becerra et al., 2004).

Desta forma, o objetivo desse trabalho foi desenvolver metodologia de regeneração de plantas *in vitro* a partir de ápices caulinares provenientes de maracujazeiros adultos, visando, posteriormente, a limpeza clonal de genótipos superiores.

Material e Métodos

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Cultura de Tecidos da Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, localizado em Cruz das Almas, Bahia. No primeiro experimento, foram utilizados como explantes gemas apicais de 1 cm provenientes de plantas de um ano de idade de *Passiflora edulis* (acesso BGM 38) mantidas em telado coberto e no campo, e de um ano e oito meses de idade mantidas em telado coberto, para o segundo experimento.

Os ápices caulinares foram inoculados em meio MS (Murashige & Skoog, 1962), acrescido de 3% de sacarose e com três concentrações de 6-benzilaminopurina (BAP): 0; 1 mg/L; e 2 mg/L. O meio foi solidificado com Phytigel® a 0,2% e 10 ml do meio foi distribuído em tubos de ensaio de 150 mm x 25 mm.

A desinfestação foi realizada com etanol 70% por 60 segundos, solução comercial de hipoclorito de sódio a 25% (0,5% de cloro ativo) com três gotas de Tween 20® por 20 minutos e em seguida foram lavadas com água autoclavada por três vezes. Os meios tiveram pH ajustado para 5,8 e foram autoclavados a 121°C (1,05 Kg/cm²) por 20 minutos. As culturas foram mantidas em sala de crescimento a 27°C, densidade de fluxo de fótons de 30 $\mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$ e fotoperíodo de 16 horas.

No primeiro experimento, os explantes permaneceram por 2 meses nos meios de estabelecimento. Após esse período foram transferidos para o meio ½MS acrescido de 1 mg/L de AIB onde foram mantidos por 22 dias de cultivo.

No segundo experimento, os explantes permaneceram por 26 dias nos meios de estabelecimento. Após esse período foram transferidos para o meio ½MS acrescido de 1 mg/L de AIB onde foram mantidos por 21 dias de cultivo, e, posteriormente, para o meio ½MS, por 14 dias.

Após cada fase de cultivo, os explantes foram avaliados segundo as seguintes variáveis: contaminação (bactéria, fungo), morte do explante e porcentagem de plantas regeneradas.

Resultados e Discussão

No primeiro experimento, os explantes provenientes de plantas de *P. edulis* estabelecidas no campo apresentaram maior porcentagem de contaminação do que os do telado, com 65% dos explantes contaminados por fungo e 25% por bactéria, totalizando 90% de perdas dos explantes. Para os explantes provenientes de plantas mantidas em telado a contaminação por fungo foi de 22% e por bactéria foi de 7%,

totalizando 29% de perdas. Assim, há a necessidade de aprimorar o protocolo de desinfestação utilizado para as plantas provenientes do campo, pois provavelmente apresentam maiores níveis de inóculo do que plantas mantidas em locais protegidos.

No primeiro experimento, a morte dos explantes, após 30 dias de cultivo, só foi observada para os explantes mantidos em meio MS contendo 2 mg/L de BAP. Contudo, no segundo mês de cultivo, a morte dos explantes foi observada em todos os meios de estabelecimento, e continuou após a transferência dos explantes para o meio $\frac{1}{2}$ MS + 1 mg/L de AIB, com apenas uma planta regenerada (7%) proveniente do meio MS + 1 mg/L de BAP. Essa resposta indicou que a permanência dos explantes acima de 30 dias no meio de estabelecimento é inadequada.

No segundo experimento, estabelecido com explantes provenientes de plantas de 1 ano e 8 meses mantidas em telado, ocorreu somente 13% de contaminação (9% por fungos e 4% por bactérias) na fase de estabelecimento e 13% (4% por fungos e 9% por bactérias) na fase de enraizamento.

A morte de explantes foi observada apenas para os mantidos em meio sem reguladores de crescimento (20%). A porcentagem de explantes enraizados para os cultivados anteriormente nos meios de estabelecimento acrescidos de 1 ou 2 mg/L de BAP ao final do período de 21 dias no meio $\frac{1}{2}$ MS + 1 mg/L de AIB, foi de 14% e 20%, e aos 14 dias de cultivo após a transferência para o meio $\frac{1}{2}$ MS, foi de 36% e 20%, respectivamente (Figura 1). Desta forma, definiu-se a inoculação dos ápices em meio MS suplementado com 1 mg/L de BAP por 26 dias para o estabelecimento, seguido de 21 dias em meio $\frac{1}{2}$ MS acrescido de 1 mg/L de AIB, e de 14 dias em meio $\frac{1}{2}$ MS sem suplementos para o enraizamento como a metodologia para cultivo *in vitro* de ápices caulinares provenientes de plantas adultas de *P. edulis*.



Figura 1- Aspecto dos explantes de *P. edulis* aos 14 dias de cultivo no meio $\frac{1}{2}$ MS, após 21 dias de cultivo em meio $\frac{1}{2}$ MS + 1 mg/L de AIB. Os explantes foram anteriormente cultivados por 26 dias nos meios MS (A); MS + 1 mg/L de BAP (B); MS + 2 mg/L de BAP (C). Os números indicam a % de plantas regeneradas.

Conclusões

- A desinfestação com 0,5% de hipoclorito de sódio por 20 minutos é adequada somente para os explantes provenientes de telado.
- Para o enraizamento dos brotos há a necessidade de adição de AIB ao meio.
- A metodologia na qual os explantes são mantidos em meio MS acrescido de 1 mg/L de BAP por 26 dias, seguido de transferência para o meio ½MS acrescido de 1 mg/L de AIB, por 21 dias de cultivo, e, posteriormente, para o meio ½MS, por 14 dias, é mais apropriada para regenerar plantas a partir de ápices caulinares de maracujazeiros adultos de *P. edulis*, acesso BGM 38.

Referências

BECERRA, D.C.; FORERO, A.P.; GONGORA, G.A. Age and physiological condition of donor plants affect *in vitro* morphogenesis in leaf explants of *Passiflora edulis* f. *flavicarpa*. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v.79, p.87-90, 2004.

BIRICOLTI, S.; CHIARI, A. Meristem culture and micrografting of *Passiflora edulis* var. *edulis*. **Advances in Horticultural Science**, v.8, p.171-175, 1994.

JUNGHANS, T.G.; SANTOS-SEREJO, J.A. dos. Obtenção e Manuseio de Explantes. In: SOUZA, A. da S.; JUNGHANS, T.G. (Ed.). **Introdução à Micropropagação de Plantas**. 1. ed. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, 2006. p.98-114.

MELETTI, L.M.M.; SOARES-SCOTT, M.D.; BERNACCI, L.C.; PASSOS, I.R.S. Melhoramento genético do maracujá: passado e futuro. In: FALEIRO, F.G.; JUNQUEIRA, N.T.V.; BRAGA, M.F. **Maracujá: germoplasma e melhoramento genético**. Embrapa Cerrados, Planaltina, 2005. p.55-78.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, v.15, p.473-497, 1962.