



## EFEITO DE 2,4-D E GLUTAMINA NA EMBRIOGÊNESE SOMÁTICA E REGENERAÇÃO DE PLANTAS DE CAROÁ

**Resumo:** Caroá é uma bromeliaceae endêmica da Caatinga que tem relevada importância econômica e social no Semiárido Brasileiro, porém essa espécie está em condição de ameaçada em algumas regiões nordestinas devido à coleta extrativista. A embriogênese somática é altamente eficiente como processo de regeneração e micropropagação. Assim, este trabalho visou estudar a resposta das combinações de 2,4-D e glutamina na indução de calos embriogênicos e regeneração de plantas de *N. variegata*. Segmentos do caule foram cultivados em meio MS contendo combinações de 2,4-D (0, 9, 18, 27  $\mu\text{M}$ ) e glutamina (0, 50, 100, 150, 200  $\text{mg L}^{-1}$ ) para indução de calos embriogênicos. A melhor resposta para a frequência de calos embriogênicos com maior distribuição dos embriões somáticos na sua superfície e melhor taxa de conversão foi obtida nos explantes de caule em meio contendo 18  $\mu\text{M}$  de 2,4-D e 100  $\text{mg L}^{-1}$  de glutamina. Os calos embriogênicos obtidos foram transferidos para meio MS suplementado com 30  $\text{g L}^{-1}$  de sacarose, 2,4  $\text{g L}^{-1}$  de Phytigel<sup>®</sup>, 0,53  $\mu\text{M}$  de ANA e 0,88  $\mu\text{M}$  de BAP. As plantas regeneradas apresentaram desenvolvimento normal, porém muitos embriões não completaram o seu desenvolvimento.

**Palavras-chaves:** bromeliaceae, cultura de tecidos, *Neoglaziovia variegata* (Arruda) Mez

### Introdução

*Neoglaziovia variegata* (Arruda) Mez, conhecida vulgarmente como caroá, é uma Bromeliaceae endêmica da Caatinga que tem relevada importância econômica e social no Semiárido Brasileiro. Suas fibras são utilizadas na indústria têxtil e artesanato artístico, constituindo a principal fonte de emprego e renda para muitas famílias no Nordeste (SILVEIRA et al., 2009). Além disso, essa bromeliácea pode ser usada na formulação de compostos poliméricos para o desenvolvimento de muitos produtos industriais (LEÃO et al., 2009). Entretanto, a espécie vem sendo usada sem nenhum sistema de cultivo estabelecido, com a coleta realizada em larga escala e de forma extrativista.

A embriogênese somática é altamente eficiente como processo de regeneração e micropropagação por resultar em altas taxas de multiplicação e em embriões individualizados, que se desenvolvem em plantas inteiras (IBARAKI & MURATA, 2001). Fatores como tipo de explante e composição do meio nutritivo, podem ser determinantes para o êxito do processo embriogênico. Assim, o objetivo desse trabalho foi estudar a resposta de diferentes explantes e combinações de



concentrações de 2,4-D e glutamina na indução de calos embriogênicos e regeneração de plantas de *N. variegata*.

### Material e Métodos

O trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais da *Embrapa Mandioca e Fruticultura*, em Cruz das Almas, BA. Cortes transversais de caule de plantas de caroá cultivados *in vitro* foram isolados sob condições assépticas e transferidos para placas de Petri contendo meio de cultura MS (MURASHIGE & SKOOG, 1962), 30 g L<sup>-1</sup> de sacarose, 7 g L<sup>-1</sup> de ágar, suplementado com 5,7 µM de AIA, 5,3 µM de ANA e com diferentes combinações de 2,4-D (0, 9, 18 e 27 µM) e glutamina (0, 50, 100, 150 e 200 mg L<sup>-1</sup>), e pH ajustado em 5,8. As culturas foram mantidas em sala escura sob temperatura de 27 ± 1°C.

O delineamento foi o inteiramente casualizado, em esquema fatorial 4 (concentrações de 2,4-D) x 5 (concentrações de glutamina), com 10 repetições por tratamento, onde cada repetição foi constituída de uma placa contendo 5 segmentos do caule.

Após 60 dias de cultivo avaliou-se a frequência (%) de explantes que apresentaram desenvolvimento de embriões somáticos com base na área ocupada seguindo a seguinte escala: 1- calos que apresentavam embriões em ¼ da sua superfície; 2- calos que apresentavam embriões em ½ da sua superfície e 3- calos que apresentavam embriões em toda sua superfície.

Fragmentos de calos contendo os embriões formados foram transferidos para meio MS suplementado com 30 g L<sup>-1</sup> de sacarose, 2,4 g L<sup>-1</sup> de Phytigel<sup>®</sup>, 0,53 µM de ANA e 0,88 µM de BAP e cultivados sob fotoperíodo de 16 horas, com densidade de fluxo de fótons de 22 µE.m<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup> e temperatura controlada (27 ± 1 °C), durante 40 dias para maturação dos embriões.

### Resultados e Discussão

A frequência de segmentos de caule de caroá com calos embriogênicos foi influenciada pela presença de 2,4-D e glutamina no meio de cultura, porém não houve interação significativa entre eles (Tabela 1). A concentração de 18 µM de 2,4-D foi a que apresentou o melhor resultado com a taxa de 52,8% dos explantes com crescimento de calos embriogênicos, tendo-se observado um efeito inibitório utilizando a concentração de 27 µM. Já a adição de 100 mg L<sup>-1</sup> de glutamina ao meio de cultivo não promoveu resultados melhores que o tratamento controle, enquanto as doses mais elevadas (150 e 200 mg L<sup>-1</sup>) exerceram um efeito negativo na formação de calos embriogênicos (Tabela 1).



Tabela 1 Frequência (%) de calos embriogênicos formados a partir de explantes do rizoma de caroá após 60 dias de cultivo em meio de cultura contendo diferentes concentrações de 2,4-D e glutamina.

Concentrações de 2,4-D ( $\mu\text{M}$ )	Frequência (%)
0	0,00c*
9	28,94b
18	52,80a
27	35,35b
Concentrações de glutamina ( $\text{mg L}^{-1}$ )	Frequência (%)
0	36,21ab
50	22,29bc
100	44,64a
150	24,04bc
200	19,18c
CV (%)	57,25

\*Médias seguidas de mesma letra não diferem significativamente entre si, pelo teste de Tukey a 5% probabilidade.

Quanto à distribuição dos embriões sobre a superfície do explante de caule de caroá, observou-se que o tratamento contendo a combinação de 18  $\mu\text{M}$  de 2,4-D e 100  $\text{mg L}^{-1}$  de glutamina promoveu maior frequência de calos com embriões distribuídos sobre toda a superfície (Tabela 2). Nos demais tratamentos os embriões se desenvolveram em  $\frac{1}{4}$  da área do calo.

Tabela 2 Número de calos embriogênicos originados dos explantes de caule de caroá relacionando a distribuição (posição) dos embriões somáticos nos calos após 60 dias de cultivo em meio de cultura contendo 2,4-D e glutamina.

Glutamina ( $\text{mg L}^{-1}$ )	Embriões em $\frac{1}{4}$ do calo				Embriões em $\frac{1}{2}$ do calo				Embriões em todo calo			
	2,4-D ( $\mu\text{M}$ )											
	0	9	18	27	0	9	18	27	0	9	18	27
0	0	11	11	14	0	0	11	4	0	0	1	1
50	0	4	10	5	0	7	2	2	0	1	0	0
100	0	15	13	10	0	3	15	10	0	2	9	0
150	0	3	15	8	0	1	6	8	0	1	0	0
200	0	6	11	9	0	0	6	2	0	0	0	0

Durante 40 dias de cultivo, observou-se que nem todos os embriões se converteram em plantas, com desenvolvimento dos meristemas radicular e apical, sendo que os embriões originados do meio contendo 18  $\mu\text{M}$  de 2,4-D e 100  $\text{mg L}^{-1}$  de glutamina apresentaram o maior número de regeneração em plantas (Tabela 3), provavelmente pelo maior número de embriões em estágios mais avançados de desenvolvimento.

Tabela 3 Número de plantas regeneradas a partir de embriões somáticos originados dos rizomas de caroá que foram induzidos em meios sob diferentes concentrações de 2,4-D e glutamina.

Glutamina ( $\text{mg L}^{-1}$ )	2,4-D ( $\mu\text{M}$ )			
	0	9	18	27
0	0	6	26	15
50	0	7	10	9
100	0	8	42	20
150	0	4	24	12



---

200

0

4

23

11

---

### Conclusões

A presença de 2,4D foi determinante para a indução embriogênica.

O uso de 100 mg L<sup>-1</sup> de glutamina foi essencial na promoção da conversão de embriões em plantas.

### Referências Bibliográficas

IBARAKI, Y. & MURATA, K. Automation of somatic embryo production. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 65, n. 3, p. 179-199, 2001.

LEÃO, A. L.; MACHADO, I. S.; SOUZA, S. F.; SORIANO, L. Production of curaua fibers for industrial applications: characterization and micropropagation. **Acta Horticulturae (ISHS)**, v. 822, p. 227-238, 2009.

MURASHIGE, T. & SKOOG, F. M. A revised medium for rapid growth and biossays with tobacco tissue cultures. **Physiology Plantarum**, v. 15, n. 3, p. 473-479, 1962.

SILVEIRA, D. G.; AMORIM, E. P.; JESUS, O. N. de; SOUZA, F. V. D.; PESTANA, K. N.; SANTOS, V. J dos; SANTANA, J. R. F. Variabilidade genética de populações naturais de caroá por meio de marcadores RAPD. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 44, p. 283-290, 2009.