

# Regeneração de plantas a partir de calos em gladiolo<sup>1</sup>

FERNANDA CRISTIANE SIMÕES<sup>2</sup>, PATRÍCIA DUARTE DE OLIVEIRA PAIVA<sup>3</sup>, MOACIR PASQUAL<sup>4</sup>,  
GUILHERME JOSÉ OLIVEIRA NÉRI<sup>5</sup> e RENATO PAIVA<sup>6</sup>

## RESUMO

Para a proliferação *in vitro* de calos de gladiolo (*Gladiolus x grandiflorus* L.), utilizaram-se gemas como explantes adicionadas em meio MS com 0,5 mg/L de 6-benzilaminopurina (BAP) e 1,0 mg/L de ácido naftalenoacético (ANA). Para a regeneração dos calos, testaram-se as concentrações de BAP (0; 0,5; 1,0; 2,0 e 4,0 mg/L) em combinação com ANA (0; 0,1 e 1,0 mg/L), em todas as combinações possíveis formando um esquema fatorial 5 x 3. A regeneração dos calos formados foi melhor na concentração 0,1 mg/L de ANA e na ausência de BAP, produzindo, em média, 2,07 brotos com tamanho médio de 2,27 cm. O objetivo do trabalho foi encontrar uma concentração ideal de reguladores de crescimento para a regeneração de plantas a partir de calos de gladiolo.

**Palavras-chave:** gladiolo, regeneração de calos, reguladores de crescimento.

## ABSTRACT

### Regeneration of Gladiolus callus

For *in vitro* proliferation of gladiolus (*Gladiolus x grandiflorus* L.) callus, buds as explants added into MS medium with 0.5 mg/L of BAP and 1.0 mg/L of ANA were utilized. For regeneration callus the concentrations of BAP (0, 0.5, 1.0, 2.0 and 4.0 mg/L) in combination with ANA (0, 0.1 and 1.0 mg/L) in all the possible combinations making up a 5 x 3 factorial scheme were tested. Regeneration of the callus formed was better at the concentration 0.1 mg/L of ANA and absence of BAP, yielding on average 2.07 shoot with the average size of 2.27 cm. The objective of word was find a ideal concentration of

growth regulators for regeneration of plants from callus of gladiolus.

**Key words:** gladiolus, callus regeneration, growth regulators.

## 1. INTRODUÇÃO

O gladiolo, também conhecido como palma ou palma-de-santa-rita, é uma das flores de corte mais comuns no mercado. Pertencente ao grupo das plantas herbáceas bulbosas, originário da África do Sul, é propagado vegetativamente mediante bulbos ou bulbilhos, os quais são produzidos anualmente a partir de gemas axilares do bulbo plantado (REES, 1992).

Embora a pesquisa com gladiolo tenha sido iniciada há duas décadas e muito progresso tenha sido alcançado, a regeneração de plantas a partir de cultura de calos, e o aumento do número de plantas produzidas são ainda problemas que impedem a aplicação de métodos de cultura de tecidos para a propagação em massa e a exploração pela indústria de flores. Estudos básicos sobre os fatores que influenciam a regeneração são necessários para que o método seja desenvolvido de forma a propiciar material suficiente para plantio de campo e propagação em larga escala (BAJAJ et al., 1992).

SIMONSEN & HILDEBRANDT (1971) descreveram o processo de produção de plântulas de gladiolo através de culturas de calos derivados de extremidades de haste de bulbo. Gemas apicais dos bulbilhos isoladas em meio MS foram a melhor fonte para formação de calos comparando com tecidos de outras partes dos bulbilhos ou de raízes e caules. Ao contrário, BAJAJ, et al., (1982) estudando o efeito de vários fatores na propagação *in vitro* de gladiolos, verificaram que de

<sup>1</sup> Parte da dissertação de mestrado do primeiro autor apresentado à UFLA.

<sup>2</sup> Engenheira Agrônoma, M.S. Departamento de Agricultura – UFLA – Caixa Postal 37, 37200-000 Lavras (MG).

<sup>3</sup> Professora, Departamento de Agricultura – UFLA.

<sup>4</sup> Professor, Departamento de Agricultura – UFLA.

<sup>5</sup> Engenheiro Agrônomo, Departamento de Agricultura – UFLA – Caixa Postal 37, 37200-000 Lavras (MG).

<sup>6</sup> Professor, Departamento de Biologia – UFLA.

todos os explantes (inflorescências, haste de caule, flor desnudada, brácteas e segmentos foliares) e meios testados, a melhor formação de calos foi obtida a partir da haste floral, utilizando ANA. Os reguladores de crescimento desempenharam um papel importante na morfogênese e na formação de bulbos. As extremidades de caules de bulbilhos de diferentes cultivares variaram em sua capacidade de formar calos. Meios líquidos proporcionaram resultados inferiores aos meios de ágar para produção de calos. WILFRET (1971), HUSSEY (1977) e BAJAJ et al., (1982) conseguiram eficiente regeneração das plantas de gladiolos através de cultura de calos. O calo estabelecido por BAJAJ et al., (1992), a partir de vários segmentos, regenerou novas plantas.

Das citocininas comercialmente disponíveis, a 6-benzilaminopurina (BAP) é a que, geralmente, proporciona melhores resultados (GRATTAPAGLIA & MACHADO, 1998). É uma citocinina sintética muito utilizada pela sua efetividade e baixo custo em relação às outras (KRIKORIAN, 1991) e induz a formação de grande número de brotos e alta taxa de multiplicação em muitos sistemas de micropropagação (HU & WANG, 1983).

As auxinas têm proporcionado respostas diferentes *in vitro* (CALDAS et al., 1998) podendo ser necessárias para complementar o teor endógeno ou suprir as necessidades de meristemas isolados (SMITH & MURASHIGE, 1970). A concentração mais baixa de ácido naftalenoacético (ANA), 0,5 mg/L, em combinação com cinetina, não induziu calos em nenhum dos explantes cultivados de gladiolo, sendo necessária alta concentração (10 ml/L) para a formação de calos e diferenciação de raízes.

O presente trabalho teve como objetivo encontrar um concentração ideal de reguladores de crescimento para a regeneração de calos de gladiolo.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram desenvolvidos no Laboratório de Cultura de Tecidos do Departamento de Agricultura da Universidade Federal de Lavras (UFLA).

Os calos produzidos *in vitro* através do cultivo de gemas em meio MS, suplementado com 0,5 mg/L de BAP e 1,0 mg/L de ANA, foram submetidos a experimentos visando identificar o melhor meio para sua regeneração. O meio de cultura básico utilizado foi o MS acrescido de 30 g/L de sacarose e 7 g/L de ágar, tendo o pH ajustado para 5,8 antes da autoclavagem a 121°C, sob pressão de 1 atm. por 20 minutos. Os trata-

mentos testados foram BAP nas concentrações: 0; 0,5; 1,0; 2,0 e 4,0 mg/L em combinação com ANA: 0; 0,1 e 1,0 mg/L, em todas as combinações possíveis, formando um esquema fatorial 5 x 3. Após inoculado, o material foi mantido em sala de crescimento com fotoperíodo de 16 horas de luz e temperatura de  $26 \pm 1^\circ\text{C}$ . Os experimentos foram instalados em delineamento inteiramente casualizado com 12 repetições e 1 tubo por parcela. Os dados para análise de regressão sofreram transformação através da equação  $\sqrt{x+1}$ . As avaliações foram realizadas 60 dias após a instalação dos experimentos, observando-se número e comprimento de brotos.

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Estão representados na Figura 1 os resultados correspondentes ao número de brotos formados em função do emprego de BAP e ANA no meio de cultura. Quando se utilizou 1 mg/L de ANA (C), não foi possível obter uma equação que se ajustasse às variações observadas em função dos tratamentos. Na ausência de ANA (A), o maior número de brotos foi obtido na concentração de 0,71 mg/L de BAP, com, em média, 1,95 broto. Com a concentração de 0,1 mg/L de ANA (B), o maior número de brotos foi obtido na ausência de BAP, sendo formados, em média, 2,07 brotos. Assim, pode-se afirmar que, para a regeneração de calos de gladiolo, baixas concentrações de reguladores de crescimento são eficientes, pois, em altas concentrações, ocorreu apenas o aumento do tamanho dos calos, sem haver regeneração de brotos.

JAIN et al. (2001) observaram que a regeneração de calos em cravos foi obtida quando se utilizou meio de cultura contendo 2,4-D e BAP ou, ainda, quando se empregou meio de cultura sem a adição de nenhum regulador de crescimento. Esses autores estão de acordo com os resultados obtidos neste trabalho, onde o uso de ANA e a ausência de BAP promoveram a regeneração de calos de gladiolo.

A Figura 2 mostra o efeito da interação de BAP e ANA sobre o comprimento de brotos formados. No meio de cultura com a concentração de 1 mg/L de ANA (C), também não foi possível ajustar uma equação para as variações observadas nos tratamentos. Para o comprimento dos brotos, os resultados foram semelhantes àqueles obtidos para o número médio de brotos, ou seja, na ausência de ANA, a concentração de BAP que proporcionou maior comprimento foi 0,62 mg/L com média de 2,21 cm. Quando foi empregado 0,1 mg/L de ANA, obteve-se maior comprimento na ausência de BAP no meio de cultura, com 2,27 cm em média.

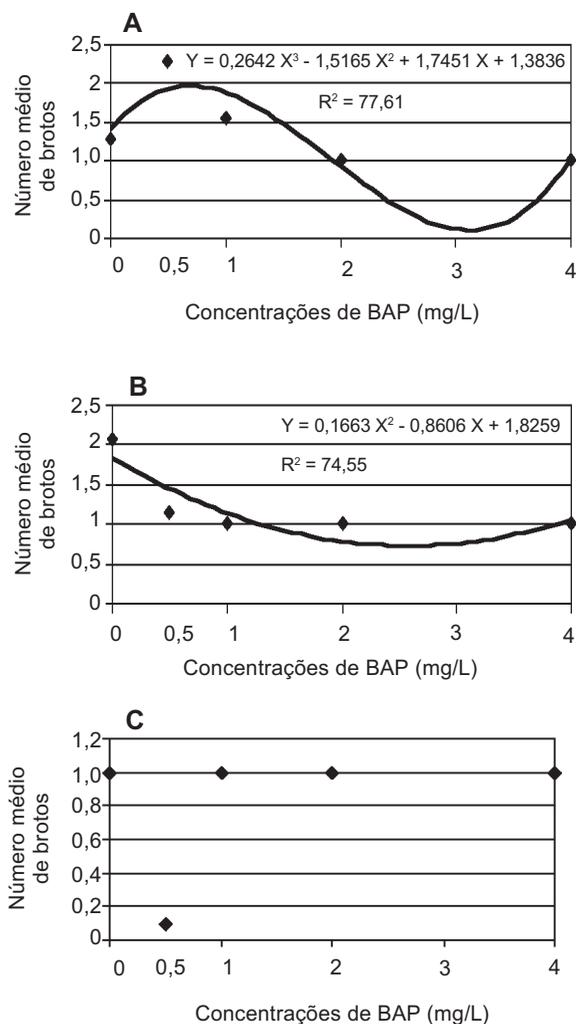


Figura 1. Efeito de concentrações de BAP sobre o número médio de brotos regenerados de calos de gladiólo cultivados na ausência de ANA (A), 0,1 mg/L de ANA (B) e 1 mg/L de ANA (C). UFLA, Lavras (MG), 1999. \*Valores transformados por  $\sqrt{x+1}$ .

#### 4. CONCLUSÃO

Para a regeneração de calos, o meio de cultura MS acrescido de 0,1 mg/L de ANA e na ausência de BAP promoveu a melhor formação de brotos.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BAJAJ, Y.P.S.; SIDHU, M.M.S. & GILL, A.P.S. Micropropagation of *gladiolus*. In: BAJAJ, Y.P.S.; SIDHU, M.M.S. & GILL, A.P.S. **High-Tech and Micropropagation IV**. Berlin: Springer-Verlag, 1992. v.20, cap.10, p.135-143.

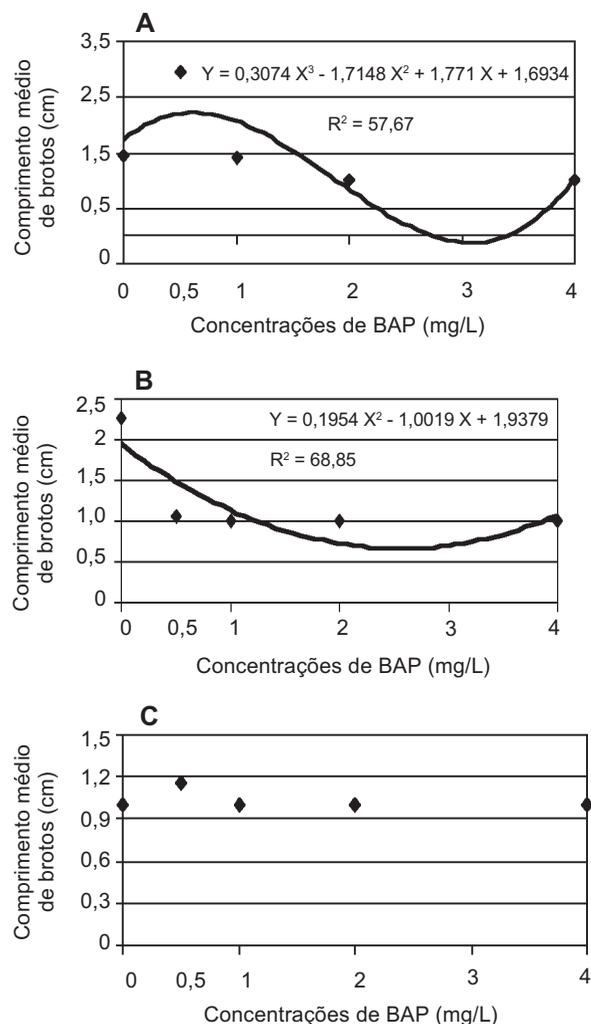


Figura 2. Efeito de concentrações de BAP sobre o comprimento médio de brotos regenerados de calos de gladiólo cultivados na ausência de ANA (A), 0,1 mg/L de ANA (B) e 1 mg/L de ANA (C). UFLA, Lavras (MG), 1999. \*Valores transformados por  $\sqrt{x+1}$ .

BAJAJ, Y.P.S.; SIDHU, M.M.S. & GILL, A.P.S. Some factors affecting the *in vitro* propagation of *gladiolus*. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v.18, p.269-275, 1982.

CALDAS, L.S.; HARIDASAN, P. & FERREIRA, M.E. **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**, v.1, p.103, 1998.

GRATTAPAGLIA, P. & MACHADO, M.A. Micropropagação. In: TORRES, A.C.; CALDAS, L.S. & BUSO, J.A. **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: Embrapa-SPI/ Embrapa-CNPq, 1998. p.183-260.

- HUSSEY, G. *In vitro* propagation of gladiolus by precocious axillary shoot formation. **Scientia Horticulturae**. Amsterdam, v.6, p.287-296, 1977.
- HU, C.Y. & WANG, P.J. Meristem, shoot tip, and bud-cultures. In: EVANS, D.A.; SHARP, W.R.; AMMIRATO, P.V. & YAMADA, Y. (Eds.) **Handbook of plant cell culture**, 1983. v.1, p.177-227.
- JAIN, A.; KANTIA, A. & KOTHARI, S.L. *In vitro* differentiation of shoot buds from leaf-callus of *Dianthus caryophyllus* L. and control of hiperhydricity. **Scientia Horticulturae**, v.87, n.4, p.319-326, 2001.
- KRIKORIAN, A.D. Medios de cultivo: generalidades, composición y preparación. In: ROCA, W.H. & MROGINSKI, L.A. (Eds.) **Cultivo de tejidos en la agricultura** - Fundamentos y aplicaciones. Cali: CIAT, 1991. p.41-78.
- REES, A.P. **Ornamental bulbs, corms and tubers**. Wallingford: CAB International, 1992. 220p.
- SIMONSEN, J. & HILDEBRANDT, A.C. *In vitro* growth and differentiation of *Gladiolus* plants from tissue culture. **Canadian Journal of Botany**, v.49, p.1817-1819, 1971.
- SMITH, R.H. & MURASHIGE, T. *In vitro* development of the isolated shoot apical meristem of angiosperms. **American Journal Botany**, v.57, p.562-568, 1970.
- WILFRET, G.J. Shoot tip culture of gladiolus: an evaluation of nutrient media for callus tissue development. **Proceedings of the Florida State Horticultural Society**. Orlando, v.84, p.389-393, 1971.