

## **INDUÇÃO DE CALOS EM TRÊS VARIEDADES DE BATATA-DOCE**

*Rômulo Magno Oliveira de Freitas*

Aluno de Agronomia do Departamento de Ciências Vegetais, Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Mossoró-RN, Brazil; E-mail: romulomagno\_23@hotmail.com

*Mychelle Karla Teixeira de Oliveira*

M. Sc. do Departamento de Ciências Vegetais da Universidade Federal Rural do Semi Árido. BR 110, Km 47, Bairro Presidente Costa e Silva, - Mossoro, RN – Brasil E- mail: mkto10@bol.com.br

*Francisco Bezerra Neto*

Prof. D. Sc. do Departamento de Ciências Vegetais da Universidade Federal Rural do Semi Árido. BR 110, Km 47, Bairro Presidente Costa e Silva, - Mossoro, RN – Brasil E-mail: Jeferson@ufersa.edu.br

*Francisco Augusto Alves Câmara*

D. Sc. do Departamento de Ciências Vegetais da Universidade Federal Rural do Semi Árido. BR 110, Km 47, Bairro Presidente Costa e Silva, Biofábrica Presidente Costa e Silva 59628-680 - Mossoro, RN – Brasil  
E-mail: augustocamara@ufersa.edu.br

*Jeferson Luiz Dallabona Dombroski*

Prof. D. Sc. do Departamento de Ciências Vegetais da Universidade Federal Rural do Semi Árido. BR 110, Km 47, Bairro Presidente Costa e Silva, Biofábrica - Mossoro, RN – Brasil E-mail: Jeferson@ufersa.edu.br

**RESUMO** – O presente trabalho teve como objetivo estabelecer e avaliar indução de calos em três variedades de batata-doce (*Ipomoea batatas* (Lam.)) *in vitro*. Foram testadas três variedades (Esam 3, Branca Rio de Janeiro e Califórnia), as quais foram instaladas em meio MS acrescido de 30 g.L<sup>-1</sup> de sacarose, 10 µMol L<sup>-1</sup> de 2,4-D e 0.05 µMol L<sup>-1</sup> de BAP. O delineamento utilizado foi do tipo inteiramente casualizado, sendo cada explante considerado como uma repetição. As características avaliadas foram, formação dos calos (0-não houve a formação de calos; 1- houve formação de calos) e ao tamanho em 1 (0-0.5 cm), 2 (0.6-1,0 cm), 3 (1.1-2.0 cm), 4 (maior que 2.0 cm). Observou-se que houve diferença na formação de calos entre as variedades testadas. Na variedade Branca Rio de Janeiro foram observados maior formação e maiores tamanhos de calos, enquanto que na variedade Califórnia houve pouca formação de calos.

**Palavras-Chaves:** *Ipomoea batatas* (Lam.), Califórnia, Branca Rio de Janeiro, Esam 3.

## **INDUCION DE CALLOS EN TRES VARIEDADES DE PATATA-DULCE**

**RESUMO** – El presente trabajo tuvo como objetivo establecer y evaluar La inducion de callos en tres variedades de patata-dulce (*Ipomoea patatas* (Lam.)) *in vitro*. Fueron probadas tres variedades (Esam 3, Blanca Río de Janeiro y California), las cuales fueron instaladas en medio MS acrescido de 30 g.L<sup>-1</sup> de sacarose, 10 µMol L<sup>-1</sup> de 2,4-D y 0.05 µMol L<sup>-1</sup> de BAP. El delineamento utilizado fue del tipo enteramente casualizado, siendo cada explante considerado como una repetición. Las características evaluadas fueron, formación de los calos (0-no hube la formación de calos; 1- hube formación de calos) y al tamaño en 1 (0-0.5 cm), 2 (0.6-1,0 cm), 3 (1.1-2.0 cm), 4 (mayor que 2.0 cm). Se observó que hube diferencia en la formación de calos entre las variedades probadas. En la variedad Blanca Río de Janeiro fueron observados mayor formación y mayores tamaños de calos, mientras que en la variedad California hube poca formación de calos.

**Palabras-Llaves:** *Ipomoea patatas* (Lam.), California, Blanca Río de Janeiro, Esam 3.

## **CALLUS INDUCTION IN THREE SWEET POTATO VARIETIES**

**ABSTRACT** – The present work had the objective of establishing and evaluating the induction of calluses in three sweet potato varieties (*Ipomoea batatas* (Lam.)) *in vitro*. Three varieties were studied (Esam 3, branca do Rio de Janeiro and California), which were installed in MS medium added with sucrose (30 g.L<sup>-1</sup>), 2,4-D (10 µMol L<sup>-1</sup>) and BAP (0.05 µMol L<sup>-1</sup>). It was applied a randomized experimental design applied, in which each explants was considered

as a repetition. The characteristics evaluated were the formation of calluses (0-no calluses formation); 1 - calluses formation, with size 1 (0-0.5 cm), 2 (0.6-1.0 cm), 3 (1.1-2.0 cm) or 4 (larger than 2.0 cm). It was observed that there were differences among the varieties tested. In the branca Rio de Janeiro variety was observed the formation of more and bigger calluses, while for the California variety there was little calluses formation.

**Keywords:** *Ipomoea batatas* (Lam.), California, Branca Rio de Janeiro, Esam 3.

## INTRODUÇÃO

O cultivo de hortaliças em pequena escala é geralmente uma atividade múltipla de produção agrícola, exercida com pouco uso de tecnologia e sem orientação profissional, obtendo-se baixos índices de produtividade e a baixa qualidade dos produtos (SILVA, 2002). A batata-doce (*Ipomoea batatas* (Lam.)) é uma cultura muito popular e apreciada em todo o país. É uma das principais hortaliças consumidas pela população nordestina. É considerada boa fonte de energia, sais minerais e vitaminas A, B e C. Aliada a estes fatores tem-se ainda a rusticidade, o fácil cultivo e o baixo custo de produção que a torna desta forma importante cultura, principalmente para a população de baixa renda. Sendo a quantidade produzida de 533,165 toneladas em 2003 (IBGE, 2005).

É uma planta tradicionalmente de propagação vegetativa, através de pedaços de ramos ou hastes, podendo ocorrer uma degenerescência, geralmente devido ao acúmulo de doenças, principalmente viroses, no material de propagação.

A cultura de tecidos pode ser definida como o cultivo de todos os tipos de células, tecidos e órgãos da planta, sob condições assépticas (SMITH & DREW, 1990). Em um sentido mais restrito, como um processo mediante o qual pequeno fragmento de tecido vivo é isolado de um organismo e cultivado asépticamente, por períodos indefinidos, em um meio nutritivo (MANTELL et al., 1994). O processo está baseado na totipotencialidade dos explantes, ou seja, no princípio de que cada célula vegetal possui o potencial genético para reproduzir um organismo inteiro, o que o torna uma ferramenta poderosa para a propagação massal de genótipos superiores (TORRES et al., 1998). Na organogênese indireta ou calogênese ocorre à indução e formação de calos previamente à regeneração de gemas adventícias que crescem e se desenvolvem em novas partes aéreas (GRATTAPAGLIA & MACHADO, 1998). O tempo necessário para obter um calo é muito variável e depende da espécie de planta, da origem do tecido do explante e da composição do meio de cultura. A incorporação de reguladores de crescimento ao meio promove a indução de calos em explantes cultivados *in vitro*. Em estudos são observadas formações de calos em tratamentos, exceto naqueles isentos das auxinas 2,4-D.

O calo pode ser definido como sendo um tecido em desenvolvimento, constituído por um grupo de células em vários níveis de diferenciação e desorganizadas, que se desenvolvem como respostas a uma lesão química ou física (YOMAN & MACLEOD, citados por ROCHA,

1997), podendo ser obtido por meio do desenvolvimento de órgãos ou tecidos diferenciados, onde estes são posteriormente conduzidos a uma desdiferenciação celular, passando estas por uma fase de proliferação contínua, acelerada e de aparência desordenada, originando finalmente uma massa amorfa de tecido. Essa massa celular pode variar em aparência externa, textura e composição celular (BUTCHER & INGRAM, citados por ROCHA, 1997). Para posterior regeneração de plantas, decorre, principalmente, da variabilidade, frequentemente apresentada por essas plantas, após a fase de cultivo *in vitro*. Essa variabilidade, denominada de variação soma clonal, quer sendo induzida pela técnica propriamente dita, ou pré-existente nas células dos explantes originais utilizados, e até mesmo em ambas, é passível de ser explorada com finalidade de melhoramento genético.

O presente trabalho teve como objetivo estabelecer e avaliar indução de calos em três variedades de batata-doce (*Ipomoea batatas* (Lam.)) *in vitro*.

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Biotecnologia Vegetal no Departamento de Ciências Vegetais, na UFERSA, no período de 01 de Julho de 2007 a 01 de Julho de 2008.

Os cultivares de batata-doce utilizados no experimento foram: Branca Rio de Janeiro, Califórnia, Esam 3. As brotações com aproximadamente 2 cm de comprimento contendo gemas apicais, foram coletadas e acondicionadas em placas de Petri umedecidas e levadas para o laboratório, onde foram submetidas a uma lavagem por 15 minutos em água corrente. Em seguida foram imersas em solução comercial de hipoclorito de Sódio a 1% com 2 gotas de espalhante adesivo, detergente comercial, para 100 ml de solução, por 20 minutos. Após este período, em câmara de fluxo de ar laminar, foram lavados por 3 vezes em água destilada autoclavada, para a remoção do desinfestante (OLIVEIRA, 2008; FREITAS, 2009).

Posteriormente foi feita a inoculação em tubos de ensaio de 25 x 150 mm contendo 15 ml de meio de cultura de Murashige & Skoog (1962) adicionado de 3% de sacarose. Todo material utilizado foi previamente autoclavado, a 120 °C e 1.3 kg.cm<sup>-2</sup> por 20 minutos. Os explantes foram mantidos à temperatura de 27 °C, fotoperíodo de 16 horas e irradiância de 30 µmol.m<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup>, por um período de aproximadamente 4 semanas. As

plântulas obtidas foram repicadas e novamente inoculadas em meios de cultura básico, suplementado com vitaminas de sais minerais.

Os caulículos das plântulas foram cortados em vários segmentos contendo 1, 2 e 3 gemas e foram colocados em tubos de ensaio, onde permaneceram até o desenvolvimento completo com formação de raízes e parte aérea normais.

As plantas estabelecidas e posteriormente repicadas, foram então submetidas ao teste de calogênese, em meio contendo  $10 \mu\text{Mol L}^{-1}$  de 2,4-D e  $0.005 \mu\text{Mol L}^{-1}$  de BAP, sendo que os materiais utilizados como explantes foram segmentos anodais.

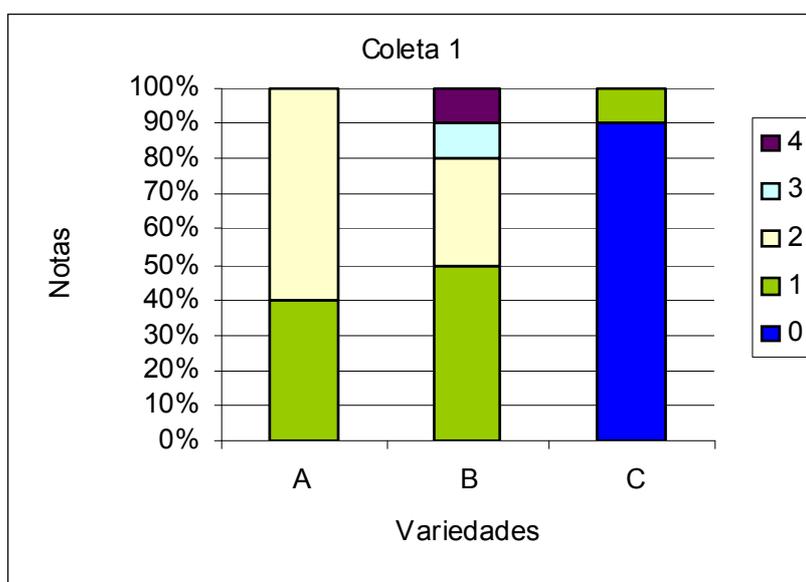
Foram feitas avaliações quanto a formação de calos (0- não houve a formação de calos; 1- houve formação de calos) e ao tamanho em 1 (0-0.5 cm), 2 (0.6-1.0 cm), 3 (1.1-2.0 cm), 4 (maior que 2.0 cm).

O delineamento utilizado foi do tipo inteiramente casualizado, sendo cada explante considerado como uma repetição. Os explantes contaminados não foram

avaliados. Pelas características avaliadas optou-se pela estatística não-paramétrica. O tratamento estatístico utilizado foi o teste de Ordens Assinaladas ("Signed Rank Test") relatado por Wilcoxon, 1945.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

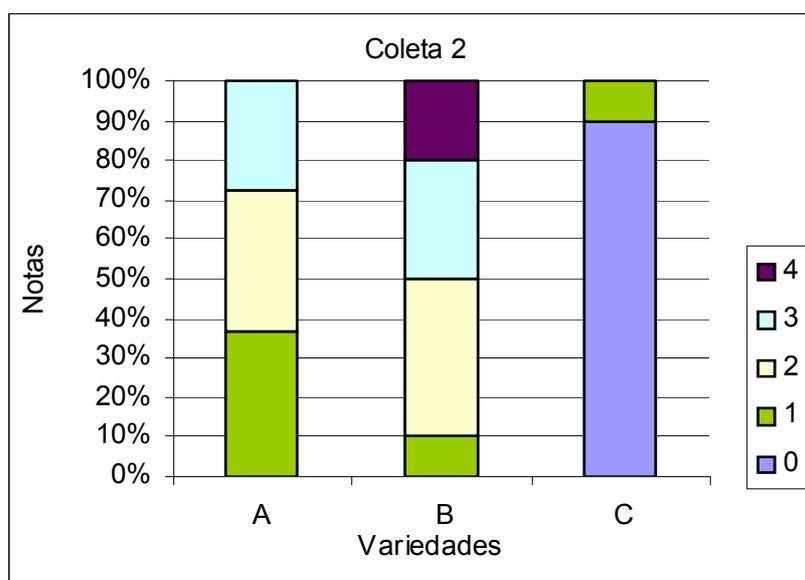
Verificou-se que as variedades Esam 3 e Branca Rio de Janeiro responderam de forma semelhante à indução, enquanto que, na variedade Califórnia apenas 10% das plantas formaram calos, os quais se mantiveram no tamanho 1 até o encerramento das avaliações. Conforme a figura 1 foram feitas três coletas de dados, aos 30, 84 e aos 114 dias. Na primeira avaliação, para a variedade Esam 3 predominou o tamanho 2 em cerca de 60% das parcelas, na variedade Branca Rio de Janeiro o tamanho 1 em cerca de 50%. A variedade Califórnia apresentou apenas o tamanho 1, em apenas 10% das parcelas.



**Figura 1.** Percentagem dos tamanhos (1 (0-0.5 cm), 2 (0.6-1.0 cm), 3 (1.1-2.0 cm), 4 (maior que 2.0 cm)) de calos nas variedades A (Esam 3), B (Branca Rio de Janeiro) e C (Califórnia) em resposta a dose de  $10 \mu\text{Mol L}^{-1}$  de 2,4-D e  $0.005 \mu\text{Mol L}^{-1}$  de BAP, na primeira coleta, aos 30 dias. Mossoró, 2008.

Na segunda avaliação as variedades Esam 3 e variedade Branca Rio de Janeiro apresentaram o tamanho 3 em 30% das parcelas, e a variedade Branca Rio de

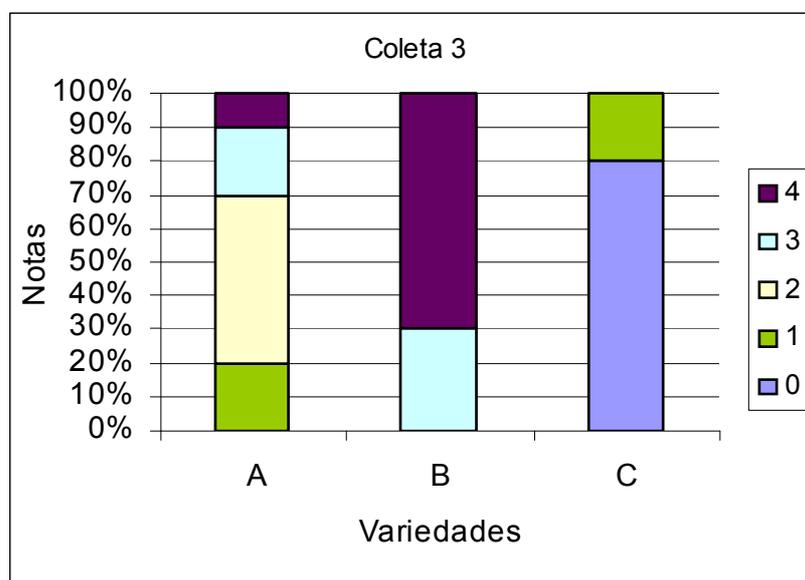
Janeiro chegou a atingir o tamanho 4, em cerca de 20% das parcelas (Figura 2).



**Figura 2.** Percentagem dos tamanhos (1 (0-0.5 cm), 2 (0.6-1.0 cm), 3 (1.1-2.0 cm), 4 (maior que 2.0 cm)) de calos nas variedades A (Esam 3), B (Branca Rio de Janeiro) e C (Califórnia) em resposta a dose de  $10 \mu\text{Mol L}^{-1}$  de 2,4-D e  $0.005 \mu\text{Mol L}^{-1}$  de BAP, na segunda coleta, aos 84 dias. Mossoró, 2008.

Na terceira avaliação, a variedade Esam 3 apresentou 20, 50, 20 e 10 por cento dos tamanhos em ordem crescente de 1 a 4, respectivamente. A variedade Branca Rio de Janeiro apresentou 30 e 70 por cento dos calos nos

tamanhos 3 e 4, respectivamente. A variedade Branca rio de Janeiro apresentou maior crescimento de calos. Houve grande variabilidade no crescimento de calos entre as variedades estudadas (Figura 3).



**Figura 3.** Percentagem dos tamanhos (1 (0-0.5 cm), 2 (0.6-1.0 cm), 3 (1.1-2.0 cm), 4 (maior que 2.0 cm). de calos nas variedades A (Esam 3), B (Branca Rio de Janeiro) e C (Califórnia) em resposta a dose de  $10 \mu\text{Mol L}^{-1}$  de 2,4-D e  $0.005 \mu\text{Mol L}^{-1}$  de BAP, na terceira coleta, aos 114 dias. Mossoró, 2008.

Conceitualmente, calo é um tecido formado pela intensa e desordenada divisão das células do explante, geralmente em consequência de seu cultivo em meio com altas concentrações de auxina (MANTELL et al., 1994). Logo, o que também pode ter levado a esses resultados, é

a presença de 2,4-D no meio de cultura. Magalhães (2006) constatou que a adição de 2,4-D foi necessária para a indução de calo embriogênico em explantes de ápices caulinares, com dois primórdios foliares. Em meio desprovido de 2,4-D não ocorreu a diferenciação dos

explantes em calo. As concentrações de 0,5, 1,0 e 2,0 mg/L de 2,4-D foram efetivas na percentagem de calos embriogênicos formado nos genótipos testados, que variou de 40 a 100%, não havendo diferença estatística entre elas.

## CONCLUSÃO

Diante dos resultados apresentados pode-se concluir que entre as variedades analisadas existe estatisticamente diferença significativa. Sendo que a variedade Branca Rio de Janeiro apresentou o melhor resultado em relação à formação e tamanho de calos, seguida da Esam 3. Enquanto a variedade Califórnia apresentou apenas 10% de formação de calos.

## LITERATURA CITADA

FREITAS, R.M.O.; OLIVEIRA, M., DOMBROSKI, J.L.D., CÂMARA, F.A.A.; SILVA NETO, R. Efeito dos tratamentos de oxidação em *Aloysia virgata*. **Revista Caatinga** v.22, n.1, 2009.

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M.A. **Micropropagação**. In: *Cultura de Tecidos e Transformação Genética de Plantas*. Brasília: Embrapa SPI / Embrapa – CNPH, 1998, 864p.

IBGE. **Produção agrícola municipal**. In: Download. Rio de Janeiro: IBGE, 2005. Disponível em <http://www.ibge.gov.br/download>. Acesso em 06 maio.2006.

MAGALHAES, Janaina S et al. Indução de embriogênese somática em genótipos de batata-doce. **Hortic. Bras.** v.24, n.1, p. 79-83, 2006.

Recebido em 16/01/2010

Aceito em 23/01/2010

MANTELL, S.H.; MATTHEWS, J.A.; MCKEE, R.A. **Princípios de biotecnologia em plantas: uma introdução à engenharia genética em plantas**. Ribeirão Preto: SBG, 1994. Cap.5, p.101-158.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue culture. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.15, n.3, p.473-497, 1962.

OLIVEIRA, M., BEZERRA NETO, F., CÂMARA, F.A.A., DOMBROSKI, J.L.D., FREITAS, R.M.O. Multiplicação *in vitro* de batata-doce (*Ipomoea batatas* Lam). **Revista Caatinga** v.21, n.4, 2008.

ROCHA, R.C.C. **Obtenção de calos de meloeiro** (*Cucumis melo* L.).1997. Monografia, p.3-10. Escola Superior de Agricultura de Mossoró. Mossoró,1997.

SILVA, J.B.C.; LOPES, C.A.; MAGALHÃES, J.S. **Cultura da batata doce**. In: CEREDA, M. P. (coord). *Agricultura: tuberoses amiláceas latino americanas*. São Paulo: Fundação Cargill, p.448-504, 2002.

SMITH, E.F.; DREW. Current applications of tissue in plant propagation and improvement. Aust. **Journal Plant Physiol**, v.17, p.267-289, 1990.

TORRES, A.C.; CALDAS, L.S.; BUSO, J.A. **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. V. 1 e 2. Brasília – SPI/Embrapa – CNPH,1998. v.2 (864p).

WILCOXON, F. Individual Comparisons by Rankins Methods. **Biometrics**, 1:80-3. 1945.