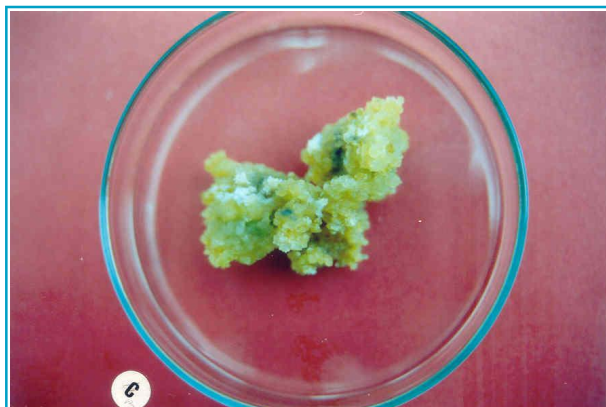




Definição de Metodologia para a Regeneração de Plântulas de *Gossypium hirsutum* L. a partir de Embriogênese Somática

Julita Maria Frota Chagas Carvalho¹

Marcia Soares Vidal²

Dione Marcia de Souza³

A embriogênese somática é uma ferramenta importante nos programas de melhoramento genético de algumas culturas, mediante a utilização das técnicas de cultivo de tecido. Na investigação dos diferentes níveis de variabilidade visando à obtenção de genótipos melhorados, a seleção de embriões amplifica e otimiza o trabalho de seleção.

Até o presente momento tem sido difícil a manipulação do algodão através do cultivo de tecidos, pois a obtenção da embriogênese somática somente foi conseguida em poucas cultivares de *Gossypium hirsutum* (DAVIDONIS e HAMILTON, 1983; TROLINDER e GOODIN, 1987; TROLINDER e XHIXIAN, 1989; GAWEL e ROBACKER, 1990) e da espécie silvestre *G. klotzchianum* (PRICE e SMITH, 1979).

A produção de plantas de algodão por meio da engenharia genética está limitada pela especificidade da cultivar, já que a mesma tem que ser embriogênica para que se possa regenerar a planta; entretanto, já se tem conhecimento de plantas transgênicas resistentes a lagartas e tolerantes a herbicidas (JOHN e STEWART, 1992).

Entre as cultivares comerciais de algodão, a

regeneração de tecidos de calos está limitada às linhagens da cultivar Coker (JOHN e STEWART, 1992). Em função desses trabalhos e de seus resultados, Bajaj & Gill (1992) sugeriram que outras espécies, raças e/ou variedades, necessitam ser estudadas.

O objetivo do presente trabalho foi induzir a formação de calos embriogênicos da cultivar de algodão Coker 312 em diferentes meios de cultivo para posteriormente serem obtidas plantas regeneradas a partir da embriogênese somática.

Sementes da cultivar Coker 312 foram germinadas *in vitro* e sete dias após a sua germinação, segmentos de hipocótilo de 4mm de tamanho foram cultivados por 4 semanas em frascos de cultivo contendo 18mL dos seguintes meios de indução de calo: MS1.1: sais do meio MS (MURASHIGE e SKOOG 1962), acrescido de 0,3 mg/L de tiamina, 30 g/L de glicose, 1,6 g/L de gelrite e 0,75 mg/L de $MgCl_2$ e suplementado com 0,1mg/L de 2,4D(ácido diclorofenoxiacético) e 0,5mg/L de 2iP(6-(γ -dimetilalimino) purina), pH 5,8; MS1.2: sais do meio MS (MURASHIGE e SKOOG 1962), com 0,3 mg/L de tiamina, 30 g/L de glicose, 2,0 g/L de gelrite e suplementado com 0,1mg/L de ANA (Ácido

¹Eng. Agr., DSc., Embrapa Algodão, CP 174, CEP 58107-720, Campina Grande, PB.

²Bióloga, DSc., Embrapa Algodão.

³Biólogo, Ba., Embrapa Algodão.

naftalenoacético) e 5,0 mg/L de 2iP, pH5,9. Passadas as quatro semanas os calos induzidos no meio MS1.1 foram transferidos para o mesmo meio substituindo-se a glicose pela sacarose na concentração de 20mg/L (MS2.1- Meio de proliferação de calo), enquanto que os induzidos no meio MS1.2 foram transferidos pelo mesmo meio substituindo-se as concentrações dos reguladores de crescimento: ANA (5,0mg/L) e 2iP (0,1mg/L) (MS2.2- Meio de proliferação de calo), onde foram mantidos por 4 semanas. Para cada tratamento foram utilizadas 60 repetições e, em todos os casos, a incubação foi realizada a 30°C com um fotoperíodo de 16 h luz/8 h de escuro e uma intensidade luminosa de 50 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

Observou-se uma maior resposta de indução de calo no meio MS suplementado com 0,1mg/L de 2,4D e 0,5mg/L de 2iP (MS2.1) conforme pode ser observado na Figura 1A e em close na Figura 2, embora tenha sido verificado também um maior grau de oxidação dos explantes (Figura 3). Tal fato pode ser atribuído a troca da carboidrato no caso a glicose pela sacarose. A escolha deste meio foi realizada em função dos bons resultados obtidos por Carvalho et al., 1998. Para o meio MS2.2 observou-se que cerca de 2,2% dos explantes não responderam ao tratamento, onde ocorreu somente o crescimento do tecido e não houve divisão celular e nos que induziram calo foi em quantidade inferior ao se comparar com o obtido no meio anterior (Figura 1B).

Referências bibliográficas

BAJAJ, Y.P.S.; GILL, M.S. Micropropagation of cotton (*Gossypium* species). In: BAJAJ, Y.P.S. ed. Biotechnology in Agriculture and Forestry: high-tech and micropropagation III. Springer-Verlag/ Berlin

Heidelberg, 1992. p. 484-504, v.19.

CARVALHO, J.M.F.C.; BENITO, E.G.; PEREZ, C.; SANTOS, J.W. Resposta de duas cultivares de algodão à embriogênese somática em diferentes meios de cultivo. Revista Brasileira de Oleaginosas e Fibras, v. 2, n.1, p. 13-19, 1998.

DAVIDONIS, G.H. ; HAMILTON, R.H. Plant regeneration from callus tissue of (*Gossypium hirsutum* L.). Plant Science Letters, v.32, p.89-93, 1983.

GAWEL, N.J. ; ROBACKER, C.D. Somatic embryogenesis in two *Gossypium hirsutum* genotypes on semi-solid versus liquid proliferation media. Plant Cell Tissue Organ Culture, v.23, p. 201-204, 1990.

JOHN, M.E. ; STEWART, J. Mc. Genes for jeans: biotechnological advance in cotton. Tibtech, v.10, p. 165-170, 1992.

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

PRICE, H.J. ; SMITH, R.H. Somatic embryogenesis in suspension cultures of *Gossypium klotzchianum* Andress. Planta, v. 145, p. 305-307, 1979.

TROLINDER, N.L.; GOODIN, J. R. Somatic embryogenesis and plant regeneration in cotton (*Gossypium hirsutum* L.). Plant Cell Reports, v.6, p. 231-234, 1987.

TROLINDER, N.L. ; XHIXIAN, C. Genotype specificity of the somatic embryogenesis response in cotton. Plant Cell Reports, v.8, p. 133-136, 1989.

Foto: Taciana Carvalho de Coutinho.



Fig. 1. Proliferação calo a partir de hipocótilo da cultivar Coker 312 em meio MS modificado suplementado com 0,1mg/L de 2,4D e 0,5mg/L de 2iP (A). Em B meio MS suplementado com 5,0mg/L de ANA e 0,1mg/L de 2iP.

Foto: Taciana Carvalho de Coutinho.



Fig. 2. Close de calos friáveis a partir de hipocótilo da cutliver Coker 312 em meio MS modificado suplementado com 0,1mg/L de 2,4D e 0,5mg/Lde 2iP (MS2.1).

Foto: Taciana Carvalho de Coutinho.



Fig. 3. Calos oxidados a partir de hipocótilo da cutliver Coker 312 em meio MS modificado suplementado com 0,1mg/L de 2,4D e 0,5mg/Lde 2iP (MS2.1).

Comunicado Técnico, 176

Exemplares desta edição podem ser adquiridos na:
Embrapa Algodão
Rua Osvaldo Cruz, 1143 Centenário, CP 174
58107-720 Campina Grande, PB
Fone: (83) 315 4300 Fax: (83) 315 4367
e-mail: sac@cnpa.embrapa.br
1ª Edição
Tiragem: 500



MINISTÉRIO DA AGRICULTURA,
PECUÁRIA E ABASTECIMENTO



Comitê de Publicações

Presidente: Luiz Paulo de Carvalho
Secretária Executiva: Nivia M.S. Gomes
Membros: Demóstenes M.P. de Azevedo
José Wellington dos Santos
Lúcia Helena A. Araujo
Márcia Barreto de Medeiros
Maria Auxiliadora Lemos Barros
Maria José da Silva e Luz
Napoleão Esberard de M. Beltrão
Rosa Maria Mendes Freire

Expedientes: Supervisor Editorial: Nivia M.S. Gomes
Revisão de Texto: Nisia Luciano Leão
Tratamento das ilustrações: Geraldo F. de S. Filho
Editoração Eletrônica: Geraldo F. de S. Filho