



Altura e Largura de Calos *in vitro* Formados a Partir de Explantes Foliare de Híbridos de Morango Desenvolvidos Pela Epamig Sob Ação de Fitorreguladores

Warley Rafael Oliva Brandão, Izabela Cristina Pires Gomes, LUCIANA NOGUEIRA LONDE, Nayara de Souza Damascena, Emanuelle Ferreira Melo, Gabriel Belfort Rodrigues, ANNANDA MENDES COSTA

Introdução

O morango (*Fragaria x ananassa* Duch) é produzido e apreciado em diversas regiões do mundo, caracterizando-se por ser a espécie de maior expressão econômica do grupo das pequenas frutas, apresentando produção mundial de 3,1 milhões de toneladas Oliveira [1], entretanto por ser uma cultura sensível, tem-se encontrado dificuldades na obtenção de mudas com qualidade.

As variedades de morangueiro utilizadas em todo mundo, foram desenvolvidas por programa de melhoramento que foram adaptadas as condições adversas das encontradas no Brasil. Sendo assim, o melhoramento genético do morangueiro é importante para o Norte de Minas, uma vez que, por meio dele será possível a obtenção de híbridos adaptados às condições climáticas norte mineiro.

A cultura de tecidos é um processo que isola pequenos fragmentos de tecido vivo. Esse tipo de cultivo vem sendo aplicado, de maneira mais prática e com maior impacto, na propagação vegetativa *in vitro* ou micropropagação, que tem como principal objetivo a aceleração dos métodos convencionais de propagação vegetativa e o controle da sanidade do material de propagação Donato [2], Lima e Moraes [3], Xiao *et al.*[4]

A formação de calos em um explante – calogênese - é uma etapa básica para o desenvolvimento de sistemas de propagação massiva de plantas por organogênese ou embriogênese somática. É importante também quando se deseja produzir células para manipulações genéticas, como hibridações somáticas, poliploidizações e transformações Venturieri e Venturieri [5]. Diversos fatores interferem na calogênese, tais com o tamanho do explante, composição do meio de cultura, reguladores de crescimento, órgão fornecedor do explante, idade e época do ano em que o explante é colhido e genótipo da planta doadora Cerqueira *et al.* [6].

Portanto, a definição de uma metodologia de obtenção da calogênese de morangueiro pode ser uma ferramenta de suma importância para o melhoramento tradicional de cultivares desta espécie, principalmente das variedades que foram submetidos à hibridação no programa de melhoramento do morangueiro da Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (EPAMIG), para que esses híbridos possam ser mais uma fonte de renda aos produtores no Norte de Minas. Diante do exposto, os objetivos deste trabalho foram avaliar a altura e a largura dos calos formados a partir de explantes foliares *in vitro* de híbridos de morango desenvolvidos pela EPAMIG sob ação dos fitorreguladores BAP (6-benzilaminopurina), ANA (ácido naftalenoacético) e GA₃ (ácido giberélico).

Material e métodos

O experimento foi conduzido no laboratório de Biotecnologia Vegetal da EPAMIG, situada em Nova Porteirinha, Minas Gerais. Quatro híbridos de morango: Aleluia x Toyonoka 153 (AL X TO 153), Oso Grande x Toyonoka 55 (OG X TO 55), Toyonoka x Sweet Charlie 13 (TO X SC 13), Camino Real x Sweet Charlie 9 (CR X SC 9) subcultivados por 60 dias foram utilizados como explantes para esta fase. O meio MS foi suplementado com 1,5 mg L⁻¹ de BAP, 0,1 mg.L⁻¹ de ANA, e 0,5 mg.L⁻¹ de GA₃. O material foi cultivado em tubos de ensaio e o pH ajustado para 5,8 antes da autoclavagem. Foi utilizado um explante por tubo de ensaio contendo meio de cultura mantidos em sala de crescimento com temperatura de 25° C ± 1 e fotoperíodo de 16 horas.

Decorridos 30 dias foram avaliados a altura e largura dos calos. O subcultivo consistiu em delineamento inteiramente casualizado com 8 repetições. Os dados foram submetidos à análise de normalidade de Kolmogorov e Smirnov e, sob normalidade, foram submetidos à análise de variância. Para o efeito de híbridos e meios foi utilizado o teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Resultados e Discussão

Na Tabela 1 verifica-se o resumo da análise de variância para os parâmetros avaliados no subcultivo. Como mostra a tabela 2, o híbrido AL x TO 153 apresentou maior crescimento quando comparados aos demais híbridos, diferindo significativamente dos demais. Para esse híbrido a altura foi de 8,10 mm e a largura de 14,80 mm. O subcultivo por 60



FÓRUM ENSINO • PESQUISA
EXTENSÃO • GESTÃO

FEPEG

UNIVERSIDADE: SABERES E PRÁTICAS INOVADORAS

Trabalhos científicos • Apresentações artísticas
e culturais • Debates • Minicursos e Palestras



24 a 27
setembro

Campus Universitário Professor Darcy Ribeiro

www.fepeg.unimontes.br

dias apresentou calos com crescimento considerável, sendo esses cultivados em meio MS com as concentrações $1,5 \text{ mg L}^{-1}$ de BAP, $0,1 \text{ mg L}^{-1}$ de ANA, e $0,5 \text{ mg L}^{-1}$ de GA_3 , podendo essas terem contribuído para esse resultado.

O balanço entre auxinas e citocininas desempenha um papel fundamental na resposta *in vitro* do explante, assim, é possível que, concentrações mais elevadas de BAP e/ou de ANA, ou, até, a utilização de outras citocininas ou auxinas, proporcionem o estímulo necessário para a obtenção de uma maior calogênese Hinojosa [7]. Blando *et al.* [8] relataram que cerca de 90% de explantes foliares de morangueiro cv. Pajaro formaram calos estabelecendo o balanço entre auxina/citocinina (9 mM de 2,4-D e $4,6 \text{ mM}$ de cinetina). Já Flores [9] obtiveram 100% de calos nas cvs. Chandler e Konvoy-Cascata empregando de $3\text{-}15 \text{ mM}$ de 2,4-D ou de picloram. Porém esses reguladores utilizados apesar de serem bastante eficazes, apresentam um custo mais elevado que o ANA e o BAP, sendo estes mais viáveis economicamente.

Conclusão

O híbrido AL x TO 153 apresentou maior crescimento quando comparados aos demais híbridos aos 60 dias.

O híbrido Aleluia x Toyonoka 153 é o mais responsivo à indução de calos obtendo maior crescimento destes quando subcultivados por 60 dias.

A multiplicação de calos de morango é dependente do genótipo utilizado, sendo observadas respostas diferentes para todos os genótipos avaliados.

Agradecimentos

Os autores agradecem a EPAMIG por ceder suas dependências para a concretização desse trabalho e a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) pelo fomento ao desenvolvimento científico e tecnológico e concessão da bolsa de estudo de graduação.

Referências

- [1] OLIVEIRA, R. P.; SCHIVITTARO, W. B.; WREGE, M. S.; UENO, B.; CASTRO, L. A. S. OTIMIZAÇÃO DA PRODUÇÃO NACIONAL DE MUDAS DE MORANGUEIRO. PELOTAS: EMBRAPA CLIMA TEMPERADO, 2006. 28 p. (EMBRAPA CLIMA TEMPERADO. DOCUMENTOS, 162).
- [2] DONATO, V.M.T.S.; ANDRADE, A. G.; TAKAKI, G.M. C.; MARIANO, R.L.R. E MACIEL, G.A. 2005. PLANTAS DE CANA-DE-AÇÚCAR CULTIVADAS *INVITRO* COM ANTIBIÓTICOS. *REVISTA CIÊNCIA E AGROTECNOLOGIA*. LAVRAS, v. 29, n. 1, p.134-141, JAN./FEV. 2005.
- [3] LIMA, J.D. E MORAES, W.S. 2006. CONCENTRAÇÃO DE BENZILAMINOPURINA E AVALIAÇÃO DE PROTOCOLO PARA MULTIPLICAÇÃO *IN VITRO* DE GENÓTIPOS DE BANANEIRA. *REVISTA PESQUISA AGROPECUÁRIA TROPICAL*, v.36, p.13-19.
- [4] XIAO, Y., NIU, G. E KOZAI, T. DEVELOPMENT AND APPLICATION OF PHOTOAUTOTROPHIC MICROPROPAGATION PLANT SYSTEM. *PLANTCELLTISS. ORG. CULT.*, v.105.p.149-158.2011.
- [5] VENTURIERI, G.A.; VENTURIERI, G.C. CALOGÊNESE DO HÍBRIDO *THEOBROMAGRANDFLORUM* X *T. OBOVATUM* (STERCULIACEAE). *ACTA AMAZÔNICA*, v.34, n.4, p.507-511, 2004.
- [6] CERQUEIRA, E.S.; PINTO, J. E. B. P.; MORAIS, A. R.; CASTRO, N. E. A.; CARDOSO, M. G. C.; LAMEIRA, O. A. INDUÇÃO DE CALOS EM ERVA-DE-TOURO (*TRIDAXPROCUMBENS* L.) UTILIZANDO DIFERENTES REGULADORES DE CRESCIMENTO E TIPOS DE EXPLANTES. *CIÊNCIA E AGROTECNOLOGIA*, v.26, n.2, p.301-8, 2002.
- [7] HINOJOSA, G. F. INTRODUÇÃO AOS HORMÔNIOS VEGETAIS. BRASÍLIA: EMBRAPA RECURSOS GENÉTICOS E BIOTECNOLOGIA, 2000. p. 15 – 48.
- [8] BLANDO, F.; NIGLIO, A.; FRATTARELLI, A. CELLSUSPENSIONCULTURE IN STRAWBERRY: GROWTHCHARACTERIZATIONANDVARIABILITY. *ACTA. HORT.*, v.336, p.257-262, 1993.
- [9] FLORES, R.; GOMES, P. R.; FARIA, J. T. C.; CENTELLAS, A. Q.; FORTES, G. R. L.; PETERS, J. A. CALOGÊNESE *IN VITRO* DE DUAS CULTIVARES DE MORANGUEIRO (*FRAGARIA X ANANASSA*) A PARTIR DE DISCOS FOLIARES. *REVISTA BRASILEIRA DE AGROCIÊNCIA*, v.4, n° 1, p. 09-14, JAN.-ABR., 1998.



Tabela 1. Análise de variância para as características altura (mm) e largura (mm) dos híbridos de morangueiro desenvolvidas pela EPAMIG/URNM subcultivados por 60 dias.

Fontes de Variação	GL	Quadrado Médio	
		Altura (mm)	Largura (mm)
Híbridos	3	14,14*	74,48*
Erro	78	4,82	18,07
Total	81		
CV (%)		29,7	31,9
Média		7,39	13,32

* F significativo a 5% de probabilidade; GL = graus de liberdade; CV = coeficiente de variação.

Tabela 2. Altura (mm) e largura (mm) de calos de híbridos de morango subcultivados por 60 dias.

Híbridos	Altura	Largura
AL x TO 153	8,10a	14,80 ^a
OG x TO 55	7,00a	11,78 ^a
TO x SC 13	6,61a	11,53 ^a
CR x SC 9	6,53a	11,12 ^a

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si significativamente a 5% de probabilidade de erro pelo teste de Tukey.