

## Indução de calos em embriões de mangabeira

Emrich, Eduardo Bucsan<sup>1</sup>; Paiva, Renato<sup>2</sup>; Soares, Fernanda Pereira<sup>3</sup>; Silva, Diogo Pedrosa Corrêa da<sup>4</sup>; Figueiredo, Milene Alves de<sup>3</sup>; Stein, Vanessa Cristina<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Graduando de Agronomia da Universidade Federal de Lavras (UFLA), e-mail: [bucsan\\_emrich@yahoo.com.br](mailto:bucsan_emrich@yahoo.com.br); <sup>2</sup>Professor Associado, Universidade Federal de Lavras (UFLA), Setor de Fisiologia Vegetal, Departamento de Biologia, Setor de Fisiologia Vegetal, CEP: 37200-000, Lavras, Minas Gerais, Brasil, Caixa Postal: 3037, e-mail: [renpaiva@ulfa.com.br](mailto:renpaiva@ulfa.com.br); <sup>3</sup>Mestrando em Fisiologia Vegetal (UFLA), Bolsista CNPq, e-mail: [pedrosacorrea@yahoo.com.br](mailto:pedrosacorrea@yahoo.com.br); <sup>4</sup>Doutorandas em Fisiologia Vegetal (UFLA), bolsistas CNPq e CAPES, e-mail: [fernandapereirasoares@yahoo.com.br](mailto:fernandapereirasoares@yahoo.com.br), [vanessastein@oi.com.br](mailto:vanessastein@oi.com.br), [migueiredo@yahoo.com.br](mailto:migueiredo@yahoo.com.br).

## INTRODUÇÃO

A mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes), espécie arbórea do Cerrado, apresenta grande potencial como planta frutífera e produtora de borracha. No entanto, com a inexistência de plantios racionais e tecnificados, o extrativismo é, atualmente, sua única forma de exploração, constituindo-se, assim, numa grande barreira para o aproveitamento de todas as suas potencialidades.

Sua propagação sexuada se caracteriza, assim como para outras espécies, por produzir indivíduos heterogêneos. Estudos indicam ainda, que suas sementes são extremamente recalcitrantes, o que tem limitado a obtenção de mudas destinadas à implantação de pomares comerciais.

A propagação vegetativa por meio de estaquia e enxertia, para a mangabeira, ainda não se consolidou como uma técnica viável, enquanto técnicas de cultivo *in vitro* têm se mostrado bastante eficientes (Soares, 2005). Várias são as modalidades de cultura de tecidos, podendo ser por via direta, pelo desenvolvimento de novos órgãos diretamente do explante ou indireta, via cultura de calos.

Calo é um grupo ou massa de células vegetais com crescimento desordenado, as quais podem apresentar certo grau de diferenciação (Torres et al., 2000). Essa massa de células, segundo George (1993), desenvolve-se em resposta a injúrias físicas ou químicas.

De acordo com Grattapaglia & Machado (1998), para ocorrer a indução do calo, qualquer tecido pode ser utilizado como explante. Entretanto, procura-se utilizar aqueles que contenham maior proporção de tecido meristemático ou que apresentem maior capacidade de expressar a totipotência.

Vietez & San-José (1996) afirmam que, muitas vezes é necessário o suprimento exógeno de reguladores de crescimento para a indução de calos. Essa indução é regulada pela interação e balanço entre os reguladores sintéticos fornecidos e os hormônios produzidos internamente pelo explante.

O balanço auxina/citocinina é, na maioria das vezes, determinante na calogênese. Dentre os reguladores de crescimento mais utilizados na indução de calos destacam-se o 2,4-D (ácido 2,4-diclorofenoxiacético), ANA (ácido naftalenoacético), BAP (6-benzilaminopurina) e, mais recentemente, o TDZ (thidiazuron).

O presente trabalho teve como objetivo o estudo do efeito de diferentes concentrações de 2,4-D na indução de calos em embriões de mangabeira.

## MATERIAL E MÉTODOS

Frutos maduros de mangabeira foram coletados de populações naturais localizadas no município de Pitangui, região Centro-Oeste do estado de Minas Gerais e, trazidos para o Laboratório de Cultura de Tecidos de Plantas do Departamento de Biologia da Universidade Federal de Lavras.

Para a retirada das sementes, os frutos passaram por processo de beneficiamento, com retirada da polpa e lavagem em água corrente com auxílio de peneira por 10 minutos. Ao final deste tempo, as sementes foram lavadas em água destilada e autoclavada e tiveram seus tegumentos retirados. Posteriormente, foram novamente imersas em solução de NaOCl com 1% de cloro ativo, onde permaneceram por mais 10 minutos e lavadas 5

vezes em água destilada e autoclavada. Os embriões foram retirados com auxílio de estilete e inoculados nos diferentes tratamentos.

O meio de cultura utilizado foi o WPM (Lloyd & McCown, 1980), suplementado com diferentes concentrações de 2,4-D (0,0; 1,0; 2,0; 3,0 e 4,0 mg L<sup>-1</sup>). Foram utilizados 3% de sacarose e 0,7% de ágar. O pH foi ajustado para 5,8, antes da autoclavagem a 120°C, durante 20 minutos.

Após a inoculação, os embriões foram mantidos em sala de crescimento, no escuro, sob temperatura de 25±2°C. A avaliação foi realizada aos 45 dias de incubação, sendo observada a percentagem de embriões com calos em cada tratamento.

Utilizou-se o delineamento estatístico inteiramente casualizado, com 20 repetições por tratamento, sendo cada repetição composta por um tubo de ensaio contendo um explante. Os dados foram submetidos à análise de variância utilizando-se o Software SISVAR 4.6 (Ferreira, 1999).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na ausência do regulador de crescimento 2,4-D a formação de calos nos embriões de mangabeira foi mínima (Figura 1).

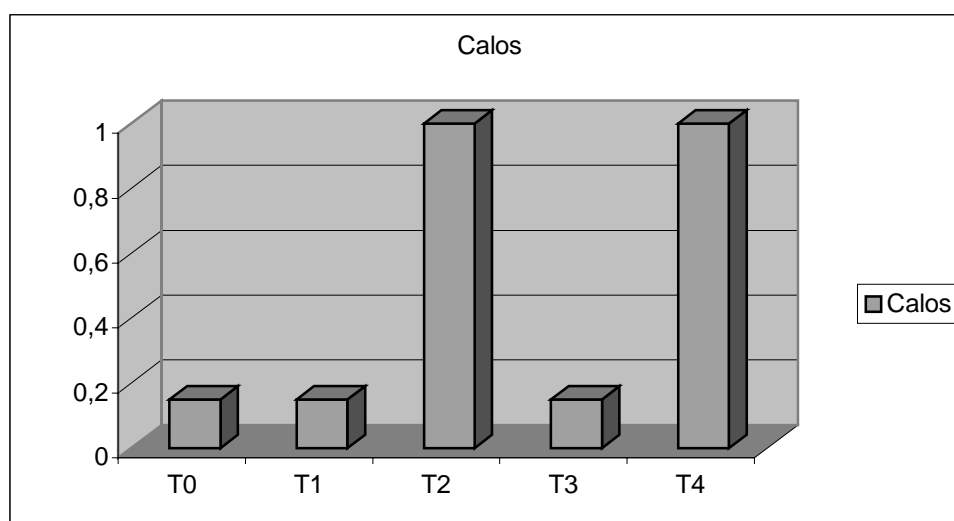


FIGURA 1. Percentagem de embriões de mangabeira cobertos por calos em meio WPM suplementado com diferentes concentrações de 2,4-D (0,0 – T0; 1,0 – T1; 2,0 – T2; 3,0 – T3; 4,0 mg L<sup>-1</sup> - T4).

Este resultado corrobora com estudos realizados por Deccetti (2000) e Soares (2005), que reportam a ausência de calos em *Annona glabra* L. e *Hancornia speciosa* Gomes, quando o 2,4-D não estava presente no meio de cultura.

A essencialidade do 2,4-D na indução de calos tem sido relatada na literatura para várias espécies (Lee et al., 2001; Soares, 2005).

Segundo Grattapaglia & Machado (1998), o 2,4-D tende a estimular a formação de calos em diferentes explantes. Este fitorregulador apresenta efeito no metabolismo do RNA, induzindo a transcrição de RNAs mensageiros capazes de codificar proteínas requisitadas para o crescimento e que podem induzir a proliferação celular desordenada, ou seja, a calogênese (George, 1993).

A maior percentagem de embriões de mangabeira com calos foi verificada com a utilização das concentrações de 2,0 e 4,0 mg L<sup>-1</sup> de 2,4-D.

Kononowicz et al. (1984), ao contrário, estudando a calogênese em embriões zigóticos de cacau, observou escurecimento e morte de calos quando estes foram cultivados em meio de cultura suplementado com concentrações de 2,4-D acima de 2,0 mg L<sup>-1</sup>.

## CONCLUSÃO

A adição de 2,4-D ao meio de cultura é uma condição necessária para a indução de calos em embriões de mangabeira.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

DECETTI, S. F. C. **Propagação *in vitro* de *Annona glabra* L.** 2000. 101 p. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

FERREIRA, D. F. **SISVAR – Sistema de análise de variância para dados balanceados.** Lavras: UFLA, 1999.

GEORGE, E. F. **Plant propagation by tissue culture.** Part 1 - The technology. Edington: Exegetics, 1993. 574 p.

GRATTAPAGLIA, D.; 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-CNPH, 1998. v. 1, p. 183-260.

KONONOWICZ, H.; KONONOWIZ, A. K.; JANICK, J. Assexual embryogenesis via callus of *Theobroma cacao*. **Zeitschrift fur Pflanzenphysiologie**, Stuttgart, v. 113, n. 4, p. 347-358, 1984.

LEE, E. K.; CHO, D. Y.; SOH, W. Y. Enhanced production and germination of somatic embryos by temporary starvation in tissue cultures of *Daucus carota*, **Plant Cell Reports**, 20 : 408 – 415. 2001.

LLOYD, G.; MC COWN, B. Use of microculture for production and improvement of *Rhododendron* spp. **HortScience**, Alexandria, v. 15, n. 3, p. 416, June 1980.

SOARES, F. P. **Aspectos do cultivo *in vitro* da mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes).** 2005. 121 p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A.; SÁ, M. F. G. de; NASCIMENTO, A. S.; BRÍGIDO, M. de M; PINHO, E. R. C. **Glossário de biotecnologia vegetal.** Brasília: EMBRAPA Hortaliças, 2000. 128 p.

VIETEZ, A. M.; SAN-JOSÉ, M. C. Adventitious shoot regeneration from *Fagus sylvatica* leaf explants *in vitro*. **In vitro Cellular & Developmental Biology**, Columbia, v. 32, n. 3, p. 140-147, July/Sept. 1996.

## PALAVRAS-CHAVES

*Hancornia speciosa*; calogênese; cultura de tecidos; 2,4-D.