



## Cultivo de calo *in vitro* de diferentes híbridos produzidos no Norte de Minas Gerais

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

### Introdução

O morangueiro (*Fragaria x ananassa* Duch) são plantas herbáceas perenes, possui folhas com três folíolos, flores brancas ou de cor rosa e infrutescência ou receptáculo floral, o qual após a fecundação torna-se carnudo e suculento. Pertence à família Rosaceae, gênero *Fragaria*. É produzido e apreciado nas mais variadas regiões do mundo, sendo a espécie do grupo de pequenas frutas de maior apreciação e grande retorno econômico. É propagado vegetativamente através de estolhos e micropropagação, e para a sua multiplicação é necessário mudas de excelente qualidade, pois, se trata de uma cultura bastante susceptível a diversas doenças e pragas, tendo a necessidade de cultivares com resistência genética.

Sendo assim, o melhoramento genético do morangueiro é importante para o Norte de Minas, pois, por meio dele será possível a obtenção de híbridos adaptados às condições climáticas norte mineiro, melhorando assim a qualidade do produto que irá chegar à mesa do consumidor e aumentando a sua produção. A propagação *in vitro* de morangueiros tornou-se uma prática eficaz para a produção em larga escala de plantas com sanidade controlada Boxus [1], essa técnica apresenta diversas vantagens, como produção de mudas em larga escala e curto espaço de tempo, além da possibilidade de eliminação de patógenos causadores de doenças. A cultura de tecidos é definida como o conjunto de técnicas capazes de desenvolver células, tecidos ou órgãos vegetais utilizando soluções nutrientes em um ambiente asséptico e controlado, isolados da planta-mãe. Nesse ambiente, as células, tecidos e órgãos se multiplicam e continuam a crescer de modo não organizado ou se regeneram em uma planta inteira. O uso das técnicas de cultura permite reduzir o tempo de produção de cultivares, auxilia no melhoramento genético convencional e pode ser considerada uma ferramenta biotecnológica para o estudo do metabolismo, fisiologia, desenvolvimento e reprodução de plantas de interesse comercial ou farmacológico Sado [2]. O objetivo do presente trabalho foi avaliar altura e largura de calos *in vitro* de híbridos de morangueiro desenvolvidos na EPAMIG cultivados no terceiro subcultivo sob a ação de fitoreguladores ANA, BAP e GA<sub>3</sub>, a fim de serem utilizados em futuros programas de melhoramento.

### Material e métodos

O experimento foi conduzido no laboratório de Biotecnologia na Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (EPAMIG), situada em Nova Porteirinha, no estado de Minas Gerais. Os calos formados durante o segundo subcultivo dos híbridos 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) foram utilizados como explantes para esta fase. Cada explante foi colocado individualmente em tubos de ensaio em contato com o meio de cultura Murashige & Skoog<sup>[3]</sup> (MS), suplementado com 2,5 mg.L<sup>-1</sup> de BAP, 3,0 mg.L<sup>-1</sup> de ANA e 1,0 mg.L<sup>-1</sup> de GA<sub>3</sub>. Após a transferência foram encaminhados para a sala de crescimento sendo submetidos à temperatura de 25° C ±1, e fotoperíodo de 16 horas.

Decorridos 30 dias foram avaliados a altura e largura dos calos. O experimento constituiu em delineamento inteiramente casualizado com oito 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 tab. 1, observa-se o resumo da análise de variância para os fatores avaliados no terceiro subcultivo. Como observado às duas características avaliadas foram significativas. Para as características avaliadas, o híbrido AL x TO 153 (Tab. 2) foi o que apresentou maior altura e largura, com 7,17 mm e 11,66 mm, respectivamente, diferindo dos demais híbridos.

As interações entre auxinas e citocininas desempenham um papel importante na resposta *in vitro* do explante podendo interferir no crescimento e desenvolvimento de calos. As concentrações de 2,5 mg.L<sup>-1</sup> de BAP, 3,0 mg.L<sup>-1</sup> de ANA e 1,0 mg.L<sup>-1</sup> de GA<sub>3</sub> proporcionaram melhor desenvolvimento para o AL x TO 153, além disso, a relação



# 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](http://www.fepeg.unimontes.br)

auxina/citocinina, quanto à indução de calos pode ser favorecida pelo genótipo empregado Pescador et al. [4], outro fator que pode ter favorecido o melhor desenvolvimento desse híbrido em relação aos demais nesse subcultivo. Blando *et al.* [5] 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 mM de cinetina). Já Flores *et al.* [6] obteve 100% de calos nas cvs. Chandler e Konvoy-Cascata empregando de 3-15 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.

O ácido giberélico na presença de citocinina estimula a diferenciação celular Engelke *et al.* [7]. No entanto, quando a giberelina é adicionado ao meio de cultura, frequentemente, produz efeitos similares aos das auxinas Pasqual [8].

O desenvolvimento dos explantes nestes subcultivo pode não ter obtido resposta superiores devido a sucessivas repicagens dos calos, que pode ter estabilizado o crescimento dos mesmos. Segundo Rodrigues [9], O balanço hormonal obtido entre os níveis de citocininas e auxinas, exógenas e endógenas do calo, podem tanto estimular a proliferação celular como exercer um efeito antagônico, reduzindo a multiplicação dos mesmos.

## Conclusão

O híbrido Aleluia x Toyonoka 153 é o mais responsivo à indução de calos, e obteve maior crescimento destes nos três subcultivos.

## Agradecimentos

A FAPEMIG pelo apoio financeiro.

## Referências

- [1] BOXUS P.H., 1974. The production of strawberry plants by in vitro propagation. Hort. Sci. 49: 209-210. BOXUS, P.; QUOIRIN, M.; LAINE, J. M. Large scale propagation of strawberry plants from tissue culture. In: REINERT, J.; BAJAJ, Y. P. S. Applied and fundamental aspects of plant cell, tissue, and organ culture. Berlin: Spring-Verlag, 1977. Cap. 7. p. 130- 143.
- [2] SADO, M. Efeito do 2,4-D na calogênese de *Senna spectabilis* (DC) Irwin et Barn (Leguminosae) e seus compostos de reserva. 2009. 90p. Dissertação (Mestrado em Biodiversidade Vegetal e Meio Ambiente). Instituto de Botânica da Secretaria de Estado do Meio Ambiente. São Paulo. 2009.
- [3] MURASHIGE, T. e SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, v.15, p.473-497, 1962.
- [4] PESCADOR, R. ARAÚJO, P. S.; MAAS, C. H.; REBELO, R. A.; GIOTTO, C. R.; WENDHAUSEN JR., R.; LARGURA, G.; TAVARES, L. B. B. Biotecnologia da *Piper hispidinervium* – Pimenta longa. *Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento*, v.15, p. 18-23, 2000
- [5] BLANDO, F.; NIGLIO, A.; FRATTARELLI, A. Cell suspension culture in strawberry: growth characterization and variability. *Acta Hort.*, v.336, p.257-262, 1993.
- [6] 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.
- [7] ENGELKE, A.L.; HAMZI, H.Q.; SKOOG, F. Cytokinin-gibberellin regulation of shoot development and leaf form in tobacco plantlets. *American Journal of Botany*, v.60, n.6, p.491-495, July 1973
- [8] PASQUAL, M. FAEPE/UFLA, 2001. 127 p. Textos acadêmicos: Meios de cultura.
- [9] RODRIGUES, F. R.; ALMEIDA, W. A. B. Calogênese em *Cissis sicyoides* L. a partir de segmentos foliares visando à produção de metabólitos in vitro. *Revista Brasileira de Plantas Medicinai, Botucatu*, v.12, n.3, p.333-340, 2010.



**Tabela 1.** Análise de variância para as características altura (mm) e largura (mm) dos híbridos de morangueiro desenvolvidas pela EPAMIG/URNM no terceiro subcultivo.

Fontes de Variação	GL	Quadrado Médio	
		Altura (mm)	Largura (mm)
Híbridos	3	33,21*	159,38*
Erro	218	3,9	8,71
Total	221		
CV (%)		30,11	28,52
Média		6,56	10,34

\* 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 obtidos no terceiro subcultivo.

Híbridos	Altura	Largura
AL x TO 153	7,17a	11,66a
OG x TO 55	6,00ab	9,12b
TO x SC 13	5,84b	8,91b
CR x SC 9	5,65b	7,79b

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