

CIRCULAR TÉCNICA

n. 168 - outubro - 2012

ISSN 0103-4413



Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais
Departamento de Publicações

Av. José Cândido da Silveira, 1.647 - União - 31170-495
Belo Horizonte - MG - site: www.epamig.br - Tel. (31) 3489-5000
Disponível no site, em Publicações



Crescimento diferencial de calos em clones de morango produzidos pela EPAMIG¹

Luciana Nogueira Londe²
Izabela Cristina Pires Gomes³
Annanda Mendes Costa⁴
Gabriel Belfort Rodrigues⁵
Emerson Brito Ribeiro⁶

INTRODUÇÃO

O morangueiro pertence à família das Rosáceas. É uma planta herbácea, rasteira, de porte pequeno e que forma pequenas touceiras. Trata-se de um híbrido obtido do cruzamento de duas espécies selvagens, *Fragaria chiloensis*, de origem no continente americano, e *Fragaria virginiana*, originária do continente europeu (BORDIGNON JÚNIOR, 2008).

Para a indução da formação de calos, muitas vezes é necessário o suprimento exógeno de reguladores de crescimento. A necessidade do regulador, no que diz respeito a tipo, concentração, relação auxina/citocinina, depende do genótipo e do conteúdo endógeno de hormônio (VIEITEZ; SAN JOSÉ, 1996).

A definição de metodologia de obtenção de clones de morangueiro pode ser uma ferramenta valiosa para o melhoramento tradicional de cultivares desta espécie.

O presente estudo teve como objetivo avaliar o crescimento de calos *in vitro* das variedades do morangueiro (*Fragaria x ananassa*): Aleluia x Toyonoka 153; Oso Grande x Toyonoka 55; Toyonoka x Sweet Charlie 13; Camino Real x Sweet Charlie 9, melhoradas na EPAMIG.

DESENVOLVIMENTO

Este experimento foi conduzido no Laboratório de Biotecnologia da EPAMIG Norte de Minas, situada em Nova Porteira, MG.

Os explantes utilizados foram obtidos de cruzamentos realizados na EPAMIG Norte de Minas: Aleluia x Toyonoka 153 (AL X TO), Oso Grande x Toyonoka 55 (OG X TO), Toyonoka x Sweet Charlie 13 (TO X SC), Camino Real x Sweet Charlie 9 (CR X SC). Os explantes foram desinfestados por

¹Circular Técnica produzida pela EPAMIG Norte de Minas. Tel.: (38) 3834-1760. Correio eletrônico: ctnm@epamig.br

²Bióloga, D.Sc., Pesq. EPAMIG Norte de Minas, Caixa Postal 12, CEP 38525-000 Nova Porteira-MG. Correio eletrônico: luciana@epamig.br

³Graduanda Agronomia UNIMONTES-Campus Janaúba, Caixa Postal 91, CEP 39440-000 Janaúba-MG. Correio eletrônico: belapgomes@yahoo.com.br

⁴Graduanda Agronomia UNIMONTES-Campus Janaúba, Caixa Postal 91, CEP 39440-000 Janaúba-MG. Correio eletrônico: annanda14@gmail.com

⁵Eng^o Agr^o, Pós-Doutorando, Pesq. EPAMIG Norte de Minas, Caixa Postal 12, CEP 38525-000 Nova Porteira-MG. Correio eletrônico: gabelfort@yahoo.com

⁶Téc. Química, EPAMIG Norte de Minas, Caixa Postal 12, CEP 38525-000 Nova Porteira-MG. Correio eletrônico: britorib@hotmail.com

imersão em estreptomicina e Derosal por 25 minutos, em álcool puro por 1 minuto, em lisoforme (formaldeído) por 7 minutos e em água sanitária com 2 gotas de Tween 20 por 25 minutos sobre agitação constante, após cada imersão foi feita a triplíce lavagem com água destilada autoclavada. Para a indução de calos foram utilizados como explantes o tecido foliar, sem a nervura central.

Os calos foram cultivados em meio de cultura básico MS (MURASHIGE ; SKOOG, 1962), e subcultivados a cada trinta dias, em meio MS, suplementados com diferentes concentrações de 6-benzilamonipurina (BAP), ácido naftalenoacético (ANA) e ácido giberélico (GA_3), constituindo os seguintes tratamentos:

- M1 - 1 mg/L de BAP, 0,01 mg/L de ANA e 0,1 mg/L de GA_3 ;
- M2 - 1,5 mg/L de BAP, 0,1 mg/L de ANA, e sem adição de GA_3 ;
- M3 - 2 mg/L de BAP, 1,0 mg/L de ANA e 0,5 mg/L de GA_3 .

As condições de temperatura da sala de crescimento foram de $\pm 25^\circ C$, e fotoperíodo de 16 horas.

Após o período de trinta dias de cada transferência foram feitas avaliações, nas quais foram medidas a altura e a largura dos calos.

O experimento constituiu-se de um fatorial 4x3 em delineamento inteiramente casualizado com oito repetições.

Os dados foram submetidos à análise de normalidade do teste Kolmogorov - Smirnov e, sob normalidade, foram submetidos à análise de variância. Para o efeito de clones e meios, utilizou-se o teste de Tukey a 5%.

No Quadro 1 verifica-se o resumo da análise de variância para os parâmetros avaliados. Observa-se que houve efeito significativo para a interação meios x clones nas duas características avaliadas.

O tratamento com maiores concentrações dos hormônios o meio M3 (Quadro 2), foi o que obteve melhores resultados diferindo significativamente dos demais meios, mostrando assim que maiores concentrações de BAP, ANA e GA_3 proporcionam a formação de calos com maiores diâmetros.

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 (BARRUETO CID, 2000). Blando et al. (1993) relataram que cerca de 90% de explantes fo-

QUADRO 1 - Análise de variância para as características altura e largura dos calos de morangueiro melhorados na EPAMIG Norte de Minas - Nova Porteirinha, MG, 2011

Fontes de variação	Graus de liberdade	Quadro médio	
		Altura (mm)	Largura (mm)
Meios	2	⁽¹⁾ 74,41	⁽¹⁾ 338,18
Clones	3	⁽¹⁾ 86,42	⁽¹⁾ 311,05
Meios x clones	6	6,12ns	7,95
Erro	374	4,27	10,59
Total	385	-	-
CV (%)	-	31,68	29,92
Média	-	6,52	10,88

NOTA: ns - F não significativo a 5% de probabilidade; CV - Coeficiente de variação.

(1) Dados significativos a 5% de probabilidade.

QUADRO 2 - Teste de Tukey para os meios com diferentes concentrações de BAP, ANA e GA_3 na EPAMIG Norte de Minas - Nova Porteirinha, MG, 2011

Tratamento	Altura (mm)	Largura (mm)
M1	5,53c	9,81b
M2	6,55b	10,34b
M3	7,43a	13,39a

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

M1 - 1 mg/L de BAP, 0,01 mg/L de ANA e 0,1 mg/L de GA_3 ; M2 - 1,5 mg/L de BAP, 0,1 mg/L de ANA, e sem adição de GA_3 ; M3 - 2 mg/L de BAP, 1,0 mg/L de ANA e 0,5 mg/L de GA_3 .

BAP - 6-benzilamonipurina; ANA - Ácido naftalenoacético; GA_3 - Ácido giberélico.

liares de morangueiro da cultivar. 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. (1998) obtiveram 100% de calos nas cultivares Chandler e Konvoy-Cascata empregando de 3-15 mM de 2,4-D ou de picloram. Porém esses reguladores utilizados, apesar de bastante eficazes, apresentam um custo mais elevado que o ANA e o BAP, sendo estes mais viáveis economicamente.

O GA_3 na presença de citocinina estimula a diferenciação celular (ENGELKE; HAMZI; SKOOG, 1973). No entanto, quando a giberelina é adicionado ao meio de cultura, frequentemente produz efeitos similares aos das auxinas (PASQUAL, 2001).

O maior diâmetro de calos foi obtido pelo clone Aleluia x Toyonoka 153 (AL X TO), diferindo significativamente dos demais clones (Quadro 3).

QUADRO 3 - Teste de Tukey para a variável clone de morangueiro melhorados na EPAMIG Norte de Minas - Nova Porteirinha, MG, 2011

Clones	Altura (mm)	Largura (mm)
AL x TO 153	7,30a	13,32a
CR x SC 9	5,37b	8,29b
OG x TO 55	5,78b	9,31b
TO x SC 13	5,73b	9,60b

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

Além da relação auxina/citocinina, a indução de calos friáveis pode ser favorecida pelo genótipo empregado (PESCADOR et al., 2000). Jones, Waller e Beech (1988) ao trabalharem com calogênese em oito cultivares de morangueiro, também observaram diferença entre os genótipos.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O meio de cultura contendo 2 mg/L de BAP, 1,0 mg/L de ANA e 0,5 mg/L de GA₃ foi o melhor tratamento para obtenção de calos com maior diâmetro.

O clone Aleluia x Toyonoka 153 (AL x TO 153) foi o mais responsivo às características analisadas.

Dessa forma, esses resultados confirmam a importância do desenvolvimento de protocolos específicos para a indução de calo de acordo com o genótipo em estudo, principalmente para a indução de organogênese indireta.

REFERÊNCIAS

BLANDO, F. et al. Cell suspension culture in strawberry: growth characterization and variability. *Acta Horticulturae*, n.336, p.257-262, 1993.

BARRUETO CID, L.P. (Ed.). **Introdução aos hormônios vegetais**. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2000. 180 p.

BORDIGNON JÚNIOR, C.L. **Análise química de cultivares de morango em diferentes sistemas de cultivo e épocas de colheita**. 2008. 144f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) - Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, 2008.

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.

FLORES, R. et al. Calogênese in vitro de duas cultivares de morangueiro (*Fragaria x ananassa*) a partir de discos foliares. *Revista Brasileira de Agrociência*, Pelotas, v.4, n.1, p.9-14, jan./abr. 1998.

JONES, O.P.; WALLER, B.J.; BEECH, M.G. The production of strawberry plant from callus cultures. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, v.12, n.3, p.235-241, 1988.

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

PASQUAL, M. **Textos acadêmicos: meios de cultura**. Lavras: UFLA, 2001. 127 p.

PESCADOR, R. et al. Biotecnologia da *Piper hispidinervium* – pimenta longa. *Biotecnologia, Ciência & Desenvolvimento*, ano 3, n.15, p.18-23, jul./ago. 2000.

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