

# CIRCULAR TÉCNICA

n. 226 - agosto - 2015

ISSN 0103-4413



Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais  
Departamento de Informação Tecnológica

Av. José Cândido da Silveira, 1.647 - União - 31170-495  
Belo Horizonte - MG - site: www.epamig.br - Tel. (31) 3489-5000



## Estabilidade fenotípica de híbridos de morango in vitro<sup>1</sup>

*Luciana Nogueira Londe<sup>2</sup>  
Rubens Gabriel Caires Campos<sup>3</sup>  
Demerson Arruda Sanglard<sup>4</sup>  
Emerson Brito Ribeiro<sup>5</sup>*

### INTRODUÇÃO

Algumas frutíferas têm a via vegetativa como seu principal método de multiplicação, em função da baixa viabilidade ou esterilidade de suas sementes, ou para assegurar a fidelidade genotípica, no caso dos híbridos que ainda possuem identidade instável, permitindo que genótipos com características desejáveis sejam multiplicados. Segundo Dalagnol (2010), esta estratégia permite a clonagem de genótipos, fixando ganhos genéticos pela captura dos componentes totais da variância genética.

A micropropagação de plantas, definida como a propagação clonal de um genótipo selecionado por técnicas de cultura in vitro, permite obter grande quantidade de matrizes/mudas em curto espaço de tempo e a multiplicação de materiais difíceis de ser obtidos por meios tradicionais. Teoricamente, esta clonagem é altamente fidedigna. Contudo, mutantes ou variantes podem ocorrer durante o processo (CHUANG et al., 2009). Normalmente espera-se pouca probabilidade de ocorrência de variações, não sendo descartada a manifestação destas, ainda que por sucessivos ciclos clonais oriundos de única fonte.

Para Dalagnol (2010), a fidelidade genotípica é um dos fatores considerados quando se analisa a qualidade das mudas. Assim, conhecer este fenô-

meno tem não só um apelo científico, como também uma aplicação prática, de grande importância, uma vez que várias outras culturas são micropropagadas, sendo responsáveis por considerável volume na produção e na renda no setor.

Dessa forma, o objetivo com este trabalho foi avaliar a estabilidade fenotípica dos híbridos por três ciclos sucessivos in vitro do morangueiro.

### CULTIVO IN VITRO DE DIFERENTES CRUZAMENTOS DE MORANGUEIRO

O experimento foi realizado no Laboratório de Biotecnologia da EPAMIG Norte de Minas, em Nova Porteirinha, MG. Foram utilizados dez híbridos interespecíficos obtidos por dialelo completo, os quais: Dover x Aleluia (DO.AL); Caminho Real x Sweet Charlie (CR.SC); Toyonoka x Sweet Charlie (TO.SC); Caminho Real x Toyonoka (CR.TO) e Aleluia x Sweet Charlie (AL.SC).

Gemas coletadas dos estolões obtidos via propagação convencional no primeiro ciclo foram utilizadas. Para o preparo e isolamento da gema foi feita lavagem com água e detergente neutro, em seguida colocada em câmara de fluxo laminar para imersão em álcool 70% durante 15 segundos; imersão em solução de hipoclorito de sódio 1,0% durante

<sup>1</sup>Circular Técnica produzida pela EPAMIG Norte de Minas, (38) 3834-1760, ctnm@epamig.br

<sup>2</sup>Bióloga, D.Sc., Pesq. EPAMIG Norte de Minas/Bolsista FAPEMIG, Nova Porteirinha, MG, luciana@epamig.br

<sup>3</sup>Engº Agrº, Mestrando Produção Vegetal UFMG-ICA, Montes Claros, MG, eng.agro.rubens@gmail.com

<sup>4</sup>Biólogo, D.Sc., Pesq. UFMG-ICA, Montes Claros, MG, demerson.ufmg@gmail.com

<sup>5</sup>Téc. Química, EPAMIG Norte de Minas, Nova Porteirinha, MG, britorib@hotmail.com

5 minutos; tríplice lavagem com água deionizada esterilizada e solução de ácido ascórbico (0,5 g/L) por 15 minutos.

Os ápices caulinares foram extraídos em tamanho próximo a 0,2 mm. Para o ciclo I, o meio utilizado foi o MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962) por 30 dias, e os outros ciclos (II e III) foram suplementados com 1 mg/L de 6-benzilaminopurina (BAP) ajustado para pH 5,8, mantidos por igual período. Foram isolados cinco meristemas por frasco com 30 mL de meio de cultura para cada ciclo. O propágulo que daria continuidade era escolhido aleatoriamente. Entre cada avaliação, os frascos foram mantidos em sala de crescimento sob intensidade luminosa de 20 mE/m<sup>2</sup>/s, temperatura de 25 ± 2 °C e fotoperíodo de 16 horas. Foram avaliados número de propágulos, número de folhas e tamanho. Os tratamentos foram dispostos em delineamento inteiramente ao acaso, com três repetições, sendo as unidades experimentais constituídas por um frasco contendo cinco explantes (Quadro 1). Os resultados foram submetidos às análises estatísticas de variância e de comparação de médias, por meio do teste de Tukey, a 5% de probabilidade, utilizando-se o software estatístico SAS.

Para o número de propágulos, observou-se que os híbridos CR.SC e TO.SC não sofreram variações em relação ao demais durante os três ciclos. Em relação ao número de folhas, os híbridos CR.TO e CR.SC também não obtiveram variações significativas. Além disso, para a variável tamanho, nenhum dos híbridos passou a variar entre os ciclos, ocorren-

do variação apenas entre os híbridos. O número pequeno de ciclos ainda não é suficiente para concluir se as alterações observadas para número de propágulos e número de folhas são constantes ou não, havendo necessidade de observar maior número de ciclos.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

O híbrido CR.SC foi o único que não sofreu qualquer variação entre os ciclos.

A variação observada entre híbridos nos induz à necessidade de realizar novos protocolos para a elaboração de meio de cultivo in vitro por híbrido e não por cultura, para que diminua esse efeito de variação entre os clones e para que as características desejadas dos genótipos não sejam perdidas nos próximos subcultivos clonais.

Ainda não é possível afirmar o efeito da variação somaclonal sem o uso de marcadores moleculares para confirmação. Há também a possibilidade de, após estudos moleculares, não haver justificativa nas variações aferidas que não possam ser explicadas por mudanças nas sequências do DNA. A este fenômeno dá-se o nome de efeito epigenético (RICHARDS, 2006; BIRD, 2007).

## REFERÊNCIAS

BIRD, A. Perceptions of epigenetics. *Nature*, London, v.447, n.7143, p.396-398, May 2007.

QUADRO 1 - Valores médios para número de propágulos, número de frutos e tamanho de híbridos de morango

Variável	Ciclo	Híbrido				
		AL.SC	CR.TO	DO.AL	TO.SC	CR.SC
Número de propágulos	I	2,00 abB	3,34 aA	1,34 bB	1,67 abA	3,00 abA
	II	3,34 aAB	1,00 bB	2,67 abB	1,00 bA	2,34 abA
	III	3,67 abA	2,00bAB	5,34 bA	2,00 bA	2,67 bA
Número de folhas	I	4,34 aC	5,00 aA	3,34 aB	2,67 aB	5,00 aA
	II	8,67 aB	4,00 bcA	4,00 bcB	3,00 cB	7,0 abA
	III	11,67 aA	5,00 bA	13,34 aA	15,00 aA	6,34 aA
Tamanho (mm)	I	9,00 aA	11,34 aA	7,34 aA	10,67 aA	12,00 aA
	II	8,67 bA	14,34 aA	11,34 abA	10,00 abA	9,34 abA
	III	9,34 aA	13,67 aA	8,67 aA	12,67 aA	9,67 aA

NOTA: AL.SC - Aleluia x Sweet Charlie; CR.TO - Caminho Real x Toyonoka; DO.AL - Dover x Aleluia; TO.SC - Toyonoka x Sweet Charlie; CR.SC - Caminho Real x Sweet Charlie.

Médias seguidas pela mesma letra minúscula nas linhas não diferem entre si e maiúsculas nas colunas, não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

- CHUANG, S.J. et al. Detection of somaclonal variation in micro-propagated *Echinacea purpurea* using AFLP marker. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v.120, n.1, p.121-126, 2009.
- DALAGNOL, G.L. **Caracterização da variação genética e epigenética em plantas de macieira e morangueiro obtidas por meio de propagação vegetativa convencional e micropropagação**. 156p. Tese (Doutorado em Recursos Genéticos Vegetais) - Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC, 2010.
- 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, July 1962.
- RICHARDS, E.J. Inherited epigenetic variation: revisiting soft inheritance. **Nature Review Genetics**, London, v.7, n.5, p.395-401, May 2006.