

Germinação e Indução de Brotações *in vitro* Utilizando Diferentes Reguladores Vegetais em Mangabeira (*Hancornia speciosa*)

Cássia da Silva Sousa¹, Maria Josirene Souza Moreira², Lucimário Pereira Bastos³, Maria Angélica Pereira de Carvalho Costa⁴, Moema Angélica Chaves da Rocha⁵, Daniela de Souza Hansen⁶

Introdução

A diversidade vegetal brasileira, abrange cerca de 60 mil espécies, incluindo entre elas 500 espécies de frutíferas nativas, na maioria pouco estudada [1]. Dentre estas a mangabeira (*Hancornia speciosa* Gómez) surge como mais uma alternativa para a diversificação da produção de frutas bem como seus produtos, tendo a vantagem de ser uma espécie endêmica do Brasil.

A propagação da maioria das espécies nativas tem sido dificultada devido à recalcitrância de suas sementes e, diante deste fato, técnicas de propagação *in vitro* têm sido bastante utilizadas. A capacidade dos tecidos vegetais cultivados *in vitro* em formar gemas, raízes ou embriões somáticos têm despertado a atenção de pesquisadores, pela sua grande aplicação prática e importância para o avanço dos conhecimentos das áreas de Fisiologia, Bioquímica e Genética de planta [2].

Várias pesquisas utilizando meristemas, gemas ou segmentos do caule vêm sendo realizadas visando à propagação de fruteira [3], entretanto trabalhos objetivando induzir a regeneração *in vitro* de brotações em espécies lenhosas, como a mangabeira, ainda são poucos.

Objetivou-se verificar a germinação e indução *in vitro* de brotações adventícias em mangabeira utilizando diferentes meios de cultivo.

Material e métodos

O ensaio foi conduzido no Laboratório de Cultura de Tecidos do Centro de Ciências Agrárias, Biológicas e Ambientais da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia - UFRB.

Sementes de mangabeira, após desinfestação em solução de hipoclorito de sódio (2,5%) e água (2:1), durante 15 minutos, foram colocadas para germinarem em meios: a) MS (Murashige & Skoog) [4] básico com adição de 1 mgL⁻¹ de carvão ativado; b) MS sem a adição

de carvão ativado e c) Vermiculita umedecida com o meio MS líquido, sem carvão ativado. Para todos os meios o pH foi ajustado para 5,7±0,1.

O cultivo foi realizado em câmara de crescimento à temperatura de 27 ± 2°C, com fotoperíodo de 16 horas e intensidade luminosa de 1500 lux.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com três tratamentos e quatro repetições com 25 sementes por parcela. Avaliou-se a percentagem de germinação 90 dias após o início da germinação, índice de velocidade de germinação, comprimento das plantas, matéria seca da parte aérea e raiz.

Para a organogênese, foram utilizados como explantes segmentos internodais obtidos a partir de sementes germinadas *in vitro*, introduzidos nos seguintes meios de cultura: meio MS básico, suplementado com 30 gL⁻¹ de sacarose, 8 gL⁻¹ de ágar, benilaminopurina-BAP nas concentrações 0,0; 1,0; e 2,0 mg.L⁻¹ e ácido indolacético-AIA nas concentrações 0,0; 0,25; 0,50 mgL⁻¹, onde estudou-se os efeitos isolados e combinados, e pH ajustado para 5,7±0,1. Estes segmentos foram numerados de acordo com a proximidade em relação ao ápice, para que posteriormente se possa discriminar a existência de zonas com maior potencial organogênico e encubados sob as mesmas condições mencionadas anteriormente.

Os dados obtidos foram analisados estatisticamente, quanto a capacidade de regeneração de plantas do material vegetal, com base no delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 3x3 com dez repetições distribuídas em dez frascos com 20 mL do meio de cultura, contendo quatro explantes cada, totalizando 40 explantes.

Resultados e discussão

Analisando os diferentes meios de germinação *in vitro*, verifica-se que não houve diferença significativa (Fig.1). Resultados semelhantes foram encontrados por Pinheiro

1. Graduanda do Curso de Engenharia Agrônoma do Centro de Ciências Agrárias, Biológicas e Ambientais da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, C. P. 082, CEP: 44380-000. Cruz das Almas – BA. E-mail: agroca2004@yahoo.com.br.

2. Mestranda do Centro de Ciências Agrárias, Biológicas e Ambientais da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, C.P. 082. CEP: 44380-000. Cruz das Almas – BA. jmoreira28@yahoo.com.br.

3. Graduando do Curso de Engenharia Agrônoma do Centro de Ciências Agrárias, Biológicas e Ambientais da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, C. P. 082, CEP: 44380-000. Cruz das Almas – BA. E-mail: agronero@yahoo.com.br.

4. Professora Adjunta do Centro de Ciências Agrárias, Biológicas e Ambientais da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, C. P. 082, CEP: 44380-000. Cruz das Almas – BA. mapcosta@ufba.br.

5. Doutoranda do Centro de Ciências Agrárias, Biológicas e Ambientais da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, C.P. 082. CEP: 44380-000. Cruz das Almas – BA. moemachaves@yahoo.com.br.

6. Engenheira Agrônoma, Mestre em Ciências Agrárias. Pesquisadora do Centro de Ciências Agrárias, Biológicas e Ambientais da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, C. P. 082, CEP: 44380-000. Cruz das Almas – BA. hansen@ufba.br.

Apoio financeiro: CAPES, CNPq e FAPESB.

et al. [5], que comparou a germinação *in vitro* de sementes de mangabeira em meios MS líquido MS sólido, água de coco e água destilada.

Normalmente a porcentagem de germinação de sementes de mangaba é baixa, devido não apenas a presença de inibidores na polpa com também as mesmas serem recalcitrantes [6].

As taxas obtidas nos meios de cultura estudadas são justificadas, provavelmente devido a maior disponibilidade de macro e micronutrientes, bem como o cultivo *in vitro* proporcionar a manutenção do teor de umidade das sementes.

Quanto à velocidade de germinação também não foi verificada diferenças significativas, apesar das sementes incubadas no meio MS líquido com vermiculita iniciarem a germinação aos 15 dias do início do experimento (Tab. 1), enquanto nos meios sólidos o início da germinação ocorreu aos 30 dias. As plântulas oriundas do meio com vermiculita apresentaram maior comprimento (15 cm) quando comparado ao meio MS sólido (10 cm) independente do carvão ativado, e maior peso seco da raiz (Fig. 2), aspecto este devido a grande porosidade proporcionada pela vermiculita.

Para a organogênese a combinação de 1 mgL⁻¹ e 0,5 mgL⁻¹ de AIA é a que proporciona melhor resposta organogênica dos explantes de mangabeira, independente da posição do segmento internodal. Um aspecto interessante observado, é que apesar de muitos explantes formarem gemas, necessariamente nem todas as gemas são convertidas em plantas (Tab. 2). Possivelmente as células apresentam baixa competência para responder a ação dos hormônios, comprometendo a determinação das mesmas. Contudo, pouco se conhece em relação aos fatores envolvidos na aquisição da competência para organogênese [7].

A falha de competência de um tecido poderia refletir, portanto, a falta de receptores para a classe hormonal que irá induzir o processo organogenético. Outro fator associado à resposta organogênica seria o próprio metabolismo hormonal dos explantes, pois é ele que irá determinar, em última análise, o balanço hormonal endógeno para indução da organogênese [8]. Tanto a aquisição de “competência” quanto à “determinação” são

reflexos da expressão diferencial de genes envolvidos nos processos de desenvolvimento [9].

Agradecimentos

Ao Centro de Ciências Agrárias, Biológicas e Ambientais da UFRB;

Ao Centro Nacional de Desenvolvimento e Pesquisa Científica - CNPq;

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES;

A Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia – FAPESB.

Referências

- [1] VALOIS, A. C. C. A biodiversidade e os recursos genéticos. In: QUEIROZ, M. A.; RAMOS, S. R. R. 1999. *Recursos genéticos e melhoramento de plantas para o Nordeste brasileiro*. Petrolina: Embrapa-CPATSA. (Livro eletrônico).
- [2] GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. 1998. *Cultura de tecidos e transformação genética de plantas*. Embrapa-SPI, 1.: 184-250.
- [3] JORDAN, M. 1988. Multiple shoot formation and rhizogenesis from cherimola, (*Annona cherimola* L.) hypocotyls and petiole explants. *Gartenbauwissenschaft*, Stuttgart, 53: n.5, 234-237.
- [4] MURASHIGE, T.; SKOOG, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, 15: 473-497.
- [5] PINHEIRO, C. S. R.; MEDEIROS, D. N.; MACEDO, C. E. C. & ALLOUFA, M. I. 2001. Germinação *in vitro* de mangabeira (*Hancornia speciosa* Gómez) em diferentes meios de cultura. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 23: 413-416.
- [6] LORENZI, H. 1992. *Árvores brasileiras: Manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil*. Nova Odessa, SP: Plantarum, 352p.
- [7] KERBAUY, G.B. Competência e determinação celular em cultura de células e tecidos de plantas. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L.S. & BUSO, J.A (Eds). 1999. *Cultura de tecidos e transformação genética de plantas*. Brasília, CBAB/EMBRAPA, 519-531.
- [8] CARRY, A.; UTTAMCHANDANI, S. J.; SMETS, R.; VAN ONCKELEN, H. A. & HOWELL, S. H. H. 2001. Arabidopsis mutants with increased organ regeneration in tissue culture are more competent to respond to hormonal signals. *Planta*, 213:700-707.
- [9] PERES, L.E. *Revista Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento*. Ano IV, 2002.

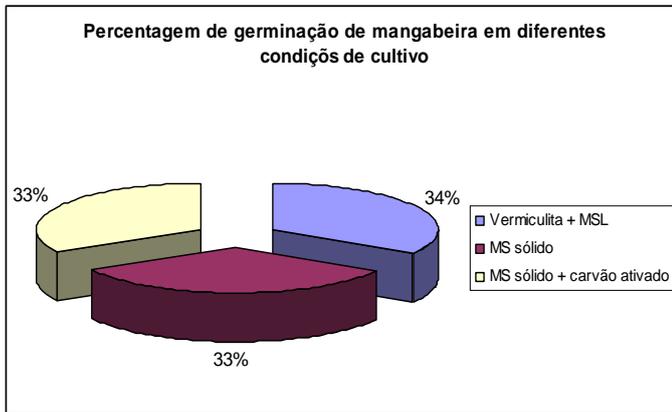


Figura 1. Porcentagem de germinação em mangabeira sob diferentes condições de cultivo.

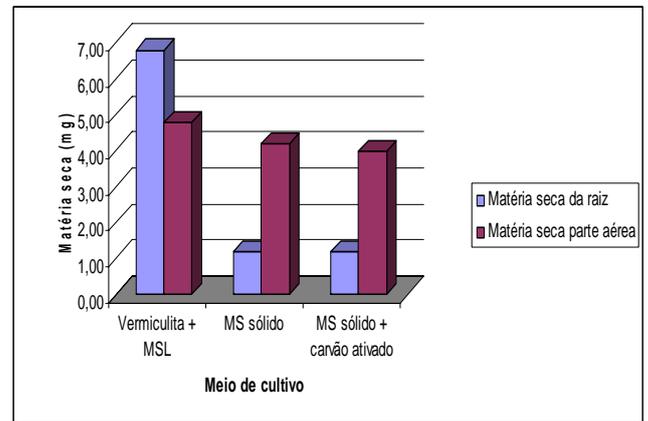


Figura 2. Matéria seca de parte aérea de plântulas de mangabeira.

Tabela 1. Período de germinação das sementes de mangabeira em diferentes condições de cultivo.

Meios de cultivo	Início da germinação (dias)	Término da germinação (dias)
Vermiculita + MS líquido	15 ± 2	30 ± 2
MS sólido	30 ± 2	68 ± 2
MS sólido + carvão ativado	30 ± 2	68 ± 2

Tabela 2: Influência da posição dos segmentos internodais na resposta *in vitro* de mangabeira em relação ao número de calo formado, desenvolvimento de plantas, desenvolvimento de necrose, intumescimento do explante e formação de gemas, incubados em diferentes combinações de Benzilaminopurina (BAP) e ácido indolacético (AIA).

Meio MS	Variáveis				
	Calo	Planta	Necrose	Intumescido	Gema
Internódio 1	0 (10)	0 (10)	6 (10)	4 (10)	4 (10)
Internódio 2	0 (10)	0 (10)	6 (10)	4 (10)	3 (10)
Internódio 3	0 (10)	0 (10)	7 (10)	3 (10)	3 (10)
Internódio 4	0 (10)	0 (10)	8(10)	3 (10)	2 (10)
MS + 1,0 mgL⁻¹ BAP + 0,5 mgL⁻¹ AIA	Calo	Planta	Necrose	Intumescido	Gema
Internódio 1	0 (10)	0 (10)	9 (10)	1 (10)	1 (10)
Internódio 2	0 (10)	1 (10)	7 (10)	3 (10)	3 (10)
Internódio 3	0 (10)	0 (10)	10 (10)	0 (10)	0 (10)
Internódio 4	0 (10)	0 (10)	9(10)	1 (10)	1 (10)
MS + 1,0 mgL⁻¹ BAP + 0,25 mgL⁻¹ AIA	Calo	Planta	Necrose	Intumescido	Gema
Internódio 1	1 (10)	2 (10)	2 (10)	6 (10)	3 (10)
Internódio 2	1 (10)	1 (10)	3 (10)	5 (10)	1 (10)
Internódio 3	0 (10)	2 (10)	3 (10)	5 (10)	3 (10)
Internódio 4	1 (10)	1 (10)	2(10)	6 (10)	3 (10)
MS + 2,0 mgL⁻¹ BAP + 0,5 mgL⁻¹ AIA	Calo	Planta	Necrose	Intumescido	Gema
Internódio 1	1 (10)	0 (10)	5 (10)	4 (10)	3 (10)
Internódio 2	1 (10)	1 (10)	6 (10)	3 (10)	2 (10)
Internódio 3	1 (10)	0 (10)	6 (10)	3 (10)	2 (10)
Internódio 4	1 (10)	0 (10)	6(10)	3 (10)	2 (10)
MS + 20 mgL⁻¹ BAP + 0,25 mgL⁻¹ AIA	Calo	Planta	Necrose	Intumescido	Gema
Internódio 1	0 (10)	2 (10)	4 (10)	4 (10)	1 (10)
Internódio 2	0 (10)	0 (10)	7 (10)	1 (10)	0 (10)
Internódio 3	0 (10)	0 (10)	7 (10)	1 (10)	0 (10)
Internódio 4	0 (10)	0 (10)	7(10)	1 (10)	0 (10)