

Utilização de miniestacas de mangaba produzidas *In Vivo* e transplantadas *in vitro* para averiguação da adaptação e enraizamento em diferentes constituições de meio de cultura**Use of mangaba miniaccuts produced *In Vivo* and transplanted *in vitro* to determine adaptation and rooting in different constitutions of culture media**

DOI:10.34117/bjdv6n2-207

Recebimento dos originais: 30/12/2019

Aceitação para publicação: 18/02/2020

Muza do Carmo Vieira

Pós Doutoranda Escola de Agronomia da Universidade Federal de Goiás. Téc. Ad. Instituto Federal Goiano - Campus Urutaí - GO.

E-mail: mcvmuza@gmail.com; muza.vieira@ifgoiano.edu.br;

Jaqueline Lima da Conceição Souza

Doutoranda da Escola de Agronomia Universidade Federal de Goiás.

E-mail: jaquelinelima.745@gmail.com; pradoadl@hotmail.com;

Angélica Daiane Lemos do Prado

Doutoranda da Escola de Agronomia Universidade Federal de Goiás.

E-mail: jaquelinelima.745@gmail.com; pradoadl@hotmail.com;

Ana Flávia de Jesus Pinto

Mestranda em Recursos Naturais do Instituto Federal Goiano - Campus Urutaí - GO.

E-mail: anaflaviah15@gmail.com

Cassio Yan Faleiro Silva

Discente em Agronomia Instituto Federal Goiano - Campus Urutaí - GO.

E-mail: cassioyan@hotmail.com

Kleibe Bertoni Cardoso Lemes

Doutorando em Melhoramento Genético da Universidade Federal de Goiás.

E-mail: kleibehp@ufg.br

Eli Regina Barboza de Souza

Prof. Dra. Escola de Agronomia da Universidade Federal de Goiás.

E-mail: eliregina1@gmail.com

RESUMO

O Cerrado detém 5% da biodiversidade do planeta e é considerada a savana mais rica do mundo. Nesse Bioma complexo está a mangaba. Frutífera nativa que produz frutos nutritivos e apreciados pela população. Por serem coletados ainda de forma extrativista os frutos, é necessário o estudo sobre metodologias que abordem a propagação vegetativa dessa espécie para sua introdução ao cultivo e também sua conservação. O objetivo do trabalho foi averiguar os índices de sobrevivência para adaptação, manutenção e enraizamento, bem como dos tipos de agentes contaminantes, de miniestacas de mangaba *in vitro* em diferentes meios de cultura de mudas produzidas *in vivo*. Miniestacas de mangaba *in vivo* de genótipos de três variedades de mangabas (*gardneri*, *cuyabensis* e *pubescens*) foram inoculadas em tubo de ensaio contendo 30 mL do meio de cultura MS com metade da concentração de sais suplementada com vitaminas do meio. Foram avaliados aos 5 e 90 e 180 dias após a inoculação os índices de agentes fúngicos, índice de agentes bacterianos, índice de raízes, número de brotações, número de par de folhas, índice de calos na base, e índice de sobrevivência. Os dados foram analisados obtendo-se o índice de ocorrência de cada evento. As miniestacas dos genótipos de mangaba do Cerrado apresentaram-se promissores quanto à adaptação e enraizamento *in vitro*.

Palavras chave: micropropagação, ácido naftalenoacético, germoplasma.

ABSTRACT

The Cerrado holds 5% of the planet's biodiversity and is considered the richest savanna in the world. In this complex Biome is the mangaba. Native fruit that produces nutritious fruits and appreciated by the population. Because the fruits are still collected in an extractive manner, it is necessary to study methodologies that address the vegetative propagation of this species for its introduction to cultivation and also its conservation. The objective of the work was to investigate the survival rates for adaptation, maintenance and rooting, as well as the types of contaminating agents, of mangaba mini cuttings *in vitro* in different culture media of seedlings produced *in vivo*. *In vivo* minicuttings of mangaba from genotypes of three varieties of mangabas (*gardneri*, *cuyabensis* and *pubescens*) were inoculated in a test tube containing 30 ml of MS culture medium with half the concentration of salts supplemented with vitamins in the medium. The rates of fungal agents, index of bacterial agents, index of roots, number of shoots, number of leaves, callus index at the base, and survival rate were evaluated at 5, 90 and 180 days after inoculation. The data were analyzed by obtaining the occurrence index of each event. The mini cuttings of the Cerrado mangaba genotypes showed promise in terms of *in vitro* adaptation and rooting.

Keywords: micropropagation, naphthalene acetic acid, germplasm.

1 INTRODUÇÃO

O Cerrado detém de 5% da biodiversidade do planeta e é considerada a savana mais rica do mundo (MMA, 2018). Contudo, tem sido alvo de altas taxas de desmatamento o que vêm comprometendo a conservação das populações naturais; e embora seja responsável por 30%

da biodiversidade do país, uma quantidade muito pequena de sua superfície é protegida (FRANÇOSO, 2014).

As frutas nativas brasileiras e, especialmente as de ocorrência na região Centro-Oeste, já eram usadas pelos povos indígenas desde épocas remotas. Essas espécies desempenharam papel fundamental na alimentação dos desbravadores e colonizadores da região, principalmente, no que se refere ao fornecimento de vitaminas e de alguns minerais essenciais à saúde (AGOSTINI-COSTA et al., 2006).

A palavra mangaba é de origem indígena que significa “coisa boa de comer”. É uma árvore nativa do Brasil e de porte médio, que varia de 2,0 m a 10,0 m de altura, e pode chegar até 15,0 m. Essa apocinácea é também conhecida por mangabeira, mangabiba, mangaíba, mangaíba-uva e mangabeira-de-minas (GUERRA et al., 2002). E ainda, mambaga, mangabeira, mangabeira-do-norte, mangabeira-do-cerrado e fruta-de-doente (AGOSTINI-COSTA et al., 2006).

Como sua utilização tem sido de forma extrativista, e muitas vezes predatória, torna-se imprescindível a regulamentação de sua exploração tendo em vista o pouco conhecimento sobre a genética, produtividade, técnicas de cultivo, crescimento e desenvolvimento dessa planta (SILVA et al., 1997).

A aplicação de técnicas de cultura de tecidos em fruteiras do Cerrado pode resolver ou minimizar entraves por meio da multiplicação sistematizada de plantas; intercâmbio de material genético; resgate de germoplasma e preservação de material ameaçado; redução no período de germinação; isenção de pragas e doenças e; uniformização nas plântulas obtidas (LEMOS et al., 2002).

A utilização de material vegetativo originado do campo para inoculação *in vitro*, pode trazer consigo benefícios relevantes para os estudos com nativas com vistas à indução ao melhoramento e, ou, à conservação e manutenção de bancos de germoplasmas. Nesse interim, as miniestacas produzidas em condições naturais do ambiente, podem trazer consigo agentes contaminantes podendo ser estes limitantes no cultivo *in vitro* de determinadas espécies frutíferas nativas.

Todavia é necessário o desenvolvimento de estudos sobre a capacidade de adaptação de material vegetal de mudas jovens vindas do campo e seu cultivo *in vitro*. Outro questionamento interessante é concernente ao enraizamento dessas miniestacas quando submetidas a ambiente controlado e a diferentes doses de auxinas. Assim, estudos que

priorizem essas metodologias podem contribuir para a evolução no processo de produção de mudas por via vegetativa.

Dessa forma o objetivo do presente trabalho foi realizar a averiguação dos índices de sobrevivência para adaptação, manutenção e enraizamento, bem como dos tipos de agentes contaminantes, de miniestacas de mangaba *in vitro* em diferentes meios de cultura, a partir de mudas de diferentes genótipos produzidos *in vivo*.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Biotecnologia e Horticultura, da Escola de Agronomia da Universidade Federal de Goiás, com miniestacas de mangaba a partir de mudas obtidas da germinação de sementes *in vivo*. As mudas estavam com 2 pares de folhas e aproximadamente 10 cm de comprimento (Figura 1 A, B). Das mudas foram retiradas miniestacas contendo o ápice caulinar com 3 segmentos (Figura 1 C) nodais e submetidos a assepsia com água e detergente e em seguida, mergulhados em solução de álcool 70% por um minuto e NaClO a 2,2% por 20 minutos. Em fluxo laminar foram enxaguadas em água destilada e autoclavada.

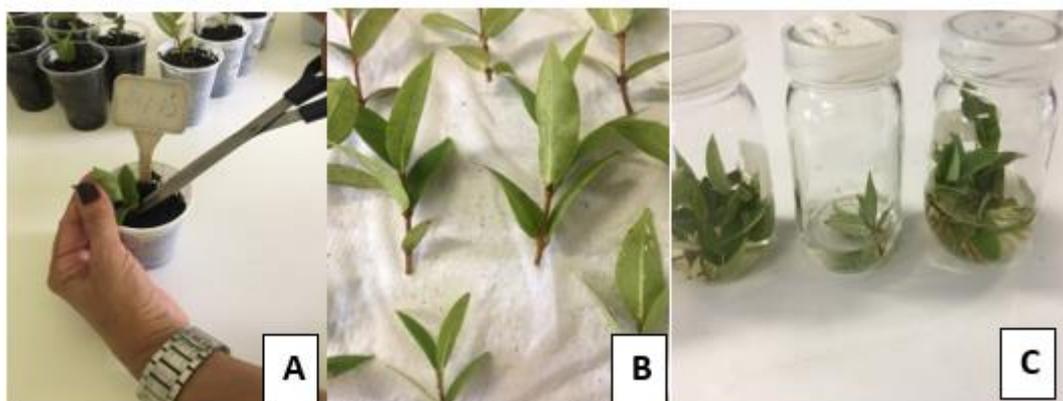


Figura 1 - A) Muda de mangaba cultivada em casa de vegetação; B) Miniestacas de mangabas excisadas; C) Assepsia das miniestacas de genótipos elite de mangabeira do Cerrado. Laboratório de Horticultura da Escola de Agronomia da Universidade Federal de Goiás.

A inoculação foi realizada em tubo de ensaio contendo 30 mL do meio de cultura MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962) com metade da concentração de sais (50%), suplementado com vitaminas do meio acrescido de 30 g L⁻¹; 0,1 mg L⁻¹ de ácido málico e 0,1 mg L⁻¹ de ácido ascórbico. Para a testemunha o meio foi composto de água, ágar a 4 g L⁻¹ e sacarose a 30 g L⁻¹. O pH foi ajustado para 5,8±2 e autoclavados a 120°C.

O estudo foi em embasado em 12 tratamentos, 4 tipos de reagentes; 3 variedades e 2 genótipos, denominados de 38 e 42. Sendo assim: T1 (MS + 100 mg L⁻¹ de ácido acetil salicílico + 1,0 g L⁻¹ de bicarbonato de sódio + água oxigenada volume 10); T2 (MS + 100 mg L⁻¹ de ácido acetil salicílico + 1 g L⁻¹ de bicarbonato de sódio + água oxigenada volume 10 + 0,2 mg L⁻¹ cinetina + 1,0 mg L⁻¹ de ácido naftalenoacético) T3 (MS + 100 mg L⁻¹ de ácido acetil salicílico + 1,0 g L⁻¹ de bicarbonato de sódio + água oxigenada volume 10 + 1,0 mg L⁻¹ de ácido indolbutírico) e T4 (MS + 100 mg L⁻¹ de ácido acetil salicílico + 1 g L⁻¹ de bicarbonato de sódio + água oxigenada volume 10 + 0,2 mg L⁻¹ cinetina + 1,0 mg L⁻¹ paclobutrazol a 0,1 mg L⁻¹) e 2 diferentes genótipos da variedade *cuyabensis*, *gardneri* e *pubescens*. Após a inoculação os tubos foram vedados com parafilme.

As miniestacas foram mantidas em temperatura de 25°C e lâmpadas fluorescentes com 12 horas de fotoperíodo (Figura 3). Cada tratamento foi composto por 4 repetições com um explante contendo 2 segmentos nodais.

A avaliação das miniestacas foram aos 5 e 90 e 180 dias após a inoculação (DAI) e para averiguação do estabelecimento com observações semanais para a determinação dos índices de agentes fúngicos (IAF), índice de agentes bacterianos (IAB), índice de raízes (IR), número de brotações (NB), número de par de folhas (NPF), índice de calos na base (ICB), e índice de sobrevivência (IS).

Os dados foram analisados obtendo-se o índice de ocorrência de cada evento.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Constata-se (Tabela 1) que aos 7 DAI não houve manifestação de brotações e raízes nas variedades e genótipos estudados. Já para o índice de sobrevivência esse foi de 100% nos tratamentos. Quanto à contaminação esta foi alta uma vez que as miniestacas foram coletadas em condições *in vivo*, as quais estavam em telado. Desta forma, as mudas estão mais sujeitas as incidências de esporos de agentes contaminantes. Considerando a importância da conservação de espécies de plantas nativas e a obtenção de plantas com qualidade, percebe-se que as miniestacas se apresentaram viáveis nas condições de cultivo *in vitro* neste período.

Tabela 1 – Índices de agentes contaminantes (IAC), índice de raízes (IR), número de brotações (NB), número de par de folhas (NPF), índice de calos na base (ICB), e índice de sobrevivência (IS) de miniestacas de genótipos elite de diferentes variedades de mangabeira

do Cerrado inoculadas *in vitro* em diferentes constituições de meio de cultura. Laboratório de Biotecnologia da Escola de Agronomia da Universidade Federal de Goiás. Goiânia-GO.

Variedades	<i>gardneri</i>				<i>cuyabensis</i>				<i>pubescens</i>			
	Valores em %											
Tratamentos	IC	NB	IR	IS	IC	NB	IR	IS	IC	NB	IR	IS
T1	70,0	0,0	0,0	100,0	75,0	0,0	0,0	100,0	75,0	0,0	0,0	100,0
T2	75,0	0,0	0,0	100,0	78,0	0,0	0,0	100,0	78,0	0,0	5,0	100,0
T3	90,0	0,0	0,0	100,0	75,0	0,0	0,0	100,0	75,0	0,0	0,0	100,0
T4	95,0	0,0	0,0	100,0	100,0	0,0	0,0	100,0	100,0	0,0	0,0	100,0

Na Figura 1 constata-se que houve contaminação (Figura 2) em todos os tratamentos avaliados. A contaminação é um problema recorrente no cultivo *in vitro* uma vez que os meios são ricos em sacarose e nutrientes. Além disso, as miniestacas são oriundas do campo, portanto, mais expostas a agentes patogênicos.

Neste estudo, averiguou-se que os fungos foram os agentes contaminantes mais expressivos sendo encontrado em todos os tratamentos. Para a ocorrência de bactérias, esta foi confirmada nos tratamentos 1, 2, matriz 38 e no tratamento 1 matriz 42. Castro et al. (2016) em estudos com sementes de *L. pohlii* cultivadas *in vitro* com e sem fungicida e 20 minutos de imersão em ácido sulfúrico (H₂SO₄) observaram taxas de contaminação de 8,33%. Segundo os autores, houve influência do tempo de imersão em H₂SO₄ e do fungicida sobre a germinação e a desinfestação de *L. pohlii*.

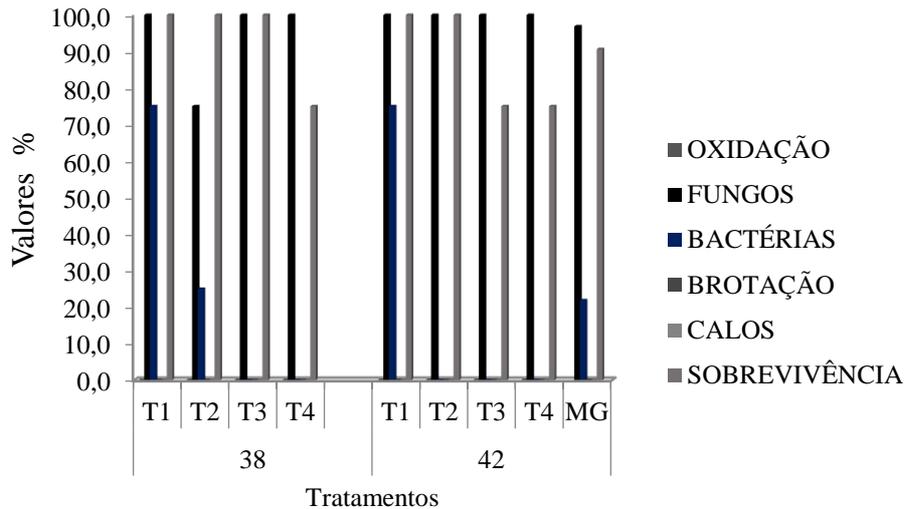


Figura 1 – Índices das variáveis oxidação, contaminação (fungos, bactérias), brotação, calos e sobrevivência de miniestacas de genótipos elite de mangabeira do Cerrado inoculadas *in vitro* em diferentes constituições de meio de cultura. Laboratório de Biotecnologia da Escola de Agronomia da Universidade Federal de Goiás. Goiânia-GO.

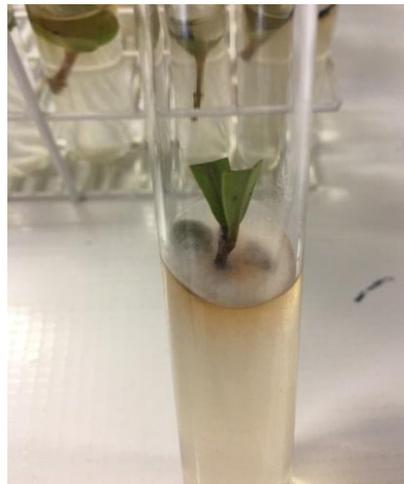


Figura 2 – Contaminação de Miniestacas de Genótipos de mangabeira do Cerrado após 90 dias inoculadas *in vitro* em diferentes constituições de meio de cultura. Laboratório de Biotecnologia da Escola de Agronomia da Universidade Federal de Goiás. Goiânia-GO.

Observou-se que em todos os tratamentos as miniestacas permaneceram viáveis, com sobrevivência variando de 75 a 100%. Apesar de ter observado contaminação, houve enraizamento e sobrevivência das miniestacas inoculadas *in vitro*. É relevante que haja material vegetal conservado *in vitro* de plantas nativas. Esse indicador pode permitir a

sedimentação de novos estudos com base nas condições ideais para o cultivo de espécies ainda não domesticadas, como é o caso da mangaba do Cerrado.



Figura 2 – Miniestacas de genótipos de mangabeira conservados em diferentes constituições de meio de cultura. Laboratório de Biotecnologia da Escola de Agronomia da Universidade Federal de Goiás. Goiânia-GO.

Aos 60 DAI não foi observado índices de oxidação, brotação ou calos. A oxidação pode ter sido minimizada pela adição de ácido cítrico ao meio de cultura, uma vez que a mangaba por ser uma planta lenhosa, possui propensão à liberação de compostos fenólicos quando seus tecidos são submetidos a injúrias. No intuito de adaptar e, ou, otimizar as etapas do processo de micropropagação para diferentes cultivares de bananeira, por meio do controle de oxidação, contaminação, e multiplicação de brotos, Oliveira et al. (2011) observaram que redução da contaminação com uso do sulfato de estreptomicina à concentração de 100 mg L^{-1} e da oxidação com PVP a 4 g L^{-1} .

O meio de cultura T1 para a variedade *cuyabensis* foi o mais promissor para a sobrevivência das miniestacas de mangaba *in vitro* aos 90 DAI (Figura 3). Os meios com menor composição nutricional podem oferecer condições ideais de conservação pela sobrevivência de órgãos e tecidos vegetais, ainda mais ao se tratar de espécies nativas do Cerrado.

Quanto ao enraizamento foi observado que para o genótipo 38 da variedade *cuyabensis* houve manifestação com médias de 50% para os tratamentos 3 e 4, bem como para o genótipo 42 com ocorrência do fenômeno no tratamento 2 com dosagem menor da auxina ANA. As auxinas auxiliam no processo de rizogênese de estacas, todavia encontrar a dosagem e o tipo de auxina é o maior desafio ao se trabalhar com espécies frutíferas. Alguns autores têm trabalhado com a auxina denominada de ácido indolbutírico (AIB) e conseguido êxitos. Em

estudos com micropropagação de um porta-enxerto de maçã 'G. 814' Menguzi et al. (2017) observaram que o maior número de raízes e comprimento foram encontrados nas concentrações de 1,5 e 1,0 mg L⁻¹ de AIB. Eles ainda salientam que no estudo do enraizamento *in vitro* foram observadas diferenças significativas para todas as variáveis, e todas apresentaram comportamento semelhante, em que concentrações acima de 1,5 mg L⁻¹ de AIB proporcionaram uma diminuição na porcentagem de enraizamento, número e comprimento das raízes.

Há vários fatores a serem observados na micropropagação de espécies lenhosas. No trabalho com qualidade de luz e fitoreguladores na multiplicação e enraizamento *in vitro* da amoreira-preta 'Xavante' Pasal et al. (2012) abordam que na presença de AIB, não houve diferenças entre os níveis de qualidade de luz sobre os miniestacas.

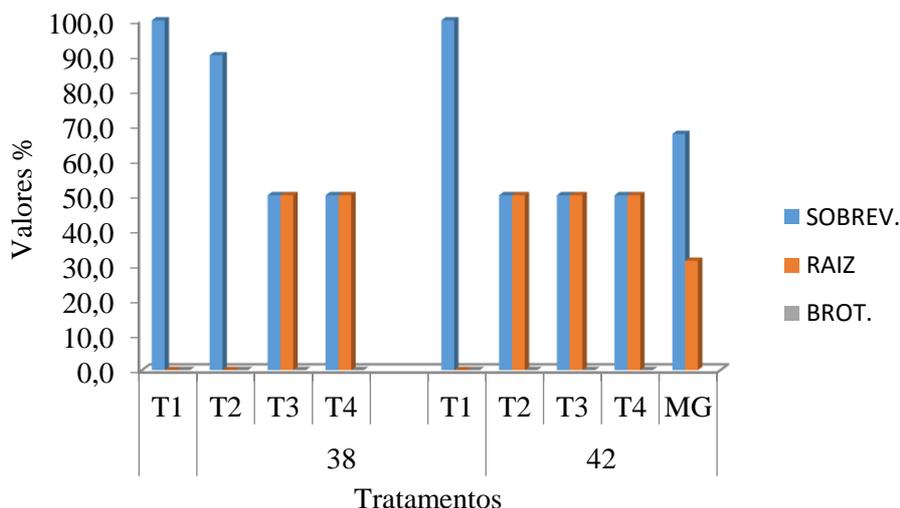


Figura 3 - Índices das variáveis sobrevivência, raiz e brotação, de miniestacas de genótipos elite de mangabeira do Cerrado após 90 dias inoculadas *in vitro* em diferentes constituições de meio de cultura. Laboratório de Biotecnologia da Escola de Agronomia da Universidade Federal de Goiás. Goiânia-GO, 2019.

Sob o aspecto da sobrevivência aos 180 DAI verificou-se os mesmos índices de sobrevivência (Figura 4) das miniestacas dos tratamentos para os genótipos da variedade *cuybensis*. A sobrevivência foi independentemente do número remanescente de folhas.

Quanto ao índice de enraizamento o maior valor encontrado foi no tratamento 4 para os genótipos 38 e 42. Para os demais genótipos das variedades *pubescens* e *gardneri* estes se mantiveram semelhantes com índice de sobrevivência de 50%. Nesse sentido, argumenta que o desenvolvimento e implementação de diferentes técnicas de conservação *in vitro*

proporcionam melhorias para o intercâmbio internacional de germoplasma, para o armazenamento de diferentes formas de cultivo *in vitro* e para produtos gerados pela biotecnologia. Esses métodos também são uma alternativa valiosa para não haver a necessidade de grandes extensões de terras, onde tradicionalmente são mantidas coleções de árvores pertencentes a muitas espécies lenhosas.



Figura 4 - Miniestacas de genótipos elite da variedade *cuyabensis* de mangabeira do Cerrado após 180 dias inoculadas *in vitro* em diferentes constituições de meios de cultura. Laboratório de Biotecnologia da Escola de Agronomia da Universidade Federal de Goiás.

Em trabalho sobre a conservação *in vitro* de mangabeira da região Nordeste do Brasil, Sá et al. (2011) observaram efeito significativo isolado do tempo de cultivo *in vitro* no comprimento das microestacas, na abscisão foliar, na interação da concentração de ácido abscísico e no tipo de vedação de frascos na abscisão foliar. Após 90 dias de cultivo *in vitro*, as microestacas apresentaram maior comprimento e abscisão foliar do que aos 30 dias. É interessante salientar que as microestacas estudadas no trabalho com mangabas do Nordeste, foram oriundas da germinação *in vitro* de sementes.

4 CONCLUSÕES

As miniestacas dos genótipos de mangaba do Cerrado apresentaram-se promissores quanto à adaptação e enraizamento *in vitro*.

O tratamento T1 foi o que melhor se apresentou quanto à sobrevivência das miniestacas aos 90 DAI.

Aos 180 DAI todos os tratamentos da variedade *cuybensis* estavam conservados.

REFERÊNCIAS

AGOSTINI-COSTA, T. da S.; FARIA, J. P.; NAVES, R. V.; VIEIRA, R. F.. Mangaba. In: VIEIRA, R. F.; AGOSTINI-COSTA T. da S.; SILVA, D. B. da; FERREIRA, F. R.; SANOC, S. M. **Frutas nativas da região Centro-Oeste do Brasil**. 1 ed. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2006. p.135-152.

CASTRO, A. C. M.; GUERRA, C. A.; TITON, M. Influência Do Ácido Sulfúrico Associado Com Fungicida Sobre A Germinação E A Contaminação *In vitro* de *Lychnophora pohlii* Sch.Bip. **Revista UNIVAP**. v. 22, n. 40 (2016).

FRANÇOSO R. 2014. **Padrões biogeográficos e composição das comunidades arbóreas do Cerrado brasileiro**. Brasília, Universidade de Brasília. 2014.

GONZÁLEZ-ARNAO, M. T.; GONZALEZ-BENITO, M. E.; DOLCE, N. R.; MARTÍNEZ, C. R. C. Approaches to In Vitro Conservation of Woody Plant Germplasm In: **AHUJA, M. R.**; **MOHAN JAIN, S.** Editors. **Biodiversity and Conservation of Woody Plants** . pp 355-419. 2017.

GUERRA, A. F.; SALVIANO, A.; GOMES, A. C. Avaliação agronômica da mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 17., 2002, Belém. **Anais...**Belém: SBF/CBF, 2002. CD-ROM.

LEMO, E. E. P.; FERREIRA, M. S.; ALENCAR, L. M. C.; RAMALHO NETO, C. E.; ALBUQUERQUE, M. M. Conservação *in vitro* de germoplasma de cana-de-açúcar. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 37, n. 10, p. 1359-1364, 2002.

MENEGUZZI, A.; GONÇALVES, M. J.; CAMARGO, S. S.; GRIMALDI, F.; WEBER, G. C.; RUFATO, L. Micropropagation of the new apple rootstock ‘G. 814’. **Ciência Rural**, v.47, n.6, 2017.

MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE. **O Bioma Cerrado**. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/biomas/cerrado>>. Acesso em: 05 de fev.. 2020.

MOURA, C. F. H.; ALVES, R. E.; FILGUEIRAS, H. A. C.; ARAÚJO, N. C. C.; ALMEIDA, A. S. Quality of fruits native to latin america for processing: mangaba (*Hancornia speciosa* Gomes). **Acta Horticulturae**, Leuven, v. 2, n. 575, p. 549-554, 2002.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised médium for rapid growth and biossays with tabacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, v. 15, p. 473-497, 1962.

SÁ, A. J.; LÉDO, A. S.; LÉDO, C. A. S. Conservação in vitro de mangabeira da região nordeste do Brasil. **Ciência Rural**, v.41, n.1, jan, 2011.