



Anais da XIV Jornada de Iniciação Científica da Embrapa Amazônia Ocidental

*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Amazônia Ocidental
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*

Anais da XIV Jornada de Iniciação Científica da Embrapa Amazônia Ocidental

*Everton Rabelo Cordeiro
Inocencio Junior de Oliveira
Maria Geralda de Souza
Ronaldo Ribeiro de Moraes
Editores Técnicos*

Embrapa
Brasília, DF
2018

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Amazônia Ocidental

Rodovia AM-010, Km 29,
Estrada Manaus/Itacoatiara,
Manaus, AM
69010-970
Caixa Postal 319
Fone: (92) 3303-7800
Fax: (92) 3303-7820
www.embrapa.br

www.embrapa.br/fale-conosco/sac

**Unidade responsável pelo
conteúdo e edição**
Embrapa Amazônia Ocidental

Comitê de Publicações da Unidade

Presidente: *Celso Paulo de Azevedo*
Secretária: *Gleise Maria Teles de Oliveira*
Membros: *Maria Augusta Abtibol Brito de Sousa, Maria Perpétua Beleza Pereira e Ricardo Lopes*

Revisão de texto
Maria Perpétua Beleza Pereira

Normalização bibliográfica
Maria Augusta Abtibol Brito de Sousa
(CRB 11/420)

Capa, projeto gráfico e editoração eletrônica
Gleise Maria Teles de Oliveira

1ª edição
Publicação digitalizada (2018)

Todos os direitos reservados.

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP).

Embrapa Amazônia Ocidental.

Jornada de Iniciação Científica da Embrapa Amazônia Ocidental (14. : 2017: Manaus, AM). Anais da XIV Jornada de Iniciação Científica da Embrapa Amazônia Ocidental; editores, Everton Rabelo Cordeiro.. [et al.]. – Brasília, DF: Embrapa, 2018.

PDF (224 p.).

ISBN 978-85-7035-843-1

1. Iniciação científica. 2. Comunicação científica. 3. Pesquisa. I. Cordeiro, Everton Rabelo. II. Oliveira, Inocencio Junior de. III. Souza, Maria Geralda de. IV. Moraes, Ronaldo Ribeiro de. V. Título. VI. Embrapa Amazônia Ocidental.

CDD 630.72

Resposta de Anteras de Seringueira à Indução de Calogênese Primária

Eduardo José Dias da Silva¹

Everton Rabelo Cordeiro²

Regina Caetano Quisen³

Resumo – A produção in vitro de plantas duplo-haploides de seringueira via cultura de anteras pode proporcionar a produção em uma única geração de linhagens totalmente homocigotas e melhorar assim a eficiência na produção de novas cultivares. O presente trabalho teve como objetivo avaliar a influência de diferentes reguladores de crescimento na produção de calos primários em anteras de genótipos de seringueira selecionados. Anteras de botões florais imaturos, cultivadas em meios de cultura RT com reguladores de crescimento, resultaram em baixa produção de calos primários, não excedendo a 15%, sendo nula na presença de carvão ativado no meio de cultura. Os resultados obtidos permitiram concluir que, em meio RT, o 2,4-D (2,0 mg L⁻¹) associado com KIN (1,0 mg L⁻¹) e AIA (2,0 mg L⁻¹) ou 2,4-D (2,0

¹Bolsista de Iniciação Científica, Pibic/CNPq/Embrapa Amazônia Ocidental, Manaus, AM.

²Engenheiro-agrônomo, D.Sc. em Agronomia (Fitotecnia), pesquisador da Embrapa Amazônia Ocidental, Manaus, AM.

³Engenheira florestal, D.Sc. em Agronomia (Produção Vegetal), pesquisadora da Embrapa Floresta, Colombo, PR.

mg L⁻¹) associado com picloram (2,1 mg L⁻¹) e AIA (2,0 mg L⁻¹) promoveram a formação de pequenos calos primários em anteras de seringueira.

Palavras-chave: *Hevea*, cultura de haploides, regulador de crescimento.

Effects of Primary Callogenesis in Rubber Tree's Anthers

Abstract – The production of double-haploid rubber plants by anther culture can provide the production in a single generation of totally homozygous lines, thus improving efficiency in the production of new cultivars. The aim of this work was to evaluate the influence of different growth regulators on the production of primary calli in anthers of selected genotypes of rubber tree. Anthers of immature floral buds cultured in culture media RT containing growth regulators resulted in a low production of primary calli, not exceeding 15%, being null in the presence of activated carbon in the culture medium. The results obtained showed that in 2,4-D (2.4 mg L^{-1}) associated with KIN (1.0 mg L^{-1}) and AIA (2.0 mg L^{-1}) or 2, 4-D (2.0 mg L^{-1}) associated with Picloram (2.1 mg L^{-1}) and AIA (2.0 mg L^{-1}) promoted the formation of small primary calli in rubber anthers.

Keywords: *Hevea*, haploid culture, plant growth regulators.

Introdução

O melhoramento genético da seringueira (*Hevea* spp.) por meio de métodos convencionais de cruzamento é um processo demorado para a obtenção de nova cultivar, sendo baixa a eficiência da seleção nas primeiras gerações de autofecundação, devido, principalmente, à ocorrência de alelos dominantes em heterozigose. Dentro dessa realidade, a aplicação de técnicas biotecnológicas, tal como a cultura de anteras, tem despertado o interesse como ferramenta importante para aceleração dos programas de melhoramento de culturas perenes, visto que possibilitam a redução no tempo necessário para a obtenção de linhagens homocigotas, substituindo várias gerações de autofecundação (Milani; Carvalho, 2005). Sathyanarayana e Varghese (2013) citam como desvantagens desse método a falta de protocolos desenvolvidos para a produção massal de plantas haploides, o custo elevado dessa produção e a necessidade de laboratórios com estrutura física e equipamentos mais sofisticados, além da mão de obra especializada.

Atualmente, alguns registros demonstram que esse tema tem sido estudado, porém com poucos resultados divulgados. Ensaio preliminares realizados por Pereira et al. (2015) demonstraram que, para a indução de calogênese em anteras de seringueira, existe a necessidade do isolamento das anteras, sem resíduos do filete e adição de antioxidantes ao meio de cultura, assim como a presença dos fitorreguladores 2,4-D e cinetina. No entanto, esses resultados ainda são insuficientes para a promoção de calos que logrem alcançar a rota morfogenética, resultando em embriões somáticos e na regeneração de plantas haploides. Nesse sentido, o presente trabalho, visando contribuir para o entendimento da fase inicial de calogênese primária, teve como objetivo comparar a influência de reguladores de crescimento na indução de calos primários em anteras de seringueira.

Material e Métodos

Os trabalhos foram desenvolvidos no Laboratório de Cultura de Tecidos de Plantas da Embrapa Amazônia Ocidental, Manaus, Amazonas. Botões florais imaturos (0,5 mm – 1,0 mm de comprimento) foram submetidos à assepsia e em seguida as anteras imaturas (fase uninucleada) foram dissecadas e transferidas para meio de cultura composto por sais e vitaminas de RT (Chen et al., 1986) suplementado com L-glutamina (500 mg L⁻¹), PVP (0,1%), sacarose (7%) e com os seguintes reguladores de crescimento: (T1) 2,4-D (2,0 mg L⁻¹) + KIN (1,0 mg L⁻¹) + AIA (2,0 mg L⁻¹); (T2) 2,4-D (20,0 mg L⁻¹) + KIN (10,0 mg L⁻¹) + AIA (20,0 mg L⁻¹) + carvão ativado (0,15%); (T3) picloram (2,1 mg L⁻¹) + KIN (1,0 mg L⁻¹) + AIA (2,0 mg L⁻¹); (T4) picloram (21,0 mg L⁻¹) + KIN (10,0 mg L⁻¹) + AIA (20,0 mg L⁻¹) + carvão ativado (0,15%); (T5) 2,4-D (2,0 mg L⁻¹) + picloram (2,1 mg L⁻¹) + AIA (2,0 mg L⁻¹). Os meios foram geleificados com ágar (0,6%) e o pH foi ajustado para 5,8 antes da autoclavagem durante 15 minutos a 121 °C. O ensaio foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado com 5 tratamentos e 12 repetições cada (quatro anteras/repetição). As culturas foram incubadas por 40 dias em ambiente escuro de sala de crescimento a 25 °C ± 2 °C e avaliadas quanto à porcentagem de calos primários formados, explantes intumescidos, inertes e oxidados. Os dados foram submetidos à análise de variância, e a comparação de médias foi realizada pelo teste de Tukey a 5%.

Resultados

A Tabela 1 apresenta a porcentagem de calos primários formados ao final de 40 dias de cultivo. Para todos os parâmetros avaliados foi observada diferença significativa entre os tratamentos testados.

Tabela 1. Porcentagem de calos primários (%CAL), explantes intumescidos (%INT), inertes (%INE) e oxidados (%OXI) obtidos em meio de indução à calogênese primária com diferentes reguladores de crescimento a partir de anteras de seringueira, após 40 dias de cultivo. Manaus, 2017.

Tratamento	%CAL	%INT	%INE	%OXI
T1	15,4 a	25,0 ab	23,1 b	36,5 a
T2	0,0 b	66,7 a	33,3 b	0,0 b
T3	2,1 b	37,5 ab	20,8 b	31,3 ab
T4	0,0 b	0,0 b	100 a	0,0 b
T5	12,5 ab	56,3 ab	25 b	6,3 ab

¹Médias seguidas de mesma letra entre linhas não diferem estatisticamente entre si (Tukey $p > 0,05$).

Discussão

A ausência de calos nos tratamentos com maior concentração das auxinas (T2 e T4) pode ser atribuída à ação adsorvente do carvão ativado nos meios de cultura, que pode ter imobilizado parte dos elementos que compõem o meio, inclusive os reguladores de crescimento responsáveis pela calogênese. Esse tipo de comportamento também foi observado por Werner et al. (2009), que, ao lograrem o controle da oxidação com a adição do carvão ativado na organogênese *in vitro* a partir de folhas de pau-brasil, não obtiveram a formação de calos nesses explantes.

A ocorrência de alta porcentagem de explantes inertes demonstrou que as anteras são tecidos pouco responsivos aos tratamentos sem carvão ativado.

O picloram, regulador de crescimento utilizado intensivamente com outros tipos de explantes de diversas espécies (Pereira et al., 2007; Bonetti et al., 2016), demonstrou baixa eficiência na indução de calos (2,1%) em anteras de seringueira. O 2,4-D, associado ao KIN e AIA, promoveu a maior porcentagem de calogênese, sendo próximo à obtida quando foi combinado ao

picloram e AIA presentes no tratamento T5, reduzindo inclusive a oxidação. Esses dados demonstraram que a presença do 2,4-D, associado ou isoladamente, pode ser um sinalizador essencial no processo de desdiferenciação celular para esse tipo de explante.

Conclusões

Os resultados obtidos no presente trabalho permitem concluir que:

- A presença de carvão ativado no meio, para controle de oxidação, inibiu a indução da calogênese em anteras de seringueira;
- O picloram não favoreceu a indução de calos;
- O 2,4-D a 2,0 mg L⁻¹ associado com KIN a 1,0 mg L⁻¹ e AIA 2,0 mg L⁻¹ ou 2,4-D a 2,0 mg L⁻¹ associado com picloram a 2,1 mg L⁻¹ e AIA a 2,0 mg L⁻¹ promoveram a formação de pequenos calos primários em anteras de seringueira.

Agradecimentos

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa do Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica (Pibic).

Referências

BONETTI, K. A. P.; QUOIRIN, M.; QUISEN, R. C.; LIMA, S. C. S. In vitro germination of zygotic embryos of hybrid BRS Manicoré (*E. guineensis* x *E. oleifera*). **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 88, n. 3, supl., p. 1841-1850, 2016.

CHEN, Z. Induction of androgenesis in woody plants. In: HU, H.; YANG, H. Y. (Ed.). **Haploids in higher plants in vitro**. Beijing: China Academic Publishers; Berlin: Springer-Verlag, 1986. p. 42-66.

MILANI, M.; CARVALHO, J. M. F. C. **Utilização de cultura de anteras no melhoramento de plantas**. Campina Grande: Embrapa Algodão, 2005. 26 p. (Embrapa Algodão. Documentos, 145).

PEREIRA, R. C. A.; PINTO, J. E. B. P.; REIS, E. S.; CORRÊA, R. M.; BERTOLLUCI, S. K. V. Influência de diferentes auxinas na indução e cinética de crescimento de calos de *Uncaria guianensis* J. F. GMEL. (unha de gato). **Plant Cell Culture & Micropropagation**, v. 3, n. 2, p. 69-77, 2007.

PEREIRA, P. da S.; HARADA, P.; QUISEN, R.C. Indução de calogênese em anteras de seringueira cultivadas in vitro. In: BRAZILIAN CONGRESS OF PLANT PHYSIOLOGY, 15.; BRAZILIAN-ISRAELI PLANT SCIENCE CONFERENCE, 1., 2015, Foz do Iguaçu. **Anais...** Bela Vista: Sociedade Brasileira de Fisiologia Vegetal, 2015.

SATHYANARAYANA, B. N.; VARGHESE, D. B. **Plant tissue culture: practices and new experimental protocols**. New Delhi: I.K. International, 2013. p. 135-148.

WERNER, E. T.; CUZZUOL, G. R. F.; PESSOTTI, K. V.; LOPES, F. P.; ROGER, J. de A. Controle da calogênese do pau-brasil in vitro. **Revista Árvore**, v. 33, n. 6, p. 987-996, dez. 2009.