



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
ESCOLA DE AGRONOMIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E
MELHORAMENTO DE PLANTAS**

**MICROPROPAGAÇÃO DE MANGABEIRA
(*Hancornia speciosa* Gomes) DE DIFERENTES
VARIEDADES BOTÂNICAS**

Emiliane dos Santos Belo

Orientador:
Prof. Dr. Sérgio Tadeu Sibov

**UFG**UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
ESCOLA DE AGRONOMIA**TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO (TECA) PARA DISPONIBILIZAR VERSÕES ELETRÔNICAS DE
TESES****E DISSERTAÇÕES NA BIBLIOTECA DIGITAL DA UFG**

Na qualidade de titular dos direitos de autor, autorizo a Universidade Federal de Goiás (UFG) a disponibilizar, gratuitamente, por meio da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações (BDTD/UFMG), regulamentada pela Resolução CEPEC nº 832/2007, sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a [Lei 9.610/98](#), o documento conforme permissões assinaladas abaixo, para fins de leitura, impressão e/ou download, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data.

O conteúdo das Teses e Dissertações disponibilizado na BDTD/UFMG é de responsabilidade exclusiva do autor. Ao encaminhar o produto final, o autor(a) e o(a) orientador(a) firmam o compromisso de que o trabalho não contém nenhuma violação de quaisquer direitos autorais ou outro direito de terceiros.

1. Identificação do material bibliográfico

Dissertação Tese Outro*: _____

*No caso de mestrado/doutorado profissional, indique o formato do Trabalho de Conclusão de Curso, permitido no documento de área, correspondente ao programa de pós-graduação, orientado pela legislação vigente da CAPES.

Exemplos: Estudo de caso ou Revisão sistemática ou outros formatos.

2. Nome completo do autor

Emiliane dos Santos Belo

3. Título do trabalhoMicropropagação de mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes) de diferentes variedades botânicas**4. Informações de acesso ao documento (este campo deve ser preenchido pelo orientador)**Concorda com a liberação total do documento SIM NÃO¹

[1] Neste caso o documento será embargado por até um ano a partir da data de defesa. Após esse período, a possível disponibilização ocorrerá apenas mediante:

- a) consulta ao(a) autor(a) e ao(a) orientador(a);
- b) novo Termo de Ciência e de Autorização (TECA) assinado e inserido no arquivo da tese ou dissertação.

O documento não será disponibilizado durante o período de embargo.

Casos de embargo:

- Solicitação de registro de patente;
- Submissão de artigo em revista científica;
- Publicação como capítulo de livro;
- Publicação da dissertação/tese em livro.

Obs. Este termo deverá ser assinado no SEI pelo orientador e pelo autor.



Documento assinado eletronicamente por **Sergio Tadeu Sibov, Professora do Magistério Superior**, em 05/09/2024, às 13:42, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Emiliane Dos Santos Belo, Discente**, em 09/09/2024, às 13:11, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **4792681** e o código CRC **687C0DDA**.

EMILIANE DOS SANTOS BELO

**MICROPROPAGAÇÃO DE MANGABEIRA (*Hancornia speciosa*
Gomes) DE DIFERENTES VARIEDADES BOTÂNICAS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Genética e Melhoramento de Plantas, da Universidade Federal de Goiás, como requisito para obtenção do título de Doutora em Genética e Melhoramento de Plantas

Área de concentração: Genética e Melhoramento de Plantas

Linha de pesquisa: Conservação e Melhoramento de Espécies Vegetais Nativas do Cerrado

Orientador: Professor Doutor Sérgio Tadeu Sibov

Goiânia, GO – Brasil

Junho de 2023

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UFG.

Belo, Emilliane dos Santos
MICROPROPAGAÇÃO DE MANGABEIRA (*Hancornia speciosa*
Gomes) DE DIFERENTES VARIEDADES BOTÂNICAS [manuscrito] /
Emilliane dos Santos Belo. - 2023.
CXXXV, 135 f.: il.

Orientador: Profa. Dra. Sérgio Tadeu Sibov.
Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Goiás, Escola de
Agronomia (EA), Programa de Pós-graduação em Genética e
Melhoramento de Plantas, Goiânia, 2023.

Bibliografia.

Inclui símbolos, gráfico, tabelas, lista de figuras, lista de tabelas.

1. cultura de tecidos vegetais. 2. Cerrado. 3. propagação
vegetativa. 4. espécies nativas. I. Sibov, Sérgio Tadeu, orient. II.
Título.

CDU 63



UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS

ESCOLA DE AGRONOMIA

ATA DE DEFESA DE TESE

Ata nº 113 da sessão de Defesa de Tese de Emiliane dos Santos Belo, que confere o título de Doutora em Genética e Melhoramento de Plantas, na área de concentração em Genética e Melhoramento de Plantas.

Aos vinte e sete dias do mês de junho de dois mil e vinte e três, a partir das treze horas, via videoconferência, realizou-se a sessão pública de Defesa de Tese intitulada: “Micropropagação de variedades botânicas de mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes)". Os trabalhos foram instalados pelo Orientador, Doutor Sérgio Tadeu Sibov (ICB/UFG), com a participação dos demais membros da Banca Examinadora: Doutor Aurélio Rúbio Neto (IF Goiano – Rio Verde), membro titular externo, Doutor Fernando Higino de Lima e Silva (IF Goiano – Rio Verde), membro titular externo, Doutor Lázaro José Chaves (EA/UFG), membro titular interno e Doutora Rita Maria Devós Ganga (EA/UFG), membra titular externa. Durante a arguição os membros da banca fizeram sugestão de alteração do título do trabalho. A Banca Examinadora reuniu-se em sessão secreta a fim de concluir o julgamento da Tese, tendo sido a candidata APROVADA pelos seus membros. Proclamados os resultados pelo Presidente da Banca Examinadora, foram encerrados os trabalhos e, para constar, lavrou-se a presente ata que é assinada pelos Membros da Banca Examinadora.

TÍTULO SUGERIDO PELA BANCA

Micropropagação de mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes) de diferentes variedades botânicas



Documento assinado eletronicamente por **Lazaro Jose Chaves, Usuário Externo**, em 24/08/2024, às 10:40, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Aurélio Rubio Neto, Usuário Externo**, em 26/08/2024, às 12:41, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Sergio Tadeu Sibov, Professora do Magistério Superior**, em 29/08/2024, às 15:35, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Rita Maria Devos Ganga, Professora do Magistério Superior**, em 03/09/2024, às 14:53, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **4770236** e o código CRC **18511796**.

AGRADECIMENTOS

Agradeço acima de todos a Deus Jeová o onipotente, misericordioso e que me cuida nos meus caminhos. Agradeço ao orientador Prof. Dr. Sérgio Tadeu Sibov, pelo apoio e incentivo, de todas as maneiras e em todas as fases do decorrer do doutorado. Agradeço ao Técnico de Laboratório do labCultTive Me. Paulo Roberto Faria, pelo apoio pessoal, científico e emocional. Hoje é meu marido, melhor amigo, cuidador e companheiro. Obrigada! Agradeço ao Instituto Federal de Ciência e Tecnologia Goiano, Campus Ceres o qual concedeu-me tempo de serviço para esta qualificação. Também agradeço o apoio instituição na participação em eventos científicos e infraestrutura laboratorial para execução de partes de experimentos. Agradeço aos ex-colegas de trabalho do IF Goiano, Bárbara Salaberry e seu marido Jonatas, Kamilinha, Bruna Costa, o Diretor do Campus Cleiton Mateus Souza. Sobretudo agradeço *in memoriam* Jorge Freitas Cieslak. Este foi o colega trabalho, amigo/irmão mais encorajador e que acreditou na minha força. Obrigada por tudo Jorge. Agradeço imensamente a paciência, amor e a existência da minha filha Maria Olivia Belo, que apenas com 4 aninhos já me acompanhava nas viagens de Ceres a Goiânia para a realização deste doutorado. Ela é a energia radiante que sempre me motiva e que me regenera a cada olhar. Agradeço aos familiares pelo incentivo, pai Erlan da Silva Belo, mãe Neudimar Maria dos Santos Silva, irmã Aline da Silva Belo e sobrinho Luís Arthur Moraes Belo. Obrigada Família!

DEDICATÓRIA

Dedico esta tese à minha querida filha Maria Olivia Belo. Que seja uma fase sempre lembrada e símbolo de mais uma superação nossa.

SUMÁRIO

	Pág.
LISTA DE TABELAS.....	11
LISTA DE FIGURAS.....	12
LISTA DE SÍMBOLOS E SIGLAS.....	20
RESUMO.....	21
ABSTRACT.....	22
1. INTRODUÇÃO.....	23
2. MICROPROPAGAÇÃO DA MANGABEIRA: REVISÃO E PERSPECTIVAS PARA CONSERVAÇÃO.....	26
2.1 RESUMO.....	27
2.2 ABSTRACT.....	28
2.3 INTRODUÇÃO.....	28
2.4 EMBRIOGÊNESE ZIGÓTICA DA MANGABEIRA.....	29
2.5 RECALCITRÂNCIA DAS SEMENTES E CRESCIMENTO LENTO DA MANGABEIRA.....	30
2.6 FITORREGULADORES NA ORGANOGÊNESE DA MANGABEIRA.....	32
2.7 DIVERSIDADE GENÉTICA DA MANGABEIRA.....	34
2.8 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	36
2.9 REFERÊNCIAS.....	37
3. GERMINAÇÃO DE SEMENTES E RESGATE DE EMBRIÕES DE VARIEDADES BOTÂNICAS DE MANGABEIRA (<i>Hancornia speciosa</i> Gomes).....	43
3.1 RESUMO.....	44
3.2 ABSTRACT.....	45
3.3 INTRODUÇÃO.....	45
3.4 MATERIAL E MÉTODOS.....	47
3.5 RESULTADOS.....	50
3.5.1 Germinação de sementes e resgate de embriões em meios de cultura completos e diferentes tipos de explantes.....	50
3.5.2 Germinação de sementes e resgate de embriões em meios de cultura completos com diferentes doses de sacarose.....	52
3.6 DISCUSSÃO.....	67
3.7 CONCLUSÕES.....	72
3.8 REFERÊNCIAS.....	73

4.	ORGANOGENESE DIRETA DE VARIEDADES BOTÂNICAS DE MANGABEIRA (<i>Hancornia speciosa</i> Gomes)	79
4.1	RESUMO.....	80
4.2	ABSTRACT.....	81
4.3	INTRODUÇÃO.....	81
4.4	MATERIAL E MÉTODOS.....	83
4.5	RESULTADOS.....	84
4.6	DISCUSSÃO.....	97
4.7	CONCLUSÕES.....	101
4.8	REFERÊNCIAS.....	101
5	ENRAIZAMENTO E ACLIMATIZAÇÃO DE VARIEDADES BOTÂNICAS DE MANGABEIRA (<i>Hancornia speciosa</i> Gomes)	108
5.1	RESUMO.....	109
5.2	ABSTRACT.....	110
5.3	INTRODUÇÃO.....	110
5.4	MATERIAL E MÉTODOS.....	112
5.5	RESULTADOS.....	114
5.6	DISCUSSÃO.....	126
5.7	CONCLUSÕES.....	129
5.8	REFERÊNCIAS.....	130
6.	CONSIDERAÇÕES FINAIS	135

LISTA DE TABELAS

	Pág.
Tabela 3.1. Altura (mm) de plantas de variedades botânicas de <i>H. speciosa</i> em meios de cultura completos.....	50
Tabela 3.2. Altura (mm) de plantas de variedades botânicas de <i>H. speciosa</i> entre dois tipos de explantes.....	50
Tabela 3.3. Número de folhas de plantas da variedade botânicas <i>H. speciosa</i> var. <i>cuyabensis</i> em meios de cultura completos.....	51
Tabela 3.4. Número de folhas de plantas de variedades botânicas <i>H. speciosa</i> em meios de cultura completos.....	51
Tabela 3.5. Número de folhas de plantas de variedades botânicas <i>H. speciosa</i> em diferentes explantes.....	51
Tabela 3.6. Comprimento da raíz (mm) de plantas de <i>H. speciosa</i> var. <i>cuyabensis</i> em meios de cultura completos e diferentes explantes.....	52
Tabela 3.7. Comprimento da raíz (mm) de plantas de variedades botânicas de <i>H. speciosa</i> em meios de cultura completos.....	52
Tabela 3.8. Comprimento da raíz (mm) de plantas de variedades botânicas de <i>H. speciosa</i> em dois tipos de explantes.....	52

LISTA DE FIGURAS

		Pág.
Figura 3.1	Regressões logísticas das taxas de contaminação sob efeito dos tipos de explantes (embrião ou semente) em função dos meios MS ou WPM com doses de sacarose, em variedades botânicas de mangabeira.....	53
Figura 3.2	Regressões logísticas das taxas de sobrevivência sob efeito dos tipos de explantes (embrião ou semente) em função dos meios MS ou WPM com doses de sacarose, em variedades botânicas de mangabeira.....	54
Figura 3.3	Regressões logísticas das taxas de sobrevivência sob efeitos dos tipos de meio de cultura MS ou WPM com doses de sacarose, e dos explantes (embrião ou semente), para cada variedade de mangabeira.....	55
Figura 3.4	Regressões quadráticas da altura de plantas de mangabeira <i>H. speciosa</i> var. <i>gardneri</i> , comparando-se os tipos de explantes em diferentes meios de cultura, em função de doses de sacarose.....	56
Figura 3.5	Germinação de embriões de mangabeira <i>H. speciosa</i> var. <i>gardneri</i> em doses de sacarose. A=MS 15 g.L ⁻¹ , B=MS 30 g.L ⁻¹ , C=MS 45 g.L ⁻¹ . Fonte: Belo, E. S.....	56
Figura 3.6	Germinação de sementes de mangabeira <i>H. speciosa</i> var. <i>gardneri</i> em doses de sacarose. A= MS sem sacarose, B= MS 15 g.L ⁻¹ , C= MS 30 g.L ⁻¹ , D= MS 45 g.L ⁻¹ . Fonte: Belo, E. S.....	57
Figura 3.7	Germinação de sementes de mangabeira <i>H. speciosa</i> var. <i>gardneri</i> em doses de sacarose. A= WPM sem sacarose, B= WPM 15 g.L ⁻¹ , C= WPM 30 g.L ⁻¹ , D= WPM 45 g.L ⁻¹ . Fonte: Belo, E. S.....	57
Figura 3.8	Germinação de embriões de mangabeira <i>H. speciosa</i> var. <i>gardneri</i> em doses de sacarose. A= WPM sem sacarose, B= WPM 15 g.L ⁻¹ , C= WPM 30 g.L ⁻¹ , D= WPM 45g.L ⁻¹ . Fonte: Belo, E. S.....	58
Figura 3.9	Regressões quadráticas da quantidade de folhas de plantas de mangabeira <i>H. speciosa</i> var. <i>gardneri</i> , comparando-se os tipos de explantes em diferentes meios de cultura, em função de doses de sacarose.....	58

Figura 3.10	Regressões quadráticas do comprimento de raíz de plantas de mangabeira <i>H. speciosa</i> var. <i>gardneri</i> , comparando-se os tipos de explantes em diferentes meios de cultura, em função de doses de sacarose.....	59
Figura 3.11	Regressões quadráticas da altura de plantas de mangabeira <i>H. speciosa</i> var. <i>cuyabensis</i> , comparando-se os tipos de explantes em diferentes meios de cultura, em função de doses de sacarose.....	60
Figura 3.12	Germinação de sementes de mangabeira <i>H. speciosa</i> var. <i>cuyabensis</i> em doses de sacarose. A=MS sem sacarose, B= MS 15 g.L ⁻¹ , C= MS 30 g.L ⁻¹ , D= MS 45 g.L ⁻¹ . Fonte: Belo, E. S.....	60
Figura 3.13	Germinação de embriões de mangabeira <i>H. speciosa</i> var. <i>cuyabensis</i> em doses de sacarose. A=MS sem sacarose, B= MS 15 g.L ⁻¹ , C=MS 30 g.L ⁻¹ , D=MS 45 g.L ⁻¹ . Fonte: Belo, E. S.....	61
Figura 3.14	Germinação de embriões de mangabeira <i>H. speciosa</i> var. <i>cuyabensis</i> em doses de sacarose. A=WPM sem sacarose, B=WPM 15 g.L ⁻¹ , C=WPM 30 g.L ⁻¹ , D=WPM 45 g.L ⁻¹ . Fonte: Belo, E. S.....	61
Figura 3.15	Germinação de sementes de mangabeira <i>H. speciosa</i> var. <i>cuyabensis</i> em doses de sacarose. A=WPM sem sacarose, B= WPM 15 g.L ⁻¹ , C= WPM 30 g.L ⁻¹ , D= WPM 45 g.L ⁻¹ . Fonte: Belo, E. S.....	62
Figura 3.16	Regressões quadráticas da quantidade de folhas de plantas de mangabeira <i>H. speciosa</i> var. <i>cuyabensis</i> , comparando-se os tipos de explantes em diferentes meios de cultura, em função de doses de sacarose.....	62
Figura 3.17	Regressões quadráticas do comprimento de raíz de plantas de mangabeira <i>H. speciosa</i> var. <i>cuyabensis</i> , comparando-se os tipos de explantes em diferentes meios de cultura, em função de doses de sacarose.....	63
Figura 3.18	Regressões quadráticas da altura de plantas de mangabeira <i>H. speciosa</i> var. <i>pubescens</i> , comparando-se os tipos de explantes em diferentes meios de cultura, em função de doses de sacarose.....	64
Figura 3.19	Germinação de embriões de mangabeira <i>H. speciosa</i> var. <i>pubescens</i> em doses de sacarose. A= MS sem sacarose, B= MS 15 g.L ⁻¹ , C= MS 30 g.L ⁻¹ , D= MS 45 g.L ⁻¹ . Fonte: Belo, E. S.....	64

Figura 3.20	Germinação de sementes de mangabeira <i>H. speciosa</i> var. <i>pubescens</i> em doses de sacarose. A= MS sem sacarose, B= MS 15 g.L ⁻¹ , C= MS 30 g.L ⁻¹ , D= MS 45 g.L ⁻¹ . Fonte: Belo, E. S.....	65
Figura 3.21	Germinação de sementes de mangabeira <i>H. speciosa</i> var. <i>pubescens</i> em doses de sacarose. A= WPM sem sacarose, B= WPM 15 g.L ⁻¹ , C= WPM 30 g.L ⁻¹ , D= WPM 45 g.L ⁻¹ . Fonte: Belo, E. S.....	65
Figura 3.22	Germinação de embriões de mangabeira <i>H. speciosa</i> var. <i>pubescens</i> em doses de sacarose. A= WPM sem sacarose, B= WPM 15 g.L ⁻¹ , C= WPM 30 g.L ⁻¹ , D= WPM 45 g.L ⁻¹ . Fonte: Belo, E. S.....	66
Figura 3.23	Regressões quadráticas da quantidade de folhas de plantas de mangabeira <i>H. speciosa</i> var. <i>pubescens</i> , comparando-se os tipos de explantes em diferentes meios de cultura, em função de doses de sacarose.....	66
Figura 3.24	Regressões quadráticas do comprimento de raiz de plantas de mangabeira <i>H. speciosa</i> var. <i>pubescens</i> , comparando-se os tipos de explantes em diferentes meios de cultura, em função de doses de sacarose.....	67
Figura 4.1	Regressões quadráticas da altura de brotações de mangabeira de diferentes variedades botânicas sob efeito de concentrações de BAP.....	85
Figura 4.2	Brotações de <i>H. speciosa</i> var. <i>cuyabensis</i> em meio WPM com concentrações de BAP. A=2,21 µM, B=4,42 µM, C=6,60 µM, D=8,80 µM. Fonte: Belo, E. S.....	85
Figura 4.3	Brotações de <i>H. speciosa</i> var. <i>pubescens</i> em meio WPM com concentrações de BAP. A= WPM, B= 2,20 µM, C=4,40 µM, D=6,60 µM, E= 8,80 µM. Fonte: Belo, E. S.....	86
Figura 4.4	Brotações de <i>H. speciosa</i> var. <i>gardneri</i> em meio WPM com doses de BAP. A=2,21 µM, B=4,40 µM, C=6,60 µM, D= 8,80 µM. Fonte: Belo, E. S.....	86
Figura 4.5	Regressões quadráticas da altura de brotações de mangabeira de diferentes variedades sob efeito da cinetina.....	87
Figura 4.6	Brotações de <i>H. speciosa</i> var. <i>gardneri</i> em meio WPM com doses de cinetina. A=WPM, B=2,30 µM, C= 4,50 µM, D=6,60 µM, E=9,10 µM. Fonte: Belo, E. S.....	87

Figura 4.7	Brotações de <i>H. speciosa</i> var. <i>cuyabensis</i> em meio WPM com doses de cinetina. A=2,30, μM B=6,50 μM , C=9,10 μM . Fonte: Belo, E. S.....	88
Figura 4.8	Brotações de <i>H. speciosa</i> var. <i>pubescens</i> em meio WPM com doses de cinetina. A=2,30, μM B=6,50 μM , C=9,10 μM . Fonte: Belo, E. S.....	88
Figura 4.9	Regressões quadráticas da quantidade de folhas em brotações de mangabeira de diferentes variedades sob efeito de BAP.....	89
Figura 4.10	Regressões quadráticas da quantidade de folhas em brotações de mangabeira de diferentes variedades sob efeito da cinetina.....	89
Figura 4.11	Regressões quadráticas das taxas de calogênese em brotações de mangabeira de diferentes variedades sob efeito de BAP.....	90
Figura 4.12	Regressões quadráticas do diâmetro de calos em brotações de mangabeira de diferentes variedades sob efeito de BAP.....	91
Figura 4.13	Dimensão de calos de <i>H. speciosa</i> var. <i>gardneri</i> com uso de doses de BAP. A= 2,20 μM , B= 4,40 μM , C= 6,60 μM e D=8,80 μM de BAP. Fonte: Belo, E. S.....	91
Figura 4.14	Dimensão de calos de <i>H. speciosa</i> var. <i>cuyabensis</i> com uso de doses de BAP. A= 2,20 μM , B= 4,40 μM , C= 6,60 μM e D=8,80 μM de BAP. Fonte: Belo, E. S.....	92
Figura 4.15	Dimensão de calos de <i>H. speciosa</i> var. <i>pubescens</i> com uso de doses de BAP. A= 2,20 μM , B= 4,40 μM , C= 6,60 μM e D=8,80 μM de BAP. Fonte: Belo, E. S.....	92
Figura 4.16	Regressão quadrática da taxa de calogênese em brotações de mangabeira <i>H. speciosa</i> var. <i>gardneri</i> em doses de cinetina.....	93

Figura 4.17	Regressão quadrática do diâmetro de calos em brotações de mangabeira <i>H. speciosa</i> var. <i>gardneri</i> em doses de cinetina.....	93
Figura 4.18	Médias do diâmetro de calos em brotações de mangabeira <i>H. speciosa</i> var. <i>gardneri</i> no uso de BAP e cinetina. *Valor significativo conforme teste F ao nível de 5% de probabilidade.....	94
Figura 4.19	Comprimento de brotos de <i>H. speciosa</i> var. <i>cuyabensis</i> e var. <i>pubescens</i> com uso de 4,40 µM de BAP. *Médias significativa na variedade botânica conforme o teste F ao nível de 5% de probabilidade.....	94
Figura 4.20	Brotações de gemas apicais e laterais de <i>H. speciosa</i> var. <i>cuyabensis</i> e <i>H. speciosa</i> var. <i>pubescens</i> . Fonte: Belo, E. S.....	95
Figura 4.21	Regressões quadráticas do comprimento de brotos de mangabeira <i>H. speciosa</i> var. <i>cuyabensis</i> e <i>H. speciosa</i> var. <i>pubescens</i> em meio com 4,40 µM de BAP associado a doses de AIA (2,85, 5,70, 8,50 e 11,40 µM).....	95
Figura 4.22	Regressões quadráticas do diâmetro de calos de mangabeira <i>H. speciosa</i> var. <i>cuyabensis</i> e <i>H. speciosa</i> var. <i>pubescens</i> em meio com 4,4 µM de BAP associado a doses de AIA (2,85, 5,70, 8,50 e 11,40 µM).....	96
Figura 4.23	Brotações de <i>H. speciosa</i> var. <i>cuyabensis</i> em meio WPM com BAP 4,40 µM e doses de AIA. A= WPM + BAP 4,40 µM, B= BAP 4,40 µM + 2,85 µM de AIA, C= BAP 4,40 µM + 5,70 µM, D= BAP 4,40 µM + 8,53 µM, E= BAP 4,40 µM + 11,40 µM. Fonte: Belo, E. S.....	96
Figura 4.24	Brotações de <i>H. speciosa</i> var. <i>pubescens</i> em meio WPM com BAP 4,4 µM e doses de AIA. A= BAP 4,40 µM + 2,85 µM, B= 5,70 µM C= 8,53 µM D= 11,40 µM. Fonte: Belo, E. S.....	97
Figura 5.1	Regressão logística de valores de probabilidade de enraizamento de variedades botânicas de mangabeira em doses de AIB.....	114
Figura 5.2	Regressões quadráticas da quantidade de raízes em microestacas de mangabeira das variedades <i>gardneri</i> e var. <i>cuyabensis</i> sob o efeito de doses de AIB.....	115

Figura 5.3	Regressões quadráticas da quantidade de raízes em microestacas de mangabeira das variedades <i>gardneri</i> e var. <i>cuyabensis</i> sob o efeito de doses de AIB.....	116
Figura 5.4	Rizogênese em brotações de <i>H. speciosa</i> var. <i>cuyabensis</i> em doses de AIB. A=AIB 9,84 μ M, B=29,52 μ M, C=AIB 19,68 μ M, C=AIB 39,36 μ M. Fonte: Belo, E. S.....	116
Figura 5.5	Rizogênese em brotações de <i>H. speciosa</i> var. <i>gardneri</i> em doses de AIB. A=WPM, B=AIB 9,84 μ M, C=29,52 μ M, D=AIB 19,68 μ M, E=AIB 39,36 μ M. Fonte: Belo, E. S.....	117
Figura 5.6	Regressões quadráticas do comprimento das brotações de mangabeira das variedades <i>gardneri</i> e var. <i>cuyabensis</i> sob o efeito de doses de AIB.....	117
Figura 5.7	Regressões quadráticas dos valores de probabilidades de ocorrência de calos em microestacas de mangabeira das variedades <i>gardneri</i> e var. <i>cuyabensis</i> sob o efeito de doses de AIB.....	118
Figura 5.8	Regressões quadráticas das quantidades de raízes formadas em microestacas de variedades de mangabeira sob efeitos das auxinas AIB e ANA em conjunto.....	119
Figura 5.9	Regressões quadráticas do comprimento de raízes formadas em microestacas de variedades de mangabeira sob efeitos das auxinas AIB e ANA em conjunto.....	120
Figura 5.10	Rizogênese em brotações de <i>H. speciosa</i> var. <i>gardneri</i> em doses de auxinas. A= WPM; B= AIB 1 mg.L ⁻¹ + ANA 1 mg.L ⁻¹ ; C= AIB 2 mg.L ⁻¹ + ANA 2 mg.L ⁻¹ ; D= AIB 3 mg.L ⁻¹ + ANA 3 mg.L ⁻¹ , E= AIB 4 mg.L ⁻¹ + ANA 4 mg.L ⁻¹ . Fonte: Belo, E. S.....	120
Figura 5.11	Enraizamento de microestacas de mangabeira <i>H. speciosa</i> var. <i>cuyabensis</i> em concentrações das auxinas AIB e ANA juntos. A= meio WPM, B= 2 mg.L ⁻¹ de AIB +ANA; C= 4 mg.L ⁻¹ de AIB +ANA; D= 6 mg.L ⁻¹ de AIB +ANA. Fonte: Belo, E. S.....	120
Figura 5.12	Rizogênese em brotações de <i>H. speciosa</i> var. <i>pubescens</i> em doses de AIB e ANA combinados. A=WPM, B=AIB 9,84 μ M + ANA 10,74	

	μM , C=AIB 19,68 μM + ANA 16,11 μM , D=AIB 39,36 μM + ANA 32,22 μM . Fonte: Belo, E. S.....	121
Figura 5.13	Regressões quadráticas do comprimento de brotações de variedades de mangabeira sob efeitos das auxinas AIB e ANA em conjunto.....	121
Figura 5.14	Regressões quadráticas da presença de calos em microestacas de variedades de mangabeira sob efeitos das auxinas AIB e ANA em conjunto.....	122
Figura 5.15	Regressões quadráticas do diâmetro de calos em microestacas de variedades de mangabeira sob efeitos das auxinas AIB e ANA em conjunto.....	123
Figura 5.16	Regressão quadrática do comprimento de raíz em mangabeira <i>H. speciosa</i> var. <i>pubescens</i> sob efeitos de ANA.....	123
Figura 5.17	Enraizamento de microestacas de mangabeira <i>H. speciosa</i> var. <i>pubescens</i> em doses de ANA. A=WPM, B=ANA 10,74 μM , C=ANA 16,11 μM , D=ANA 32,22 μM , E=42,96 μM . Fonte: Belo, E. S.....	124
Figura 5.18	Regressão quadrática do comprimento de brotações de mangabeira <i>H. speciosa</i> var. <i>pubescens</i> sob efeitos de ANA.....	124
Figura 5.19	Regressão quadrática da probabilidade de ocorrência de calos em microestacas de mangabeira <i>H. speciosa</i> var. <i>pubescens</i> sob efeitos de ANA.....	125
Figura 5.20	Regressão quadrática do diâmetro de calos em microestacas de mangabeira <i>H. speciosa</i> var. <i>pubescens</i> sob efeitos de ANA.....	125
Figura 5.21	Probabilidades de sobrevivência de três variedades botânicas de mangabeira em aclimatizadas em dois tipos de substratos.....	126
Figura 5.22	Aclimatização de plantas da variedade <i>pubescens</i> em substrato composto e em areia + vermiculita. Fonte: Belo, E. S.....	126

- Figura 5.23** Aclimatização de plantas da variedade *cuyabensis* em substrato composto e em areia + vermiculita. Fonte: Belo, E. S..... **127**
- Figura 5.24** Aclimatização de plantas da variedade *gardneri* em substrato composto e em areia + vermiculita. Fonte: Belo, E. S..... **127**

LISTA DE SÍMBOLOS E SIGLAS

MS – Meio Murashige & Skoog (1962)

WPM – Meio WPM (Lloyd & McCown, 1980)

AIB – Ácido indolbutílico

ANA – Ácido naftalenoacético

AIA – Ácido indolacético

NaOH – hidróxido de sódio

BAP – 6-Benzilaminopurina

NaOCl – Hipoclorito de sódio

NH₄OH – Hidróxido de amônio

pH – Potencial hidrogeniônico

Atm – Atmosfera

°G.L – graus Lussac

% – Porcentagem

°C – Grau Celsius

mm – Milímetros

mg.L⁻¹ – miligramas por litro

μM - micromol

g.L⁻¹ – Gramas por litro

GO – Goiás

mL – Mililitros

ns – Não significativo

UFG – Universidade Federal de Goiás

EA – Escola de Agronomia

RESUMO

BELO, E. S. **Micropropagação de variedades botânicas de mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes)**. 2023. 134 f. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Escola de Agronomia, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2023.¹

A mangabeira - *Hancornia speciosa* Gomes (Apocynaceae) é uma árvore frutífera típica do Cerrado brasileiro, cujos frutos são consumidos e comercializados localmente, tornando-a um recurso genético de grande importância cultural, econômica e ambiental. A principal forma de obtenção dos frutos é o extrativismo local, o que torna urgente a necessidade de conservar suas populações naturais para evitar erosão genética e ameaças à espécie. Naturalmente distribuída em todas as regiões do Brasil, a mangabeira produz sementes recalcitrantes com rápida perda de viabilidade, impossibilitando sua conservação a longo prazo. Desta forma, as coleções de germoplasma são essenciais para a conservação e resgate de germoplasma nativo, além de servir como suporte para estratégias de melhoramento. A propagação vegetativa ou clonagem é recomendada para o melhoramento da espécie, pois evita segregação e fixa características agrônômicas desejáveis de matrizes superiores. A micropropagação surge como uma alternativa eficaz, permitindo o resgate e armazenamento de germoplasma *in vitro*, contribuindo para a elucidação de respostas das variedades botânicas e para a clonagem e multiplicação de genótipos promissores. Contudo, a maioria dos relatos sobre micropropagação descrevem apenas *H. speciosa*, sem abordar as variedades botânicas, o que dificulta o melhoramento e a conservação. Diante da necessidade de protocolos específicos, o objetivo geral deste trabalho foi avaliar o efeito de diferentes fitorreguladores na micropropagação de três variedades botânicas de mangabeira da coleção de germoplasma da Escola de Agronomia da UFG. Inicialmente, foram avaliados os efeitos de diferentes meios de cultura para a germinação e resgate de embriões das variedades *gardneri*, *cuyabensis* e *pubescens*. Observou-se que as variedades *cuyabensis* e *gardneri* apresentaram melhor sobrevivência em plantas germinadas de sementes, enquanto a var. *pubescens* mostrou melhor desempenho em plantas de resgate de embriões. O meio WPM foi satisfatório para a germinação de todas as variedades botânicas. No que diz respeito ao crescimento, as variedades *pubescens* e *gardneri* apresentaram melhor desenvolvimento na ausência de sacarose ou com 15 g.L⁻¹, tanto para plantas de resgate de embriões quanto para as germinadas de sementes. A var. *cuyabensis*, por sua vez, teve melhor crescimento de plantas de resgate de embriões em meio WPM com até 45 g.L⁻¹ de sacarose. No estudo da multiplicação de brotos de plantas germinadas *in vitro*, testou-se a brotação com diferentes citocininas, sendo o BAP, em doses de até 4,40 µM, a melhor citocinina para todas as variedades botânicas. Para o enraizamento das brotações *in vitro*, diferentes auxinas foram testadas, revelando que o enraizamento foi maior na ausência de auxinas. As plantas enraizadas *in vitro* foram aclimatizadas em diferentes substratos em casa de vegetação, sendo que a sobrevivência das variedades *gardneri* e *pubescens* foi melhor em areia e vermiculita (1:1), enquanto para a var. *cuyabensis* o substrato composto mostrou-se mais adequado.

Palavras-chave: Cerrado, cultura de tecidos vegetais, propagação vegetativa, espécies nativas.

¹ Orientador: Prof. Dr. Sérgio Tadeu Sibov, PPGGMP – UFG.

ABSTRACT

BELO, E. S. **Micropropagation of Mangaba Tree (*Hancornia Speciosa* Gomes) of Different Botanical Varieties.** 2023. 134 f. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Escola de Agronomia, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2023.¹

The mangabeira - *Hancornia speciosa* Gomes (Apocynaceae) is a fruit tree typical of the Brazilian Cerrado, whose fruits are consumed and sold locally, making it a genetic resource of great cultural, economic, and environmental importance. The primary method of obtaining the fruits is through local extraction, highlighting the urgent need to conserve its natural populations to prevent genetic erosion and threats to the species. Naturally distributed throughout Brazil, the mangabeira produces recalcitrant seeds with rapid viability loss, making long-term conservation unfeasible. Thus, germplasm collections are essential for the conservation and rescue of native germplasm, as well as providing support for breeding strategies. Vegetative propagation or cloning is recommended for species improvement, as it prevents segregation and fixes desirable agronomic traits of superior matrices. Micropropagation emerges as an effective alternative, allowing the rescue and storage of in vitro germplasm, contributing to the elucidation of in vitro responses of botanical varieties and the cloning and multiplication of promising genotypes. However, most reports on micropropagation describe only *H. speciosa*, without addressing the botanical variety, which complicates breeding and conservation efforts. Given the need for specific protocols, the general objective of this study was to evaluate the effect of different plant growth regulators on the micropropagation of three botanical varieties of mangabeira from the germplasm collection of the School of Agronomy at UFG. Initially, the effects of different culture media for the germination and rescue of embryos of the varieties *gardneri*, *cuyabensis*, and *pubescens* were evaluated. It was observed that the *cuyabensis* and *gardneri* varieties showed better survival in seed-germinated plants, while the *pubescens* variety performed better in embryo rescue plants. The WPM medium was satisfactory for germination of all botanical varieties. Regarding growth, the *pubescens* and *gardneri* varieties showed better development in the absence of sucrose or with 15 g.L⁻¹, both for embryo rescue plants and seed-germinated plants. The *cuyabensis* variety, on the other hand, had better growth of embryo rescue plants in WPM medium with up to 45 g.L⁻¹ of sucrose. In the study of shoot multiplication of in vitro germinated plants, the budding of the varieties was tested with different cytokinins, with BAP at doses up to 4.4 µM being the best cytokinin for all botanical varieties. For the rooting of in vitro shoots, different auxins were tested, revealing that rooting was higher in the absence of auxins. The in vitro rooted plants were acclimatized in different substrates in a greenhouse, with the survival of the *gardneri* and *pubescens* varieties being better in sand and vermiculite (1:1), while for the *cuyabensis* variety, the composite substrate proved to be more suitable.

Keywords: Cerrado, plant tissue culture, vegetative propagation, native species.

¹ Advisor: PhD. Sérgio Tadeu Sibov, PPGGMP – UFG.

1. INTRODUÇÃO

A mangabeira é uma árvore frutífera nativa do Cerrado, produz o fruto denominado mangaba. É classificada na família Apocynaceae, com nome científico *Hancornia speciosa* Gomes. A planta é encontrada em todas as regiões do Brasil (Koch et al., 2015). São reconhecidas seis variedades conforme Monachino (1945): *H. speciosa* var. *speciosa* Gomes; *H. speciosa* var. *gardneri* (A. DC.) Muell. Arg; *H. speciosa* var. *pubescens* (Nees. Et Martius) Muell. Arg.; *H. speciosa* var. *cuyabensis* Malme; *H. speciosa* var. *maximiliani* A. DC.; *H. speciosa* var. *lundii* A. DC.

No entanto, a lista de espécies da Flora do Brasil reorganizou apenas em duas variedades botânicas: *H. speciosa* var. *pubescens* e *H. speciosa* var. *speciosa* (REFLORA, 2023). Os estudos de Collevatti et al. (2016) mostraram que os grupos genéticos não sustentam a recente reorganização em duas variedades, mas suportam parcialmente a classificação de Monachino (1945), pelo menos para quatro variedades amostradas.

A mangabeira tem potencial econômico baseado na colheita e comercialização de frutos (Santos et al., 2016; 2017; Almeida et al., 2014). A árvore é produtora de frutos carnosos com casca fina, que são consumidos in natura ou processados em diversas receitas tradicionais (Lederman et al., 2000). A produção é condicionada ao extrativismo e comercialização local na época de sua produção (Soares, 2016).

O látex produzido a torna importante para a fabricação de produtos biomédicos com menor potencial alergênico (Arruda et al., 2016; Malmonge et al., 2009). Marinho et al. (2011) mostraram o uso do látex da mangabeira como terapia promissora para o tratamento de vários tipos de inflamações. Conforme Almeida et al. (2014), o látex é biocompatível com os sistemas biológicos e pode ser um bom biomaterial para aplicações médicas.

Santos et al. (2016) evidenciaram atividades antioxidante, antimicrobiana e citotóxica para as células de leucemia mielóide aguda em extrato etanólico de folhas. Além disso, da casca, dos frutos e das folhas encontram-se substâncias com atividade gastroprotetiva e vasodilatadora (Santos et al., 2007).

A mangabeira é uma espécie não domesticada, assim é importante a busca de características superiores em plantas para o melhoramento genético. Chaves (2018) recomenda que um programa em longo prazo poderia iniciar-se com a formação de uma

coleção de germoplasma de trabalho a partir de coletas realizadas in situ. Ganga et al. (2009) avaliaram os parâmetros genéticos de progênies de variedades botânicas da mangabeira na coleção de germoplasma da EA-UFG instalada em 2005. Verificaram que as progênies apresentam altos níveis de variação genética para os caracteres diâmetro do caule e altura da planta.

Um dos problemas na domesticação da mangabeira é o curto período de viabilidade das sementes, pois são recalcitrantes, com rápida perda de vigor, o que dificulta o armazenamento em bancos sob refrigeração (Lederman & Bezerra, 2003). A umidade presente nas sementes da mangabeira também pode favorecer a degradação de substâncias e a presença de microrganismos (Freire et al., 2011). Desta forma, outras estratégias de conservação são necessárias como coleções in vivo e in vitro, a micropropagação em crescimento lento (Oliveira & Aloufa, 2022) e criopreservação (Normah et al., 2019).

Conforme Costa e Silva et al. (2017), existem diferenças entre variedades botânicas de mangabeira e, ainda, entre progênies da mesma variedade. Poucos estudos fazem comparações das respostas entre as variedades botânicas, possivelmente devido a dificuldades de identificação. É interessante que as condições de cultivo sejam estabelecidas de maneira a resgatar e armazenar o germoplasma e auxiliar no melhoramento genético. Assim, protocolos de micropropagação direcionados às variedades botânicas são necessários.

Para o melhoramento, a caracterização do germoplasma é importante para detecção da variabilidade genética e adoção de estratégias de melhoramento genético. Uma lista de descritores morfoagronômicos da mangabeira foi apresentada por Silva-Junior et al. (2018), que auxiliam a identificação de matrizes superiores.

Uma alternativa para o melhoramento da mangabeira é a reprodução assexuada de matrizes selecionadas para gerar clones a serem testados em ensaios específicos (Chaves, 2006). Neste contexto, a micropropagação é uma maneira interessante para obtenção de clones com qualidade fisiológica e fitossanitária, e ainda são fonte de propágulos. Outra alternativa é a seleção recorrente associada ou não à seleção de clones. A seleção poderia ser realizada tomando-se as melhores progênies, desconsiderando o nível de subpopulações, e as melhores plantas dentro de cada progênie selecionada (Chaves, 2018). Neste sentido, a micropropagação também surge como uma forma de obter progênies e seleção das melhores plantas para posterior clonagem.

Apesar da literatura insuficiente sobre os aspectos da micropropagação das diferentes variedades botânicas da mangabeira, relatos científicos sem a descrição da variedade botânica, mostram a diversidade de respostas em condições *in vitro* (Sá et al. 2012; Lédo et al. 2007; Freire et al. 2019). Dessa maneira, o objetivo geral deste trabalho foi avaliar o efeito de diferentes fitorreguladores na micropropagação de diferentes variedades botânicas de mangabeira, da coleção de germoplasma da Escola de Agronomia da UFG.

CAPÍTULO 1

MICROPROPAGAÇÃO DA MANGABEIRA: REVISÃO E PERSPECTIVAS PARA CONSERVAÇÃO ¹

Emiliane dos Santos Belo²; Sérgio Tadeu Sibov²

¹ Capítulo elaborado como artigo de revisão na revista científica **TreeDimensional** (ISSN 2447-9829)

² Universidade Federal de Goiás. Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas. Goiânia, GO, Brasil.

BELO, E. S., SIBOV, S. T. Micropropagação da Mangabeira: Revisão e Perspectivas para Conservação. TreeDimensional, Goiânia, 2023.

2. MICROPROPAGAÇÃO DA MANGABEIRA: REVISÃO E PERSPECTIVAS PARA CONSERVAÇÃO

2.1 RESUMO

A mangabeira é uma árvore frutífera distribuída em todas as regiões do Brasil, produz frutos comestíveis de importância para geração de renda. As respostas fenotípicas das variedades botânicas de mangabeira, em cultura de tecidos, ainda não foram muito exploradas. Estudos sobre a micropropagação são importantes para obter plântulas e explantes com qualidade genética e fitossanitária adequada, com fins de conservação e intercâmbio de germoplasma. Esta revisão tem como objetivo expor os principais métodos em diferentes fases da micropropagação da mangabeira. Os relatos mostram diversas repostas para mangabeira *in vitro*, sem mencionar a variedade botânica estudada. Encontraram bons índices de germinação com sementes em meios WPM e MS líquido ou gelificado, sem sacarose ou com a metade da concentração, suplementado com 0,2 mg.L⁻¹ de giberelina (GA₃) ou com 2,0 g.L⁻¹ de carvão ativado. Para multiplicação de brotos a literatura mostra usos de fitorreguladores auxinas, citocininas principalmente; além de etileno, ácido abscísico e giberelinas. Dispensam-se uso de qualquer fitorregulador para brotação, enquanto recomendam concentrações superiores a 3,5 mg.L⁻¹ de BAP e 0,5 mg.L⁻¹ de ANA para a formação de calos. A espécie tem baixa resposta para enraizamento com auxinas. Contudo, com a perda de diversidade genética pela devastação do Cerrado, o sucesso da clonagem *in vitro* de plantas adultas amplia a possibilidade de conservação de genótipos de matrizes em ambiente natural.

Palavras-chave: variedades botânicas, mangabeira, micropropagação, fitorreguladores.

2.2 ABSTRACT

The mangabeira is a fruit tree distributed in all regions of Brazil, producing edible fruits that are important for generating income. The phenotypic responses of mangabeira botanical varieties, in tissue culture, have not yet been widely explored. Studies on micropropagation are important to obtain seedlings and explants with adequate genetic and phytosanitary quality, for conservation purposes and germplasm collection. This review aims to expose the main methods in different phases of mangabeira micropropagation. Reports show diverse responses to mangabeira in vitro, not to mention the scientific botanical variety. They found good germination rates with seeds in liquid or gelled WPM and MS media, without sucrose or with half the concentration, supplemented with 0.2 mg.L⁻¹ of gibberellin or 2 g.L⁻¹ of charcoal. For budding multiplication, the literature shows uses of auxin phytohormones, mainly cytokinins; in addition to ethylene, abscisic acid and gibberellins. The use of any phytohormone for sprouting is not required, while recommending concentrations greater than 3.5 mg.L⁻¹ of BAP and 0.5 mg.L⁻¹ of NAA for the formation of callus. The species has a low response to rooting with auxins. However, given the high rates of loss of genetic diversity due to the devastation of the Cerrado, the success of in vitro cloning of adult plants increases the possibility of conserving genotypes from matrices in a natural environment.

Keywords: botanical varieties, mangabeira, micropropagation, phytohormones.

2.3 INTRODUÇÃO

A mangabeira é uma árvore frutífera distribuída em todas as regiões do Brasil, ocorrente no Cerrado, Amazônia e Mata Atlântica (REFLORA, 2023). Produz frutos comestíveis, com alto teor de polpa com diversos carotenóides, vitaminas antioxidantes e uma excelente fonte de vitamina C e folatos (Cardoso et al., 2013). A espécie também é importante para geração de renda, pela coleta em populações naturais, comum em comunidades extrativistas (Oliveira & Aloufa, 2020).

A espécie é classificada na família Apocynaceae, com cerca de 200 gêneros e 2000 espécies, distribuídas nas regiões tropicais e, principalmente, em clima temperado. No

Brasil, são registrados 78 gêneros e 782 espécies da Família Apocynaceae (REFLORA, 2023). A mangabeira tem o nome científico *Hancornia speciosa* Gomes. São reconhecidas seis variedades de mangabeira (Monachino, 1945): *H. speciosa* var. *speciosa* Gomes, *H. speciosa* var. *gardneri* (A. DC.) Muell. Arg., *H. speciosa* var. *pubescens* (Nees. Et Martius) Muell. Arg., *H. speciosa* var. *cuyabensis* Malme., *H. speciosa* var. *maximiliani* A. DC., *H. speciosa* var. *lundii* A. DC.

Para a mangabeira, a micropropagação pode constituir uma alternativa econômica adequada em relação aos métodos clássicos de propagação de espécies florestais nativas. Além de oferecer a possibilidade de propagação de árvores selecionadas, possibilita a limpeza clonal, obtendo-se plantas livres de vírus por meio de ápices caulinares e meristemas, superando problemas de contaminação patogênica (Wendling et al., 2006).

A literatura aborda uma ampla gama de respostas frente ao uso de fitorreguladores na micropropagação da mangabeira, mas raramente descreve a variedade botânica. A variabilidade fenotípica das variedades botânicas vista por Ganga et al. (2009) deve ser considerada, pois não existe um padrão de respostas das plantas na multiplicação in vitro, principalmente quando se refere às espécies não-domesticadas.

São necessários estudos de meios de cultura e condições que favoreçam a germinação in vitro das espécies não-domesticadas, tanto para obter plântulas com qualidade genética e fitossanitária adequada (Pinheiro et al., 2001) ou como alternativa de resgate de germoplasma nativo (Oliveira et al., 2013).

As respostas fenotípicas das variedades botânicas de mangabeira, em cultura de tecidos, ainda não foram muito exploradas. Esta revisão tem como objetivo expor os principais métodos em diferentes fases da micropropagação da mangabeira.

2.4 EMBRIOGÊNESE ZIGÓTICA DA MANGABEIRA

A embriogênese zigótica em plantas é o processo em que ocorre a formação e desenvolvimento do embrião a partir do zigoto e pode ser utilizada em estudos do desenvolvimento e diferenciação de plantas (Floh et al., 2015), e como forma de multiplicação e armazenamento de germoplasma vegetal. É uma técnica que permite o armazenamento e a multiplicação de espécies com sementes recalcitrantes e de baixa dispersão. Também tem sido usada para superar a dormência de sementes, para testar a viabilidade, além de servir como fonte de explantes (Hu & Ferreira, 1998).

Alguns obstáculos para a germinação de embriões zigóticos são apresentados, como a contaminação e dificuldade de remoção do embrião do diásporo sem causar danos físicos (Martendal et al., 2013). Estudos de meios de cultura e condições que favoreçam a germinação *in vitro* das espécies são importantes, tanto para maximizar a taxa de germinação como para obter plântulas com qualidade genética e fitossanitária adequada, que sirvam como fonte de explantes em experimentos de cultura de tecidos e que facilitem a conservação e transferência de germoplasma da espécie (Pinheiro et al., 2001).

O sucesso da embriogênese zigótica em mangabeira foi relatada por vários autores. É uma técnica que permite, frequentemente, maior germinabilidade das sementes que em viveiros, pois as condições *in vitro* são mais uniformes aos processos de desenvolvimento inicial da plântula (Noletto & Silveira, 2004).

As recomendações na literatura científica para germinação *in vitro* e cultura de embriões são diversas, mas não se aplicam especificamente às diferentes variedades de mangabeira. Apenas o estudo de Vieira et al. (2018), em germinação *in vitro* de sementes das variedades botânicas *gardneri*, *cuyabensis* e *pubescens*, mostraram que não houve diferenças significativas nas taxas de germinação com o uso de ácido indolbutírico (AIB).

Cabral et al. (2013) mostraram que os melhores índices de porcentagem de germinação foram com sementes em meio WPM líquido sem sacarose ou com 15 g.L⁻¹ e sem agitação. Freire et al. (2011), dispensam o uso de ácido indolacético (AIA) e 6-benzilaminopurina (BAP) na germinação da mangabeira. Soares et al. (2009) mostraram que o meio de cultura WPM e MS com metade da concentração de sacarose e suplementado com 0,2 mg.L⁻¹ de giberelina (GA₃) promoveram altas taxas de germinação. Ledo et al. (2007) mostraram que o meio de cultura MS com metade da concentração salina, acrescido de 2,0 g.L⁻¹ de carvão ativado proporciona 100% de germinação e bom desenvolvimento da parte aérea e sistema radicular de plântulas de mangabeira *in vitro*. Todavia, Machado et al. (2004) obtiveram sucesso na germinação de diferentes matrizes de mangabeira em meio MS sem fitorreguladores.

2.5 RECALCITRÂNCIA DAS SEMENTES E CRESCIMENTO LENTO DA MANGABEIRA

Sementes de mangabeira são sensíveis à dessecação, o que dificulta a conservação *ex situ* em bancos de sementes e para a conservação da espécie isso pode ser

perigoso (Masetto & Scalon, 2014). Alguns trabalhos mostram que o condicionamento osmótico de sementes pode ser uma alternativa para espécies recalcitrantes. Esta técnica é baseada na hidratação controlada das sementes a um nível que permite a pré-germinação, mas sem emergência radicular, que pode ser feita pela imersão das sementes em soluções com substâncias osmóticas (Khan, 1992).

A coleção *in vitro* por crescimento lento é uma alternativa potencial para conservação de germoplasma de mangabeira. Neste contexto, a taxa de crescimento das plantas é reduzida através de fitorreguladores retardantes, como o ácido abscísico e etileno (Ledo et al., 2011). No processo de dessecação, a redução no conteúdo de água pode causar danos físicos e moleculares, como mudanças na atividade de proteínas e redução na integridade da membrana celular, resultando na deterioração (Pammenter & Berjak, 2014; Umarani et al., 2015).

Para conservação *in vitro* sob crescimento lento, a mangabeira naturalmente promove o ajustamento osmótico e acúmulo de prolina para evitar o estresse osmótico (Santos et al., 2016). Para embriões zigóticos de mangabeira, alguns estudos foram feitos com objetivo de conservação a longo-prazo por técnicas de dessecação *in vitro*. Conforme Santana et al. (2018) a viabilidade de embriões tem mostrado comportamento diferenciado de acordo com a técnica de dessecação utilizada.

A dessecação em sílica gel e em solução de sacarose 0,3 M seguida por criopreservação em nitrogênio líquido reduziu a taxa de germinação e crescimento de embriões zigóticos de mangabeira. Assim, a técnica apresentada por Nunes et al. (2022) mostrou que a redução do potencial hídrico a -0,8 MPa com polietilenoglicol e adição de própolis e fungicida foram eficientes para manter o vigor das sementes de mangabeira.

De acordo com Masetto & Scalon (2014), a redução no conteúdo da umidade de 20% para 5% reduziu o potencial fisiológico das sementes. Dresch et al. (2016) mostraram que as sementes foram tolerantes à redução do conteúdo de água para 15% com rápida dessecação e 30% com dessecação lenta. Soares et al. (2014) evidenciaram a sensibilidade à dessecação das sementes de mangabeira, em que a secagem por 34 horas a 30°C comprometeu a qualidade fisiológica e vigor das sementes. Santos et al. (2017) observaram que a secagem de sementes de mangabeira pode ocorrer naturalmente até 106 horas após a extração dos frutos sem comprometer a taxa de germinação *in vitro*.

Outra técnica promissora para o armazenamento de germoplasma da mangabeira é a criopreservação. A criopreservação é uma técnica disponível para garantir a conservação

por longos períodos de espécies ameaçadas ou com problemas de propagação. Consiste na conservação de material biológico em temperatura ultra baixa (-196°C) em nitrogênio líquido (Engelmann, 2011). É utilizada na conservação ex situ, especialmente de espécies que não produzem sementes ou que são recalcitrantes (Kaczmarczyk et al., 2011) e assim não podem ser preservadas em bancos de conservação de sementes (Pilatti et al., 2011).

2.6 FITORREGULADORES NA ORGANOGÊNESE DA MANGABEIRA

Há dificuldades de produção em larga escala de mudas de plantas nativas do Cerrado a partir de organogênese direta e indireta devido à alta variação nas respostas morfogênicas dessas plantas. Enquanto algumas espécies produzem centenas de brotos em uma subcultura, para outras espécies, como as nativas do Cerrado, Sano & Almeida (1998) indicam a produção de cerca de dez brotos por explante.

Para multiplicação in vitro da mangabeira a literatura aborda uma ampla gama de respostas frente às concentrações dos fitorreguladores auxinas, citocininas principalmente; além de etileno, ácido abscísico e giberelinas. Para a citocinina 6-benzilaminopurina (BAP) e a auxina ácido naftalenoacético (ANA), Oliveira et al. (2016) observaram que a mangabeira não é responsiva à BAP e ANA na brotação de segmentos nodais. Concentrações superiores a 3,5 mg.L⁻¹ de BAP e 0,5 mg.L⁻¹ de ANA promovem a formação de calos.

Cabral (2012) recomenda a dose de 1 mg.L⁻¹ de cinetina ou a interação com 1 mg.L⁻¹ de ANA e 1 mg.L⁻¹ de BAP para multiplicação de brotos. Para Soares et al. (2011), 2 mg.L⁻¹ de BAP em meio WPM induz as melhores respostas organogênicas na cultura de segmentos caulinares de mangabeira e maior taxa de multiplicação de brotações. Soares et al. (2007) obtiveram maior comprimento de brotos com 1 a 2 mg.L⁻¹ de AIB, mas não houve enraizamento com uso de até 3 mg.L⁻¹ de ANA, o qual ocorreu com 3 mg.L⁻¹ de BAP. Segundo Lemos et al. (2006), a adição isolada de 1 e 2 mg.L⁻¹ de AIB, ANA e 2,4-D em meio MS não foi satisfatória para enraizamento.

Vários fatores interferem no sucesso de formação de brotos, dentre eles podemos citar a troca gasosa no frasco (Sá et al., 2012), níveis adequados de fitorreguladores e seu efeito residual (Soares et al., 2011), tempo de cultivo in vitro (Santos et al., 2011),

temperatura (Pereira-Neto, 2001), subcultivos (Pires, 2017), dentre outros. Os fitorreguladores podem ser utilizados para induzir respostas diferenciadas nos brotos, seja encurtando os nós ou alongando (estiolamento) para novas brotações (Dias et al., 2011).

Para multiplicação dos brotos, Sá et al. (2012) verificaram que o intervalo de tempo ideal para as fases de estabelecimento, primeiro e segundo subcultivos de brotos de mangabeira é de cinquenta dias. Todavia Soares et al. (2011) observaram que a citocinina BAP reduziu a capacidade de multiplicação dos ápices caulinares em subcultivos sucessivos de mangabeira. Pereira-Netto (2001) complementa que seguimento nodal de mangabeira crescendo sob temperatura elevada (35°C) ou em meio de cultura com inibidor da síntese de etileno, o metilciclopropeno, apresenta maior taxa de multiplicação de brotos.

A multiplicação de brotos por organogênese direta possibilita a formação de plantas com genótipo desejável. É uma alternativa interessante para produção de mudas clonais e estabelecimento de plantios homogêneos para espécies com alto valor genotípico, que apresentam difícil enraizamento e brotação, ou quando outras técnicas de propagação vegetativa são insatisfatórias (Brondani et al., 2009).

Todavia, a capacidade de multiplicação de tecidos originados de plantas adultas é variável. Gratapaglia & Machado (1998) salientam que a micropropagação de espécies lenhosas a partir de explantes oriundos de plantas germinadas *in vitro* é mais viável sob o ponto de vista fisiológico e experimental, devido ao estágio juvenil e capacidade de maior resposta organogênica. Gricoletto (1997) comenta sobre a baixa resposta morfogênica dos tecidos arbóreos adultos e que são escassos os trabalhos sobre a capacidade de multiplicação de tecidos adultos de espécies do Cerrado para produção de mudas clonais.

Machado et al. (2004) avaliaram a capacidade de sobrevivência em nove subcultivos sucessivos de clones de 12 matrizes de mangabeira. Verificaram que a maior variabilidade obtida foi entre os clones dentro da matriz, o que mostra a importância da seleção de clones na multiplicação *in vitro* da mangabeira. Ainda mostraram que a partir da sétima repicagem houve, para a maioria dos clones, baixa porcentagem de sobrevivência. O tipo de explante influencia na resposta morfogênica do tecido na clonagem.

Seguimentos nodais com ápice excisado de plantas germinadas *in vitro* são amplamente utilizados como fonte de explantes assépticos para subcultivos subsequentes e organogênese direta (Soares et al., 2007; Sá et al., 2012). Sá et al. (2012) mostraram que seguimento mediano e basal de mangabeira induziram a formação de ramos adventícios com alta quantidade de nós comparados àqueles formados de seguimento apical durante 65 dias.

Também nota que os ramos gerados do seguimento apical tiveram perda de vigor sendo mais sensível ao acúmulo de etileno.

Segundo Bonga (1985), por ser de manipulação relativamente fácil, principalmente devido ao tamanho do explante utilizado, e por originar plantas em geral geneticamente mais estáveis, a proliferação de gemas axilares é a técnica mais utilizada para a micropropagação de plantas lenhosas, como a mangabeira. Todavia, plantas obtidas a partir de explantes de sementes assepticamente germinadas geralmente apresentarão maior variabilidade de fenótipo devido à variação genética. Contudo, acerca de altas taxas de perda de diversidade genética pela devastação do Cerrado, o sucesso da clonagem *in vitro* de plantas adultas amplia a possibilidade de conservação de genótipos de matrizes em ambiente natural. A partir disso, pode-se estabelecer jardins clonais como estratégia de armazenamento de germoplasma.

2.7 DIVERSIDADE GENÉTICA DA MANGABEIRA

A diversidade genética de acessos e populações naturais de mangabeira foi estudada por análises de parâmetros genéticos e uso de marcadores moleculares. Para a coleção de germoplasma de mangabeira da EA-UFG, há alta diversidade genética conservada nas progênies das matrizes. Isso faz a coleção importante como população-base para o pré-melhoramento da mangabeira em programas de melhoramento e conservação de recursos genéticos (Collevati et al., 2016).

Conforme Almeida et al. (2019), a variedade botânica *cuyabensis* é superior às outras considerando a produtividade de frutos e tamanho da planta. Progênies superiores na fase juvenil serão potencialmente mais produtivas na fase adulta, permitindo a seleção precoce de genótipos superiores. Assim, recomendam a seleção de plantas superiores dentro das progênies.

A diversidade genética entre árvores adultas de mangabeira na região dos Tabuleiros Costeiros foi avaliada por primers ISSR (*Inter Simple Sequence Repeats*), e observaram alta diversidade genética (Nunes et al., 2021). Observaram que as características dos frutos, sementes e as mudas são úteis para uso em conservação e propagação da espécie, bem como na variabilidade fenotípica, atestada por dados de herdabilidade, germinação e vigor.

De maneira semelhante, para a coleção de mangabeira na Chapada dos Guimarães – MT, os primers ISSR foram eficazes para detecção de polimorfismo genético em mangabeira, servindo de aporte para estratégias que visem à conservação, melhoramento genético e exploração econômica da espécie (Soares et al., 2017). Santos et al. (2017) observaram baixa diversidade genética entre acessos de mangabeira avaliados na coleção de Germoplasma dos Tabuleiros Costeiros. Quatro acessos apresentaram altos valores de vitamina C e representam potencial para seleção e programas de melhoramento genético. Embora existam evidências de correlação entre as variedades botânicas e os estados brasileiros onde se encontram as populações, este estudo não observou uma correlação clara entre a estrutura genética das variedades e os biomas.

Sobre estudos de estrutura de populações de mangabeira, Maia et al. (2022) evidenciaram que as populações de *H. speciosa* var. *speciosa* da Mata Atlântica são mais distantes geneticamente de populações do Cerrado, apesar de formarem um único grupo, justamente por estarem sujeitos a diferentes pressões de seleção. As populações do Cerrado e Caatinga (mais provavelmente a *H. speciosa* var. *pubescens*) foram geneticamente mais próximas, embora a área da coleta tenha uma grande distância geográfica. As condições ambientais de Cerrado e Caatinga incluem a zona de transição entre esses dois biomas, são mais similares, o que reduz a pressão de seleção entre as populações desses dois biomas.

Collevati et al. (2018) evidenciaram a diferenciação genética por meio de clusteres Bayesianos e relacionaram à taxonomia de Monachino (1945). Embora aceita a classificação botânica de Monachino (1945) com seis variedades botânicas de *H. speciosa*, recentemente houve reorganização em duas variedades: *H. speciosa* var. *pubescens*, compreendendo indivíduos pubescentes do Brasil Central e *H. speciosa* var. *speciosa*, com todas as outras variedades de formas (Koch et al., 2015). No entanto, os dados genéticos das populações analisadas não suportam a classificação em duas variedades botânicas. Conforme Collevati et al. (2018), isso é devido à alta mistura dessas duas variedades e porque indivíduos de *H. speciosa* var. *pubescens* foram agrupadas geneticamente com *H. speciosa* var. *gardneri*.

Conforme Chaves (2006), geneticamente, as populações de *H. speciosa* foram agrupadas da seguinte forma: um grupo de *H. speciosa* var. *speciosa* correspondente a populações do Nordeste do Cerrado; *H. speciosa* var. *gardneri* + *H. speciosa* var. *pubescens* correspondente a populações do Cerrado Central; *H. speciosa* var. *cuyabensis* + *H. speciosa* var. *gardneri* correspondente a populações do Leste do Cerrado; e a grupo de *H. speciosa*

var. *cuyabensis* + *H. speciosa* var. *gardneri* correspondente a populações do Sudeste e Sudoeste do Cerrado. Há hipótese que o leste do Cerrado poderia ter uma zona de contato entre *H. speciosa* var. *gardneri* e *H. speciosa* var. *speciosa* (Chaves et al., 2020).

Flores et al. (2018) estudaram quatro variedades botânicas de *H. speciosa* com objetivo de fornecer uma maneira segura para quimiotaquia. As análises quimiométricas de diferentes variedades do Centro-Oeste brasileiro, por ressonância magnética nuclear, evidenciaram que a var. *speciosa* é distinta das outras variedades por exibir alta diferenciação química, enquanto var. *pubescens* pode ser identificada baseada em altos níveis de compostos fenólicos. Além disso, a composição química não foi devido ao ambiente pois utilizaram amostras de jardim experimental, assim toda variação pode ser devida a diferenciação genética ou efeito materno das variedades.

2.8 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A mangabeira é uma espécie de ampla ocorrência no Brasil, importante economicamente e com desafios para conservação. Estudos sobre caracterização da espécie são bem estabelecidos. Porém, ainda existem divergências quanto à aplicação de variedades botânicas, em relação à diferenciação genética entre elas e sobre o efeito materno em progênies.

De maneira geral, as coleções de germoplasma de mangabeira do Brasil, as quais ainda não são muitas, são continuamente estudadas quanto aos caracteres morfoagronômicos e de diversidade genética. A associação das informações de germoplasma *in situ* e *ex situ* certamente contribuem para o entendimento do fluxo gênico e diferenças das respostas ambientais da espécie.

As variedades botânicas ainda precisam ser mais exploradas, tanto quanto ao potencial da progênie para o pré-melhoramento da espécie ou mesmo para elaboração de estratégias de resgate de germoplasma. Os estudos de estrutura populacional e diversidade genética das coleções de germoplasma são de importância para identificação de genótipos com características desejáveis.

As estratégias para conservação *in situ* do recurso genético da mangabeira no Brasil precisam estar associadas ao Sistema Nacional de Conservação da Natureza, Lei n.º 9.985, de 18 de julho de 2000 (Brasil, 2020), que é atualmente um dos mais notáveis sistemas de unidades de conservação do mundo (Pádua, 2018). A mangabeira tem ampla ocorrência

em diferentes biomas, a conservação de seus recursos genéticos deve ser com esforços para conservar tantas populações naturais quanto possível.

2.9 REFERÊNCIAS

ALMEIDA, G. Q.; CHAVES, L. J.; VIEIRA, M. C.; GANGA, R. D. Agronomic evaluation of a *Hancornia speciosa* Gomes germplasm collection from the Brazilian Cerrado. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Viçosa, v. 19, p. 8-14, 2019.

ALMEIDA, L. M.; FLORIANO, J. F.; RIBEIRO, T. P.; MAGNO, L. N.; MOTA, L. S. L. S.; PEIXOTO, N.; MRUÉ, F.; MELO-REIS, P.; JUNIOR, R. S. L.; GRAEFF, C. F. O.; GONÇALVES, P. J. *Hancornia speciosa* latex for biomedical applications: physical and chemical properties, biocompatibility assessment and angiogenic activity. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 25, p. 2153-2162, 2014.

ARRUDA, A. S.; FARIA, R. Q.; MOREIRA, A. S. F. P.; FLORIANO, J. F.; GRAEFF, C. F. O.; GONÇALVES, P. J.; ALMEIDA, L. M. Avaliação da produção de látex em mangabeiras do cerrado goiano. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 26, p. 939- 948, 2016.

BONGA, J. M. Tissue culture techniques. In: BONGA, J. M., DURZAN, D. J. Tissue culture in forestry. Dordrecht: Martinus Nijhoff, 1985. p. 4-35.

BRONDANI, G. E.; DUTRA, L. F.; GROSSI, F.; WENDLING, I.; HORNIG, J. Estabelecimento, multiplicação e alongamento *in vitro* de *Eucalyptus benthamii* Maiden & Cambage x *Eucalyptus dunnii* Maiden. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 33, n. 1, p. 11-19, 2009.

CABRAL, J. S. R. **Otimização de Parâmetros Físico-Químicos e Microbiológicos no Estabelecimento *In Vitro* de Explantes de Mangabeira (*Hancornia Speciosa* Gomes) e na sua Promoção do Crescimento**. 2012. 182 f. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias) – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – Câmpus Rio Verde, Rio Verde, 2012.

CABRAL, J. S. R.; ALBERTO, P. E.; PEREIRA, F. D.; SOUCHIE, E. L.; SILVA, F. G. In vitro Cultivation of *Hancornia speciosa* Gomes: The Physical Constitution of the Culture Medium, Sucrose Concentrations and Growth Conditions. **Plant Tissue Culture and Biotechnology**, San Diego, v. 23, n. 2, p. 177-187, 2013.

CALDAS, L. S.; MACHADO, L. L.; CALDAS, S. C.; CAMPOS, M. L.; CALDAS, J. A.; PHARIS, R. P.; PEREIRA-NETTO, A. B. Growth-active gibberellins overcome the very slow shoot growth of *Hancornia speciosa*, an important fruit tree from the Brazilian “Cerrado”. **Trees**, Oxford, v. 23, p. 1229–1235, 2009.

CARDOSO, L. M.; REIS, B. L.; OLIVEIRA, D. S.; PINHEIRO-SANT’ANA, H. M. Mangaba (*Hancornia speciosa* Gomes) from the Brazilian Cerrado: Nutritional value, carotenoids and antioxidant vitamins. **Fruits**, Leuven v. 69, n. 2, 2013.

CHAVES, L. J. **Conservação, domesticação e melhoramento de espécies nativas do Cerrado**. In: AMABILE, R.F., VILELA, M.S., PEIXOTO, J.R. (ed.). Melhoramento de Plantas variabilidade genética, ferramentas e mercado. Brasília, DF: Sociedade Brasileira de Melhoramento de Plantas, 2018, p. 93-208.

CHAVES, L. J. **Recursos genéticos no Cerrado**. In: SILVA JR, J. F.; LÉDO, A. S. A cultura da mangaba. Aracaju, SE: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2006, p. 75-84.

CHAVES, L. J.; GANGA, R. M. D.; GUIMARÃES, R. A.; CALDEIRA, A. J. R. Quantitative and molecular genetic variation among botanical varieties and subpopulations of *Hancornia speciosa* Gomes (Apocynaceae). **Tree Genetics and Genomes**, Switzerland, v. 16, n. 4, p. 1-11, 2020.

COLLEVATTI, R. G.; OLIVATTI, A. M.; TELLES, M. P. C.; CHAVES, L. J. Gene flow among *Hancornia speciosa* (Apocynaceae) varieties and hybrid fitness. **Tree Genetics and Genomes**, Switzerland, v. 12, p. 74-85, 2016.

COLLEVATTI, R. G.; RODRIGUES, E. E.; VITORINO, L. C.; LIMA-RIBEIRO, M. S.; CHAVES, L. J.; TELLES, M. P. C. Unravelling the genetic differentiation among varieties of the Neotropical savanna tree *Hancornia speciosa* Gomes. **Annals of Botany**, Oxford, v. 122, p. 973-984, 2018.

COSTA e SILVA, S. M.; RIBEIRO, K. O.; PIRES, L. L.; CRUZ, G. H. T.; DOURADO, F. O. Caracteres Morfológicos de Variedades Botânicas de *Hancornia speciosa* Gomes. **Revista Mirante**, Anápolis, v. 10, n. 5, 2017.

DIAS, M. M.; PASQUAL, M.; ARAÚJO, A. G.; SANTOS, V. A.; OLIVEIRA, A. C.; RODRIGUES, V. A. Concentrações de reguladores vegetais no estiolamento in vitro de ananás do campo. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 32, n. 2, p. 513-520, 2011.

DRESCH, D. M.; JEROMINI, T. S.; SCALON, S. P. Q.; MUSSURY, R. M.; MASETTO, T. E.; PEREIRA, Z. V. Germinação e Secagem de Sementes de *Hancornia speciosa* Gomes. **Journal of Bioscience**, Uberlândia, v. 32, n. 2, p. 496-504, 2016.

ENGELMANN, F. Use of biotechnologies for the conservation of plant biodiversity. In **Vitro Cellular and Developmental Biology Plant**, Springer Nature, n. 47, p. 5-16, 2011.

FLOH, E. I. S.; SANTOS, A. L. W.; DEMARCO, D. **Embriogênese Vegetal: abordagens básicas e biotecnológicas**. In: RESENDE, R.; SOCCOL, C. R. (Org.). Biotecnologia Aplicada à Saúde: Fundamentos e Aplicações. 1. ed. São Paulo: Blücher S/A, 2015, p. 1-10.

FLORES, I. S.; SILVA, A. K.; FURQUIM, L. C.; CASTRO, C. F. S.; CHAVES, L. J.; COLLEVATTI, R. G.; LIÃO, L. M. HR-MAS NMR allied to chemometric on *Hancornia speciosa* varieties differentiation. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, Campinas, v. 29, p. 708-714, 2018.

FREIRE, K. C. S.; COELHO, G. G.; RUSSO, S. L.; SILVA, A. V. C.; LÉDO, A. S.; SÁ, A. J.; MACHADO, C. A. Germinação in vitro de embriões zigóticos e aclimação de plântulas de mangaba oriundas da cultura de embrião (*Hancornia speciosa* Gomes). **Scientia Plena**, Sergipe, v. 7, n. 11, p. 1-7, 2011.

- GANGA, R. M. D.; CHAVES, L. J.; NAVES, R. V. Parâmetros genéticos em progênes de *Hancornia speciosa* Gomes do Cerrado. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, v. 37, p. 395- 404, 2009.
- GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. (Eds.). **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília, DF: Embrapa-SPI/Embrapa-CNPB, p. 183-260, 1998.
- GRIGOLETTO, E. R. **Micropropagação de *Hancornia speciosa* Gomes (Mangabeira)**. 1997. 73 f. Dissertação (Mestrado em Botânica) - Universidade de Brasília, Brasília, DF, 1997.
- HU, C. Y.; FERREIRA, A. G. *In vitro* embryology of *Ilex*. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. (Ed.). **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: Embrapa-SPI; Embrapa-CNPB, 1998. p. 371-393.
- KACZMARCZYK, A.; TURNER, S. R.; BUNN, E.; MANCERA, R. L.; DIXON, K. L. Cryopreservation of threatened native Australian species-what have we learned and where to from here? **In Vitro Cellular and Developmental Biology Plant**, Switzerland, v. 47, n. 1, p.17-25, 2011.
- KHAN, A. A. Preplant physiological seed conditioning. In: JANICK, J. (ed.). **Horticultural Reviews**. Wiley and Sons, 1992, v. 13, p. 131-181.
- KOCH, I.; RAPINI, A.; SIMÕES, A. O.; KINOSHITA, L. S.; SPINA, A. P.; CASTELLO, A. C. D. 2015. *Apocynaceae* in **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB15558>. Acesso em 20/07/2023.
- LÉDO, A. D. S.; SECA, G. S. V.; BARBOZA, S. B. S. C.; SILVA JUNIOR, J. F. D. Crescimento inicial de mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes) em diferentes meios de germinação in vitro. **Ciência e Agrotecnologia de Lavras**, Lavras, v. 31, 989-993, 2007.
- LEMOS, E. E. P.; COSTA, M. A. P. C.; ALOUFA, M. A. I.; LÉDO, A. S.; ALMEIDA, W. A. B.; DANTAS, A. C. V. L.; SILVA, S. A.; SOUZA, F. V. D. Micropropagação. In: SILVA JUNIOR, J. F.; LÉDO, A. S. (Ed.). **A cultura da mangaba**. Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2006, p. 125-133.
- MACHADO, L. L.; RAMOS, M. L.; CALDAS, L. S.; VIVALDI, L. J. Seleção de matrizes e clones de mangabeira para o cultivo 'in vitro'. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 39, n. 5, p. 431-435, 2004.
- MAIA, A. K. S.; TERTO, J.; OLIVEIRA, I. F.; NASCIMENTO, W. F.; ALMEIDA, C.; SILVA, E. F. Genetic diversity and structure of *Hancornia speciosa* Gomes populations characterized by microsatellites markers. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Viçosa, v. 22, e38012228, 2022.
- MARTENDAL, C. O.; BENARDINO, M. M.; PEREIRA, F. D.; SILVA, F. G.; MENEZES, C. C. E.; HARA, A. C. B. A. M. In vitro cultivation of zygotic embryos from Murici (*Byrsonima cydoniifolia* A. Juss.): establishment, disinfection, and germination. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 35, n. 2, p. 221-229, 2013.

- MASETTO, T. E.; SCALON, S. P. Q. Drying and Osmotic Conditioning in *Hancornia speciosa* Gomes Seeds. **Revista Floresta e Ambiente**, Rio de Janeiro, v. 21, n. 1, p. 62-68, 2014.
- MONACHINO, J. A. A revision of *Hancornia* (Apocynaceae). **Lilloa**, Tucumán, v. 1, p. 19-48, 1945.
- NOLETO, L. G.; SILVEIRA, C. E. S. Micropropagação de copaíba. **Revista Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**, v. 33, p. 109-120, Brasília, 2004.
- NUNES, V. V.; SILVA-MANN, R.; SOUZA, J. L.; LIMA, L. C. D. P. L.; TORRES, M. F. O.; ÁLVARES-CARVALHO, S. V. Physiological and molecular changes in seeds of *Hancornia speciosa* Gomes stored in conservative solutions. **Journal of Seed Science**, Londrina, v. 44, e202244018, 2022.
- NUNES, V. V.; SILVA-MANN, R.; SOUZA, J. L.; CALAZANS, C. C. Geno-phenotypic diversity in a natural population of *Hancornia speciosa* Gomes: implications for conservation and improvement. **Genetic Resource Crop Evolution**, Springer Nature on line, v.68, p.2869-2882, 2021.
- OLIVEIRA, K. S. D.; ALOUFA, M. A. I. Extrativismo e Geração de Renda da Mangaba (*Hancornia Speciosa* Gomes) em Região Litorânea do Rio Grande do Norte. **Revista Brasileira de Agroecologia**, Rio de Janeiro, v. 15, n. 5, p. 291-304, 2020.
- OLIVEIRA, K. S.; MORAIS FREIRE, F. A.; ALOUFA, M. A. I. Efeito de 6-benzilaminopurina e ácido naftalenoacético sobre a propagação in vitro de *Hancornia speciosa*. **Floresta**, Curitiba, v. 46, n. 3, 335-342, 2016.
- OLIVEIRA, L. S.; DIAS, P. C.; BRONDANI, G. E. Micropropagação de espécies florestais brasileiras Leandro. **Pesquisa Florestal Brasileira**, Colombo, v. 33, n. 76, p. 439-453, 2013.
- PAMMENTER, N. W.; BERJAK, P. Physiology of Desiccation-Sensitive (Recalcitrant) Seeds and the Implications for Cryopreservation. **International Journal of Plant Sciences**, Chicago, v. 175, n. 1, p. 21–28, 2014.
- PEREIRA-NETTO, A. B. Effect of inhibitors of ethylene biosynthesis and signal transduction pathway on the multiplication of in vitro-grown *Hancornia speciosa*. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Springer Nature on line, v. 66, n. 1–7, 2001.
- PILATTI, F. K.; AGUIAR, T.; SIMÕES, T.; BENSON, E. E.; VIANA, A. M. *In vitro* and cryogenic preservation of plant biodiversity in Brazil. **In Vitro Cellular and Developmental Biology Plant**, Springer Nature on line, n. 47, p. 82-98, 2011.
- PINHEIRO, C. S. R.; MEDEIROS, D. N.; MACEDO, C. E. C.; ALLOUFA, M. A. I. Germinação *in vitro* de mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes) em diferentes meios de cultura. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 23, n. 2, p. 413-416, 2001.
- PIRES, D. C. M. **Conservação *in vitro* por crescimento lento de mangabeira do Cerrado (*Hancornia speciosa* Gomes)**. 2017. 68 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2017.

REFLORA. *Hancornia in Flora e Funga do Brasil*. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB15558>>. Acesso em: 20/07/2023.

SÁ, A. D. J.; LÉDO, A. D. S.; LÉDO, C. A. D. S. Conservação in vitro de mangabeira da região nordeste do Brasil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 41, 57-62, 2011.

SÁ, A. J.; LÉDO, A. S.; LÉDO, C. A. S.; PASQUAL, M.; SILVA, A. V. C.; SILVA JUNIOR, J. F. Tipo de vedação e explantes na micropropagação de mangabeira. **Ciência e Agrotecnologia de Lavras**, Lavras, v. 36, n. 4, p. 406-414, 2012.

SANO, S. M.; ALMEIDA, S. P. (Ed.) **Cerrado**: ambiente e flora. Planaltina: EMBRAPA-CPAC, 1998. 556 p.

SANTANA, F. V.; OKIVIERA, A. C. A.; OLIVEIRA, L. A. R.; MIRANDA, I. C. D.; MACHADO, C. A., SANTOS, P. A. A. Effect of Desiccation Time on Seed Moisture and Regeneration of Mangaba (*Hancornia speciosa*) Embryos. **Journal of Experimental Agriculture International**, Hooghly, West Bengal, v. 28, n. 1, p. 1-10, 2018.

SANTOS, M. C.; CARDOSO, B. T.; GOMES-COPELAND, K. K. P.; SILVA, A. V. C.; SILVA JUNIOR, J. F.; LÉDO, A. S. Teor de prolina em brotações adventícias de mangabeira cultivadas in vitro sob condições de estresse osmótico. **Scientia Plena**, Aracaju, v. 12, n. 12, p. 2016.

SANTOS, M. C.; LÉDO, A. S.; LÉDO, C. A. S.; SOUZA, F. V. D.; SILVA JÚNIOR, J. F. Efeito da sacarose e do sorbitol na conservação *in vitro* de segmentos nodais de mangabeira. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 42, n. 3, p. 735-741, 2011.

SANTOS, M. P.; AGRIAR, R. A.; BRANDÃO, D. C.; PIRES, L. L.; CASTRO Y. O.; SILVA, F. G.; NERI, L. M. S.; PEREIRA, D. R. M.; CASTRO, J. R.; SELEGUINI, A. Effect of seed desiccation and sucrose concentration on the in vitro establishment of mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes var. *gardneri*) seedlings. **African Journal of Agricultural Research**, Open Access on line, v. 12, n. 5, p. 348-353, 2017.

SANTOS, P. S.; FREITAS, L. S.; SANTANA, J. G. S.; MUNIZ, E. N.; RABBANI, A. R. C.; SILVA, A. V. C. Genetic diversity and the quality of Mangabeira tree fruits (*Hancornia speciosa* Gomes – Apocynaceae), a native species from Brazil, **Scientia Horticulturae**, Elsevier on line, v. 226, p. 372-378, 2017.

SOARES, A. N. R.; SANTANA, J. G. S.; MELO, M. F. V.; MUNIZ, A. V. C. S. Germinação de Sementes de Mangaba Submetidas à Secagem. *In*: IV Seminário de Iniciação Científica e Pós-Graduação da Embrapa Tabuleiros Costeiros, 4., 2014, **Aracaju**. Resumos [...]. Aracaju: CPATC. p. 395-403, 2014.

SOARES, F. P.; PAIVA, R.; ALVARENGA, A. A. D.; NERY, F. C.; VARGAS, D. P.; SILVA, D. R. G. Taxa de multiplicação e efeito residual de diferentes fontes de citocinina no cultivo in vitro de *Hancornia speciosa* Gomes. **Ciência e Agrotecnologia de Lavras**, Lavras, v. 35, p. 152-157, 2011.

SOARES, F. P.; PAIVA, R.; ALVARENGA, A. A. D.; NOGUEIRA, R. C.; EMRICH, E. B.; MARTINOTTO, C. Organogênese direta em explantes caulinares de mangabeira

(*Hancornia speciosa* Gomes). **Ciência e Agrotecnologia de Lavras**, Lavras, v. 31, p. 1048-1053, 2007.

SOARES, F. P.; PAIVA, R.; STEIN, V. C.; NERY, F. C.; NOGUEIRA, R. C.; OLIVERIRA, L, M. Efeito de Meios de Cultura, Concentrações de GA3 sobre a Germinação *in vitro* de Mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes). **Ciência e Agrotecnologia de Lavras**, Lavras v. 33, Comunicação, Edição Especial, p. 1847 -1852, 2009.

SOARES, F. S.; ROSSI, A. A B.; SILVA, B. M.; COCHEV, J. S.; SOBRINHO, S. P.; LUZ, P. B. Diversity and genetic structure of mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes), a fruit species from Cerrado. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 38, n. 4, suplemento 1, p. 2479-248, 2017.

UMARANI, R.; AADHAVAN, K.; FAISA, M. M. Understanding poor storage potential of recalcitrant seeds. **Current Science Association**, Bengaluru, v. 108, n. 11, p. 2023-2034, 2015.

VIEIRA, M. C.; OLIVIERA, R. M.; FRANÇA, J. B. A.; OLIVEIRA, C. C. P.; SOUZA, E. R. B. In vitro morphogenesis of different mangabeira (*Hancornia speciosa* gomes) varieties from the savanna of the Goiás. **Scientific Electronic Archives**, Rondonópolis, v. 11, n. 5, 2018.

WENDLING, I.; DUTRA, L. F.; GROSSI, F. **Produção de mudas de espécies lenhosas**. Colombo: Embrapa Florestas, 2006, 54 p.

CAPÍTULO 2

GERMINAÇÃO DE SEMENTES E RESGATE DE EMBRIÕES DE VARIEDADES BOTÂNICAS DE MANGABEIRA (*Hancornia speciosa* Gomes)¹

Emiliane dos Santos Belo²; Sérgio Tadeu Sibov²

¹ Capítulo elaborado como artigo para a revista científica **TreeDimensional** (ISSN 2447-9829)

² Universidade Federal de Goiás. Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas. Goiânia, GO, Brasil.

3 GERMINAÇÃO DE SEMENTES E RESGATE DE EMBRIÕES DE VARIEDADES BOTÂNICAS DE MANGABEIRA (*Hancornia speciosa* Gomes)

3.1 RESUMO

A mangabeira é uma árvore frutífera, classificada como *Hancornia speciosa* Gomes e são aceitas seis variedades botânicas de ocorrência natural, com consideráveis variações fenotípicas. O objetivo desse trabalho foi estabelecer as melhores condições para germinação e resgate de embriões das variedades botânicas de mangabeira *gardneri*, *cuyabensis* e *pubescens*. Colheu-se frutos de cinco matrizes das três variedades botânicas de mangabeira da EA-UFG. A descontaminação foi feita em solução de NaOH 1 M, etanol 70° G.L e hipoclorito de sódio com 2% de cloro ativo. Testou-se os meios de cultura completos: MS e WPM em dois tipos de explantes: sementes e embriões zigóticos, e depois testou-se os meios de cultura com níveis de sacarose: 0, 15, 30 e 45 g.L⁻¹, dentre os explantes: sementes e embriões zigóticos. O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso, com vinte repetições. As variedades botânicas *cuyabensis* e *gardneri* tem melhor sobrevivência em plantas germinadas de sementes e a var. *pubescens*, em plantas de resgate de embriões. Quanto aos meios completos, o meio WPM é satisfatório para micropropagação para todas as variedades botânicas da mangabeira. Em níveis de sacarose, a var. *pubescens* e *gardneri* tem melhor crescimento na ausência de sacarose ou 15 g.L⁻¹, tanto para plantas de resgate de embriões quanto de germinação de sementes. A var. *cuyabensis* tem melhor crescimento de plantas de resgate de embriões em meio WPM com uso de até 45 g.L⁻¹ de sacarose.

Palavras-chave: variedades botânicas, conservação, cultura de tecidos de plantas.

3.2 ABSTRACT

The mangabeira is a fruit tree, classified as *Hancornia speciosa* Gomes and six naturally occurring botanical varieties are accepted, with considerable phenotypic variations. Fruit was collected from five matrices of the three botanical varieties of mangabeira from EA-UFG. Decontamination was carried out in a solution of 1 M NaOH, 70% ethanol and 2% active chlorine sodium hypochlorite. Complete culture media were tested: MS and WPM on two types of explants: seeds and zygotic embryos, and then culture media were tested with sucrose levels: 0, 15, 30 and 45 g.L⁻¹, among explants: seeds and zygotic embryos. The experimental design was completely randomized, with twenty replications. The botanical varieties *cuyabensis* and *gardneri* have better survival in plants germinated from seeds and *var. pubescens*, in embryo rescue plants. As for complete media, the WPM medium is satisfactory for micropropagation for all mangabeira botanical varieties. At sucrose levels, *var. pubescens* and *gardneri* have better growth in the absence of sucrose or 15 g.L⁻¹, both for seed germination rescue plants. The *var. cuyabensis* has better growth of embryo rescue plants in WPM medium using up to 45 g.L⁻¹ of sucrose.

Keywords: botanical varieties, conservation, plant tissue culture.

3.3 INTRODUÇÃO

A *Hancornia speciosa* Gomes é uma árvore frutífera, de porte médio, bastante ramificada, com tronco tortuoso e geralmente único. A planta é classificada como *H. speciosa* Gomes e são aceitas seis variedades botânicas naturais de acordo com Monachino (1945): *H. speciosa* var. *speciosa* Gomes, *H. speciosa* var. *maximiliani* A. DC., *H. speciosa* var. *cuyabensis* Malme, *H. speciosa* var. *lundii* A. DC., *H. speciosa* var. *gardneri* (A. DC.) Muell. Arg., e *H. speciosa* var. *pubescens* (Nees. et Martius) Muell. Arg. Nevertheless.

As variedades botânicas são de ocorrência natural, com consideráveis variações fenotípicas, desde a altura da árvore, diâmetro do caule, coloração, formato, massa e produção de frutos, número e massa das sementes e rendimento da polpa (Ganga et al., 2010; Costa e Silva et al., 2017). Oliveira & Aloufa (2020) mostraram que o principal uso da mangabeira é para alimentação, seguido por propósitos medicinais, madeireiro, látex e para fertilizantes orgânicos. A espécie tem grande potencial econômico em vários setores e

cadeias de produção como: agroindústrias, produção de látex, extração de substâncias farmacêuticas e nutracêuticas (Almeida et al., 2016).

A planta exsuda látex, produz frutos nutritivos que se destacam como fonte de ferro e zinco, além de compostos tânicos, fenólicos e atividade antioxidante, que previnem doenças degenerativas (Santos et al., 2018). Tem capacidade terapêutica para controlar edema pulmonar causado por picada de escorpião (Yamashita et al., 2020). Na casca da planta são encontrados fungos endofíticos que produzem compostos bioativos com potencial antimicrobiano e de biocontrole (Chagas et al., 2017). O extrato etanólico de folhas contém ácidos fenólicos e flavonóides que mediarão a apoptose de células de leucemia mielóide (Santos et al., 2016). O látex possui potencial angiogênico (Almeida et al., 2014), e osteogênico (dos Santos Neves et al., 2016; Floriano et al., 2016) e não é citotóxico ou genotóxico (Ribeiro et al., 2016).

Embora saiba-se da importância econômica da espécie, a principal forma de exploração ainda é por extrativismo, para obtenção de frutos (Pereira et al., 2016). Isso constitui o sustento de muitas famílias e é uma importante estratégia para a segurança alimentar de populações de baixa renda (Oliveira & Aloufa, 2020). Na região do Centro-Oeste, há poucos cultivos comerciais, também predominando o extrativismo em áreas remanescentes de Cerrado, representando 1% do rendimento nacional com valor estimado pelo censo agropecuário de 2021 de R\$ 982.647,00 (IBGE, 2020).

Os estudos sobre a multiplicação *ex vitro* da mangabeira baseiam-se principalmente em propagação de sementes, enxertia e alporquia (Reis, 2011; Pereira et al., 2016). A multiplicação *in vitro* tem sido uma alternativa promissora para propagação e conservação da espécie devido, principalmente, pela recalcitrância das suas sementes. Existe a dificuldade de conservação das sementes em refrigeração a longo prazo, fato que limita o resgate de germoplasma. Assim, os acessos são conservados *in vivo*, na forma de coleções *ex situ* ou *in situ* (Barreiro-Neto, 2003; Silva-Junior, 2003).

Para a conservação da diversidade genética entre variedades botânicas de diferentes populações de mangabeira e pré-melhoramento, faz-se de necessário o estabelecimento de protocolos eficazes para resgate de embriões, crescimento lento e criopreservação para cada variedade. As técnicas *in vitro* que se destacam para a conservação de germoplasma de espécies recalcitrantes são crescimento lento (Ledo et al., 2011), resgate de embriões e posterior criopreservação (Normah et al., 2019).

A maioria das publicações sobre micropropagação da mangabeira não diferenciam respostas entre e dentro das variedades botânicas. São poucos os relatos sobre resgate, criopreservação e conversão de embriões zigóticos, como de Santana et al. (2018), que salientaram o uso de embriões de frutos maduros como melhor alternativa que de frutos verdes. Freire et al. (2011) dispensaram a recomendação dos fitorreguladores ANA (ácido naftaleno-acético) e BAP (6-benzilaminopurina) para a conversão de embriões zigóticos da mangabeira.

Trabalhos sobre germinação *in vitro* de sementes são numerosos, mas poucos diferenciam as variedades botânicas, como observado pelo estudo de Vieira et al. (2018), que não perceberam diferenças no uso de AIB na germinação de sementes das variedades botânicas *gardneri*, *cuyabensis* e *pubescens*. Soares et al. (2009) mostraram que a maior porcentagem de germinação de sementes de mangabeira foi obtida com os meios de cultura WPM (*Wood Medium Plant*) (Lloyd & McCown, 1980) e MS-50% (Murashige & Skoog, 1962) com 15 g.L⁻¹ de sacarose, 0,2 mg.L⁻¹ de giberelina. Léo et al. (2007) recomendaram o meio MS-50% com carvão ativado para 100% de germinação e bom desenvolvimento da parte aérea e sistema radicular. Cabral et al. (2013) mostraram alta porcentagem de germinação em meio líquido com 15 g.L⁻¹ ou sem sacarose.

Os protocolos de germinação e multiplicação *in vitro* de variedades botânicas de mangabeira podem auxiliar na elucidação problemas relacionados à micropropagação e regeneração pós-criopreservação. É também uma estratégia para o resgate e armazenamento de germoplasma nativo em espaço físico reduzido e com menor risco em relação aos que existem em coleções *ex vitro* (Sá et al., 2012; Engelman, 2011).

O objetivo desse trabalho foi estabelecer as melhores condições para germinação e resgate de embriões das variedades botânicas de mangabeira *gardneri*, *cuyabensis* e *pubescens*.

3.4 MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi conduzido na Escola de Agronomia da Universidade Federal de Goiás, no período de 2018 a 2020. Estudou-se três variedades botânicas de mangabeira: var. *pubescens*, var. *cuyabensis* e var. *gardneri*; pertencentes à coleção de germoplasma da Escola de Agronomia da Universidade Federal de Goiás (Goiânia-GO; 16°35'12''S; 49°21'14''W; 730 m). A coleção foi implantada em 2005 em blocos completos ao acaso

com 58 progênies e quatro blocos, com uma planta por parcela, espaçamento de 6 m x 5 m, totalizando uma área de 6.960 m² e 232 acessos de indivíduos (Ganga et al., 2009). Nenhuma fertilização artificial foi feita na coleção.

O clima da região é do tipo tropical quente e úmido, com inverno seco, pluviosidades médias anuais de 1.494 mm, com desvio médio de 187,6 mm (Casaroli et al., 2018). O solo da área do experimento foi classificado como Latossolo Vermelho distrófico, de textura média e relevo suavemente ondulado (EMBRAPA, 2013).

As matrizes de mangabeira foram selecionadas com características de cada variedade bem definidas. Selecionou-se cinco matrizes para cada variedade. Frutos maduros foram colhidos no pico da frutificação, entre setembro e janeiro, e levados para o Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais (LabCultive), do Setor de Melhoramento de Plantas da UFG.

A extração das sementes foi realizada por maceração dos frutos com auxílio de peneira e água corrente. As sementes extraídas foram armazenadas em sacos plásticos, sob refrigeração por até sete dias. Desta-forma, as plantas germinadas de cada variedade foram consideradas como meios-irmãos.

Para os experimentos de micropropagação, as sementes foram levadas para duas sequências de desinfestação. Primeiro, realizou-se uma lavagem em solução de NaOH 1 M, junto à 2 gotas de Tween 20, sob homogeneização por 15 minutos. Nesta fase, houve a digestão do tegumento e da mucilagem, que foram removidas em enxágues em água destilada. Estas sementes foram descontaminadas por imersão em etanol 70° G.L, por um minuto; e posteriormente, imersas em solução de hipoclorito de sódio com 2% de cloro ativo + Tween20, por 15 minutos. Para remoção dos resíduos da descontaminação, realizou-se cinco lavagens em água destilada autoclavada. Esse processo foi repetido duas vezes.

Para o primeiro experimento, testou-se os meios de cultura completos: MS (Murashige & Skoog, 1962), e WPM (Lloyd & McCown, 1980) em dois tipos de explantes: sementes e embriões zigóticos. O experimento foi realizado separadamente nas variedades botânicas de mangabeira: *gardneri*, *cuyabensis* e *pubescens*. O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso, com vinte repetições (tubo de ensaio, parcela experimental).

Os meios de cultura foram gelificados com Gellex®, com pH ajustado para 5,7. O volume de 30 mL de meio foi transferido para tubos de vidro (23 x 25 mm), com tampa plástica com orifício vedado com filtro, para trocas gasosas. Os tubos com meio de cultura foram esterilizados em autoclave a 121°C e 1 atm de pressão por 20 minutos.

A extração dos embriões e transferência dos explantes ocorreu com auxílio de lâminas de bisturi e pinças estéreis, em câmara de fluxo laminar. As sementes descontaminadas foram excisadas, e o embrião exposto foi transferido para os meios de cultura. Para as sementes, a transferência para os meios ocorreu com auxílio de pinça. Após a transferência dos explantes, os tubos foram conduzidos para sala de crescimento, com fotoperíodo de 16 horas de luz e 8 horas de escuro, temperatura de 24°C e umidade relativa de 40-60%.

Foram conduzidos outros experimentos com as mesmas variedades botânicas de mangabeira supracitadas. Testou-se os meios MS (Murashige & Skoog, 1962) e WPM (Lloyd & McCown, 1980) com diferentes concentrações de sacarose: 0, 15, 30 e 45 g.L⁻¹, em dois tipos de explantes: sementes e embriões zigóticos. O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso, em esquema de fatorial 2x2x4, sendo dois tipos de meio, dois tipos de explantes e quatro doses de sacarose.

Os meios de cultura foram elaborados conforme protocolos de Murashige & Skoog (1962) e Lloyd & McCown (1980) com modificação nos teores de sacarose, para obter-se as diferentes concentrações. O acondicionamento dos meios e a transferência dos explantes foram realizados conforme o experimento anterior.

Os tubos com explantes foram acondicionados em sala de crescimento com fotoperíodo de 16 horas de luz e 8 de escuro e temperatura de 24 °C por sessenta dias. As variáveis analisadas das plantas foram quantidades de plantas vivas, mortas e contaminadas. Com isso calculou-se as taxas de sobrevivência e contaminação. As medidas das plantas foram feitas com paquímetro digital, com leitura visual através do vidro do tubo. Mediu-se altura da planta, quantidade de folhas expandidas e comprimento da raiz principal.

A análise de dados foi realizada no software estatístico R (R Core Team, 2020). Para o experimento com meios completos e tipos de explantes, as variáveis foram submetidas à análise de variância, após adequação dos pressupostos e teste F ao nível de 5% de significância.

Para os experimentos com os meios com diferentes concentrações de sacarose e tipos de explantes, as variáveis resposta de distribuição binomial (sobrevivência e contaminação) foram ajustadas em função dos valores de logito acumulados, apresentados em regressões logísticas multinomial. A análise das variáveis altura, número de folhas e comprimento da raiz foram submetidas à análise de variância, após adequação aos seus pressupostos. Quando a interação entre meio cultura e tipos de explantes foi significativa, as

variáveis foram submetidas à análise de variância para regressão quadrática múltipla, ao nível de 5% de significância.

3.5 RESULTADOS

3.5.1 Germinação de sementes e resgate de embriões em meios de cultura completos e diferentes tipos de explantes

No ensaio de germinação in vitro em meios de cultura completos e dentre explantes, não se observou interação significativa entre os fatores para altura, para as três variedades botânicas. Foi possível verificar que o melhor meio de cultura foi WPM completo e o melhor explante foi o uso de sementes, para todas as variedades de mangabeira (Tabelas 3.1 e 3.2).

Tabela 3.1. Altura (mm) de plantas de variedades botânicas de *H. speciosa* em meios de cultura completos.

Meio	var. <i>gardneri</i>		var. <i>cuyabensis</i>		var. <i>pubescens</i>	
	Altura (mm)	Desvio-padrão	Altura (mm)	Desvio-padrão	Altura (mm)	Desvio-padrão
WPM	38,65*	22,67	46,06*	22,33	42,89*	28,50
MS	22,14	20,03	42,60	32,86	32,74	22,99

*Significativo conforme teste F ao nível de 5% de probabilidade.

Tabela 3.2. Altura (mm) de plantas de variedades botânicas de *H. speciosa* entre dois tipos de explantes.

Explante	var. <i>gardneri</i>		var. <i>cuyabensis</i>		var. <i>pubescens</i>	
	Altura (mm)	Desvio-padrão	Altura (mm)	Desvio-padrão	Altura (mm)	Desvio-padrão
Embrião	22,56	17,89	29,52	26,63	26,66	26,29
Semente	38,23*	24,67	59,15*	20,56	48,97*	28,36

*Significativo conforme teste F ao nível de 5% de probabilidade

Houve interação significativa entre os fatores para a variável número de folhas, dentro da variedade botânica *cuyabensis*. As plantas de resgate de embriões tiveram a

quantidade de folhas significativamente maiores. Dentre os meios, houve diferenças apenas em plantas de embriões, com valores significativos para meio WPM completo (Tabela 3.3).

Tabela 3.3. Número de folhas de plantas da variedade botânica *H. speciosa* var. *cuyabensis* em meios de cultura completos.

Meio de cultura	Embrião		Semente	
	Folhas	Desvio-padrão	Folhas	Desvio-padrão
WPM	6,93 aB	2,01	8,56 aA	1,86
MS	4,56 bB	1,54	8,31 aA	1,62

*Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si pelo teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Para as variedades *gardneri* e *pubescens*, não houve interação significativa entre os fatores para número de folhas. Comparando-se os meios completos, os valores foram significativamente maiores em meio WPM (Tabela 3.4). Para os explantes, não houve significância para a var. *gardneri*, mas para a var. *pubescens*, o número de folhas foi significativamente maior em sementes (Tabela 3.5).

Tabela 3.4. Número de folhas de plantas de variedades botânicas *H. speciosa* em meios de cultura completos.

Meio de cultura	var. <i>gardneri</i>		var. <i>pubescens</i>	
	Folhas	Desvio-padrão	Folhas	Desvio-padrão
WPM	5,3*	1,53	7,23*	2,99
MS	3,6	2,06	5,65	2,05

*Significativo conforme teste F ao nível de 5% de probabilidade.

Tabela 3.5. Número de folhas de plantas de variedades botânicas *H. speciosa* em diferentes explantes.

Explantes	var. <i>gardneri</i>		var. <i>pubescens</i>	
	Folhas	Desvio-padrão	Folhas	Desvio-padrão
Embrião	4,22	1,88	5,86	2,72
Semente	4,66	2,1	7,02*	3,15

*Significativo conforme teste F ao nível de 5% de probabilidade.

Houve interação significativa para comprimento da raiz apenas para a var. *cuyabensis*, com valores significativamente maiores para as plantas de embrião para os meios testados (Tabela 3.6).

Tabela 3.6. Comprimento da raíz (mm) de plantas de *H. speciosa* var. *cuyabensis* em meios de cultura completos e diferentes explantes.

Meio de cultura	Embrião		Semente	
	Raíz (mm)	Desvio-padrão	Raíz (mm)	Desvio-padrão
WPM	6,75 aA	1,47	2,17 bB	0,72
MS	6,3 aA	1,42	2,53 aB	0,60

*Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si pelo teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

As variedades *pubescens* e *gardneri* não apresentaram interações entre meio e tipo de explante. Para tais, o comprimento da raíz foi significativamente maior em meio WPM (Tabela 3.7) e em plantas de sementes (Tabela 3.8).

Tabela 3.7. Comprimento da raíz (mm) de plantas de variedades botânicas de *H. speciosa* em meios de cultura completos.

Meio de cultura	var. <i>pubescens</i>		var. <i>gardneri</i> (radícula com 24 dias)	
	Raíz (mm)	Desvio-padrão	Raíz (mm)	Desvio-padrão
MS	48,04	36,95	13,61	14,95
WPM	78,9*	37,2	33,22*	21,09

*Significativo conforme teste F ao nível de 5% de probabilidade.

Tabela 3.8. Comprimento da raíz (mm) de plantas de variedades botânicas de *H. speciosa* em dois tipos de explantes.

Explante	Raíz (mm)	Desvio-padrão	Raíz (mm)	Desvio-padrão
Embrião	49,62	40,3	17,76	17,08
Semente	77,28*	38,79	29,06 *	22,52

*Significativo conforme teste F ao nível de 5% de probabilidade.

3.5.2 Germinação de sementes e resgate de embriões em meios de cultura completos com diferentes doses de sacarose

As regressões logísticas das taxas de contaminação, permitiram verificar que em plantas de resgate de embriões, apenas a var. *cuyabensis*, teve maiores taxas em meio WPM, em qualquer dose de sacarose. Considerando-se as sementes, a taxa de contaminação

diferenciou nas variedades *gardneri* e *cuyabensis*, com maiores taxas também no uso de meio WPM. As taxas de contaminação comparadas dentre os explantes diferiram apenas para a var. *pubescens*, em ambos os meios com qualquer dose de sacarose (Figura 3.1).

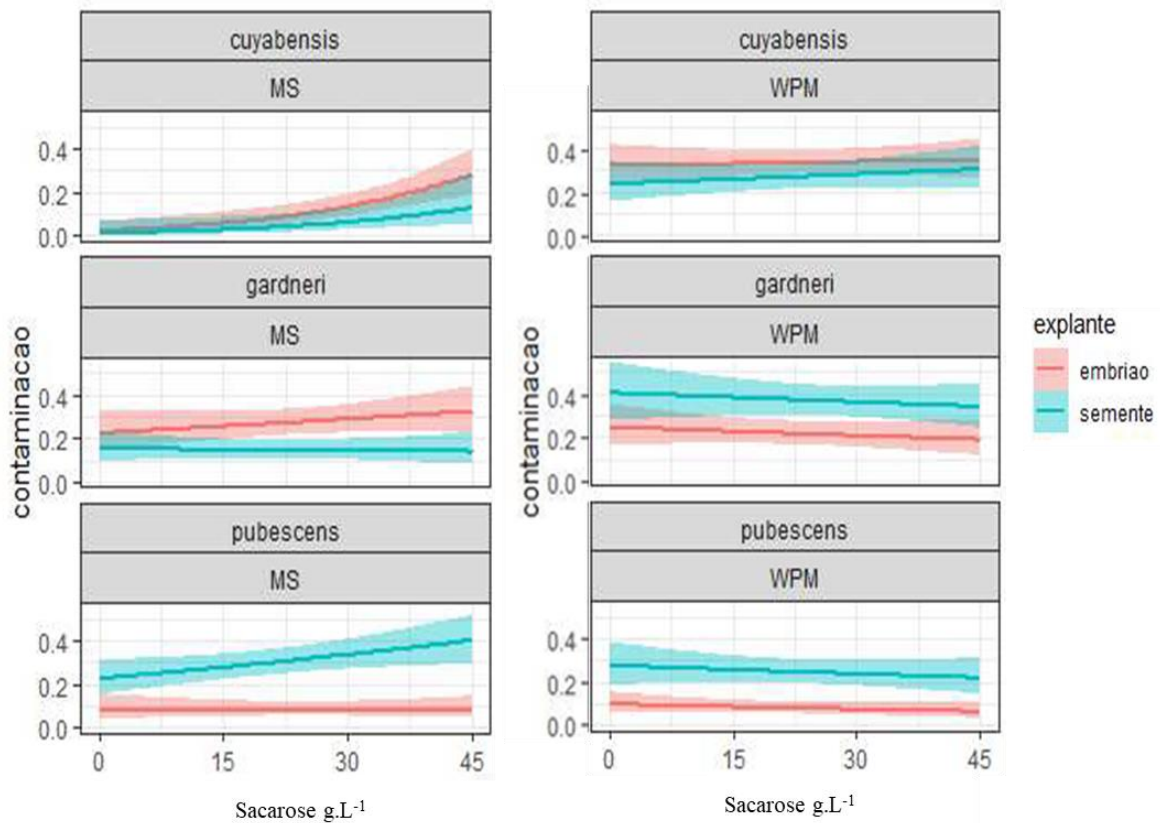


Figura 3.1. Regressões logísticas das taxas de contaminação sob efeito dos tipos de explantes (embrião ou semente) em função dos meios MS ou WPM com doses de sacarose, em variedades botânicas de mangabeira.

As taxas de sobrevivência das plantas dentre os diferentes explantes diferiram em todas as variedades botânicas estudadas. Para a var. *cuyabensis* a maior sobrevivência ocorreu em plantas de germinação de sementes, no meio WPM, em qualquer dose de sacarose. Para a var. *gardneri*, também houve maior sobrevivência em plantas de sementes, no meio MS com 45 g.L⁻¹ de sacarose. Para var. *pubescens*, a maior sobrevivência foi vista em plantas de resgate de embriões em ambos os meios e em qualquer dose de sacarose (Figura 3.2).

As taxas de sobrevivência dentre os meios de cultura com doses de sacarose diferiram em plantas de resgate de embriões, apenas nas variedades botânicas *gardneri* e *cuyabensis*. A var. *cuyabensis* apresentou maior taxa de sobrevivência em meio MS na

ausência de sacarose enquanto para a var. *gardneri* a maior taxa foi no uso de meio WPM sem sacarose. A sobrevivência de plantas de germinação de sementes diferiram também para var. *gardneri* e var. *cuyabensis*. As maiores taxas para var. *cuyabensis* foram observadas no uso de meio WPM em qualquer dose de sacarose, enquanto para a var. *gardneri* as maiores taxas foram observadas no meio MS conforme os aumentos de sacarose (Figura 3.2).

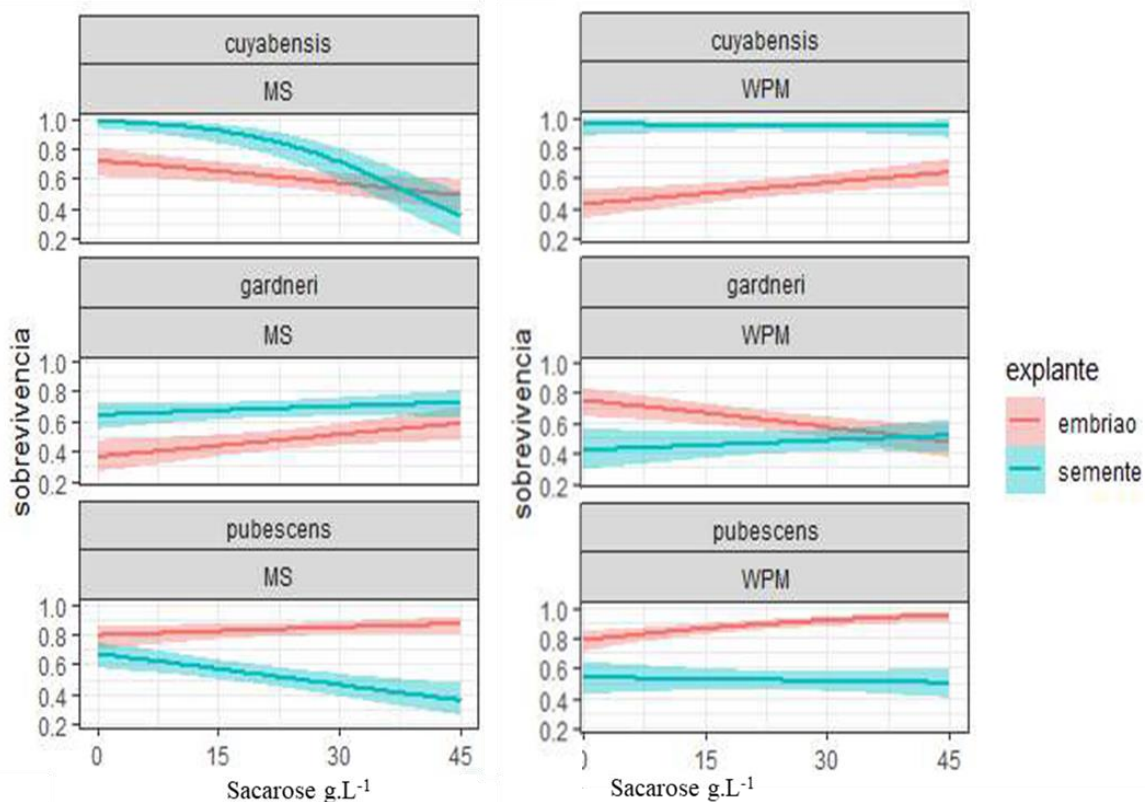


Figura 3.2. Regressões logísticas das taxas de sobrevivência sob efeito dos tipos de explantes (embrião ou semente) em função dos meios MS ou WPM com doses de sacarose, em variedades botânicas de mangabeira.

As taxas de sobrevivência comparadas dentre as variedades botânicas diferiram em termos de tipos de meio e tipos de explante. Para as plantas de resgate de embriões, a var. *pubescens* apresentou a maiores taxas de sobrevivência em ambos os meios e em qualquer dose de sacarose. Para as plantas de germinação de sementes, a var. *cuyabensis* destacou-se com as maiores taxas de sobrevivência, em qualquer dose de sacarose no meio WPM e nas menores concentrações de sacarose no meio MS (Figura 3.3).

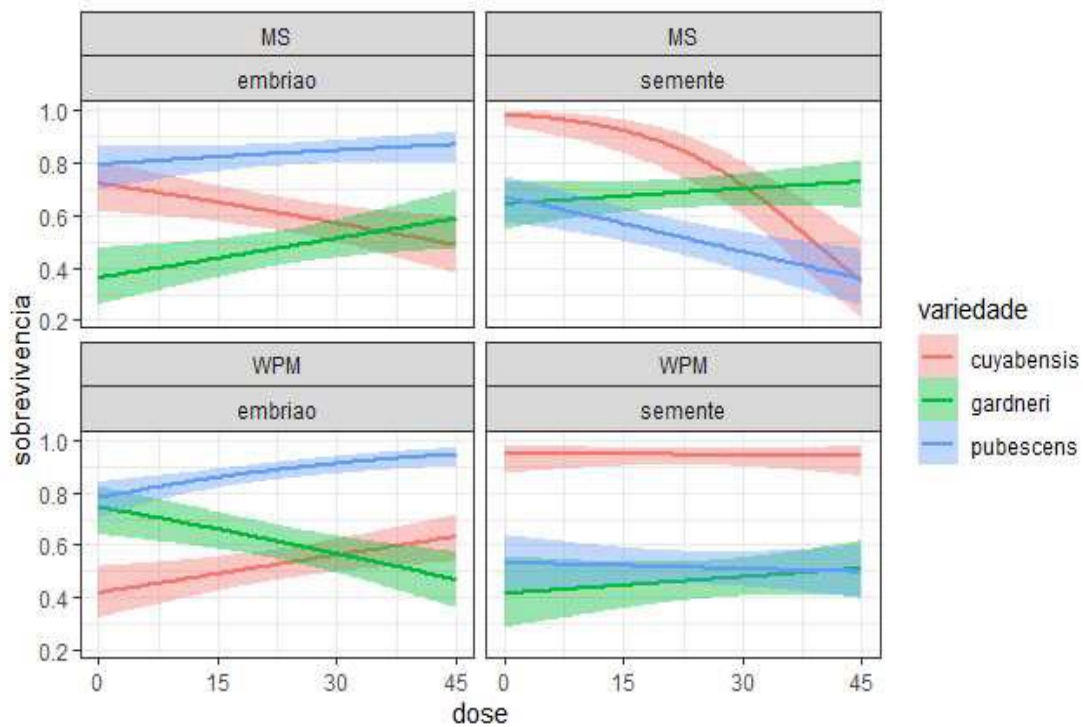


Figura 3.3. Regressões logísticas das taxas de sobrevivência sob efeitos dos tipos de meio de cultura MS ou WPM com doses de sacarose, e dos explantes (embrião ou semente), para cada variedade de mangabeira.

Para a var. *gardneri* em uso de meio MS com doses de sacarose, a maior altura das plantas foi observada em plantas de germinação de embriões com 45 g.L⁻¹ de sacarose, em comportamento assintótico com regressão quadrática significativa (Figuras 3.4 e 3.5). Para plantas germinadas de sementes a altura não exibiu significância estatística para a regressão, com valores semelhantes em todas as doses de sacarose (Figuras 3.4, 3.6). Logo, para o meio WPM, a maior altura foi observada na dose 15 g.L⁻¹ de sacarose em plantas germinadas de sementes, com regressão quadrática significativa. Em plantas de germinação de embriões a altura não apresentou significância para regressão (Figura 3.4, 3.7 e 3.8).

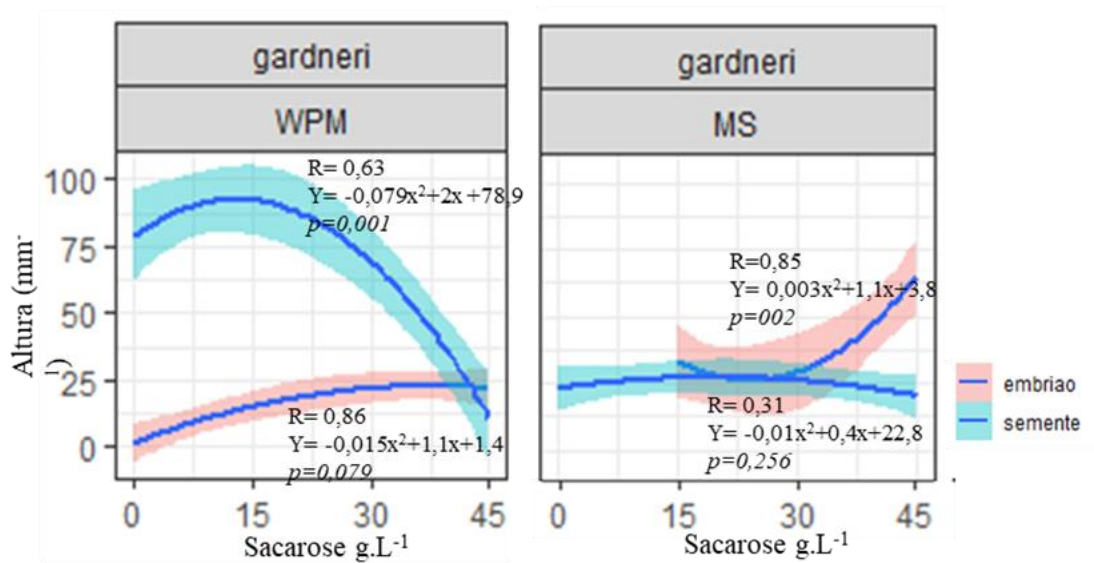


Figura 3.4. Regressões quadráticas da altura de plantas de mangabeira *H. speciosa* var. *gardneri*, comparando-se os tipos de explantes em diferentes meios de cultura, em função de doses de sacarose.

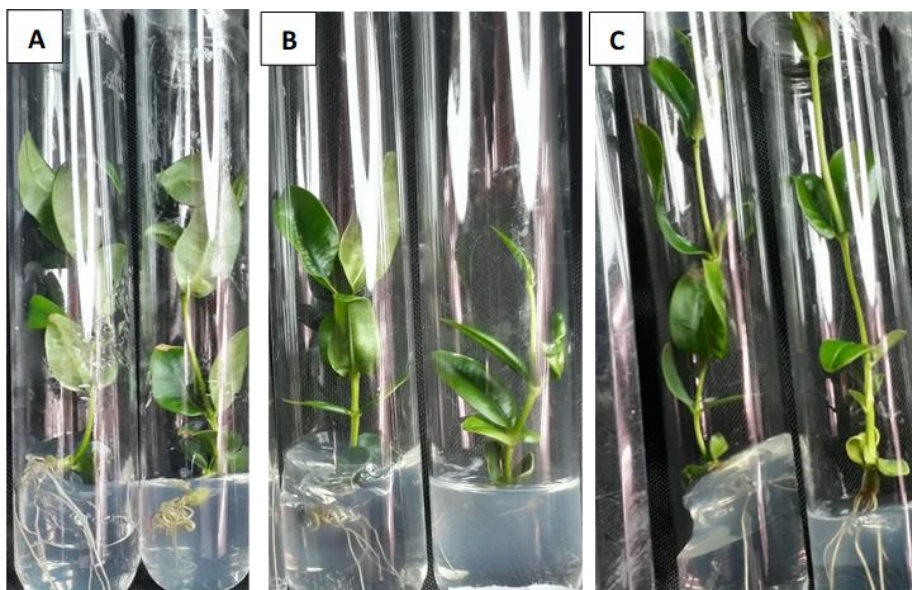


Figura 3.5. Germinação de embriões de mangabeira *H. speciosa* var. *gardneri* em doses de sacarose. A=MS 15 g.L⁻¹, B=MS 30 g.L⁻¹, C=MS 45 g.L⁻¹. Fonte: Belo, E. S.

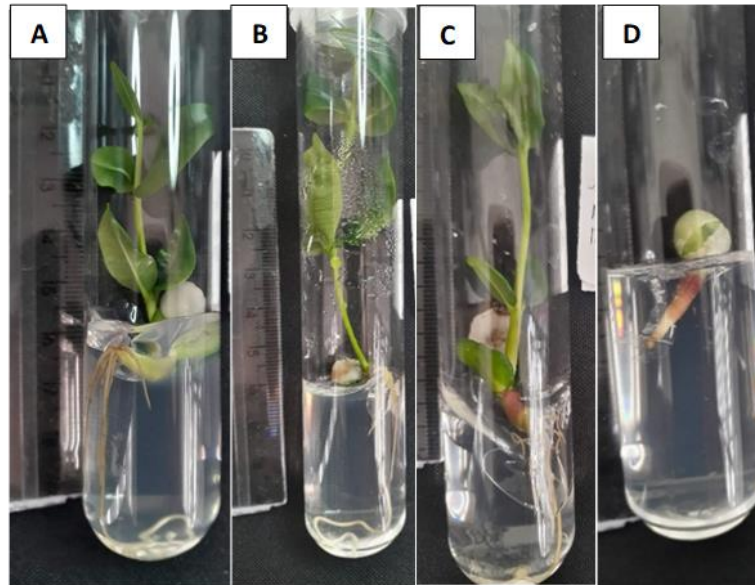


Figura 3.6. Germinação de sementes de mangabeira *H. speciosa* var. *gardneri* em doses de sacarose. A= MS sem sacarose, B= MS 15 g.L⁻¹, C= MS 30 g.L⁻¹, D= MS 45 g.L⁻¹. Fonte: Belo, E. S.

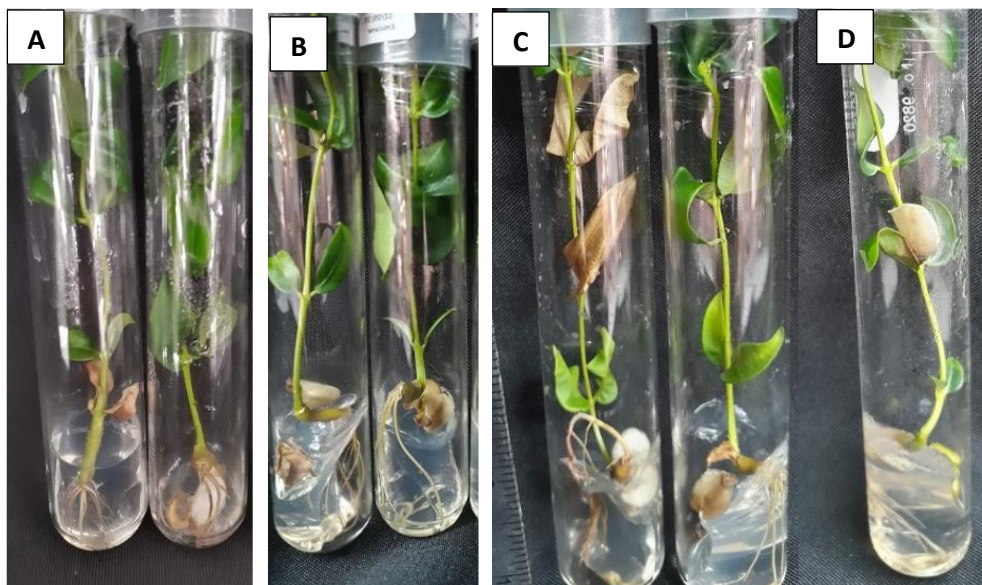


Figura 3.7. Germinação de sementes de mangabeira *H. speciosa* var. *gardneri* em doses de sacarose. A= WPM sem sacarose, B= WPM 15 g.L⁻¹, C= WPM 30g.L⁻¹, D= WPM 45g.L⁻¹. Fonte: Belo, E. S.

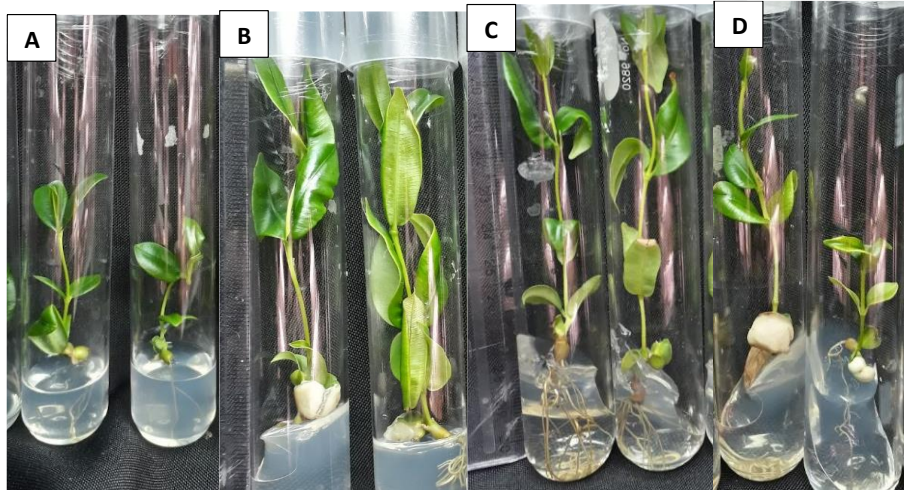


Figura 3.8. Germinação de embriões de mangabeira *H. speciosa* var. *gardneri* em doses de sacarose. A= WPM sem sacarose, B= WPM 15 g.L⁻¹, C= WPM 30g.L⁻¹, D= WPM 45g.L⁻¹. Fonte: Belo, E. S.

As regressões quadráticas para as quantidades de folhas foram significativas para plantas de embrião em meio MS e em plantas de sementes no meio WPM. As maiores quantidades foram observadas em meio WPM com 15 g.L⁻¹ de sacarose, em plantas germinadas de sementes (Figuras 3.9).

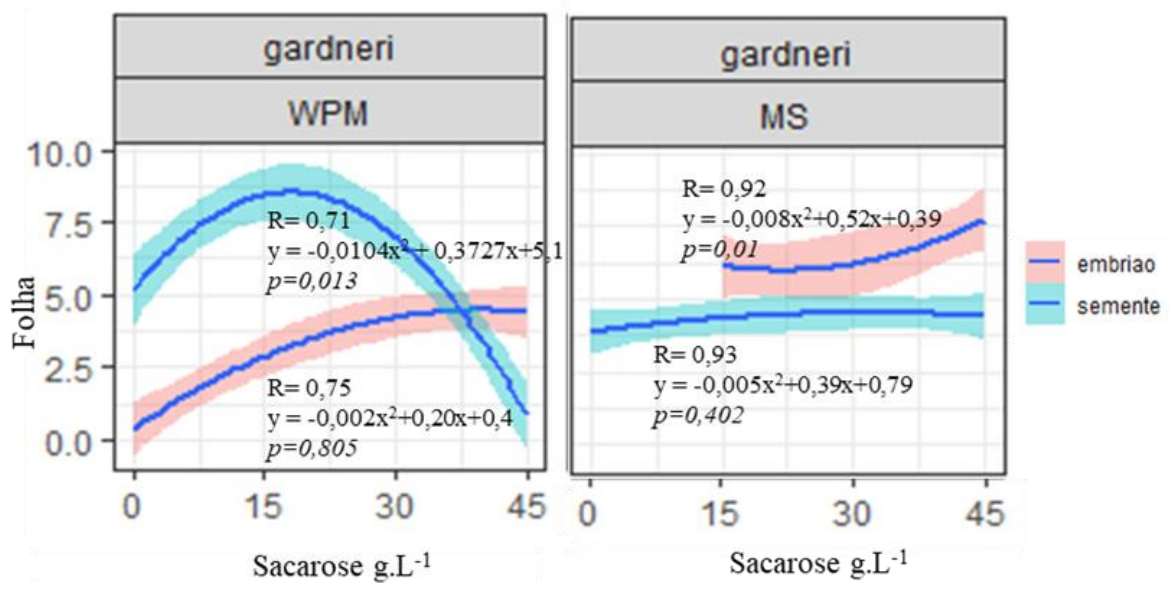


Figura 3.9. Regressões quadráticas da quantidade de folhas de plantas de mangabeira *H. speciosa* var. *gardneri*, comparando-se os tipos de explantes em diferentes meios de cultura, em função de doses de sacarose.

As raízes tiveram comprimento crescente com regressão quadrática significativa em meio MS para plantas germinadas de embrião e em meio WPM para plantas germinadas de semente e embrião. O maior comprimento de raiz foi observado em meio WPM com 15 g.L⁻¹ de sacarose, em plantas de sementes (Figura 3.10).

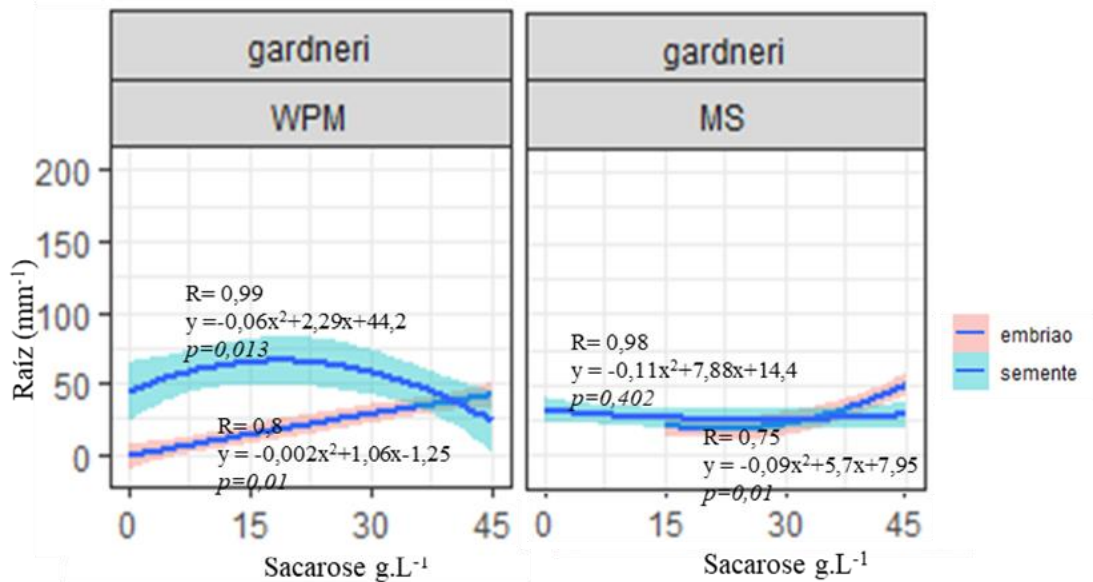


Figura 3.10. Regressões quadráticas do comprimento de raiz de plantas de mangabeira *H. speciosa* var. *gardneri*, comparando-se os tipos de explantes em diferentes meios de cultura, em função de doses de sacarose.

Para a var. *cuyabensis* as plantas germinadas de sementes em meio MS com doses de sacarose não tiveram bom desenvolvimento da parte aérea (Figuras 3.11 e 3.12). Para plantas de embrião, a altura foi crescente conforme as doses de sacarose, com regressão quadrática significativa com maior valor de altura com 45 g.L⁻¹ de sacarose (Figuras 3.11 e 3.13). Em meio WPM, as plantas apresentaram melhor vigor em relação às plantas em meio MS. As regressões quadráticas não foram significativas, sendo os valores semelhantes dentre as doses de sacarose. Os maiores valores de altura foram observados em plantas de germinação de embriões, em todas as concentrações de sacarose (Figura 3.11 e 3.14 e 3.15).

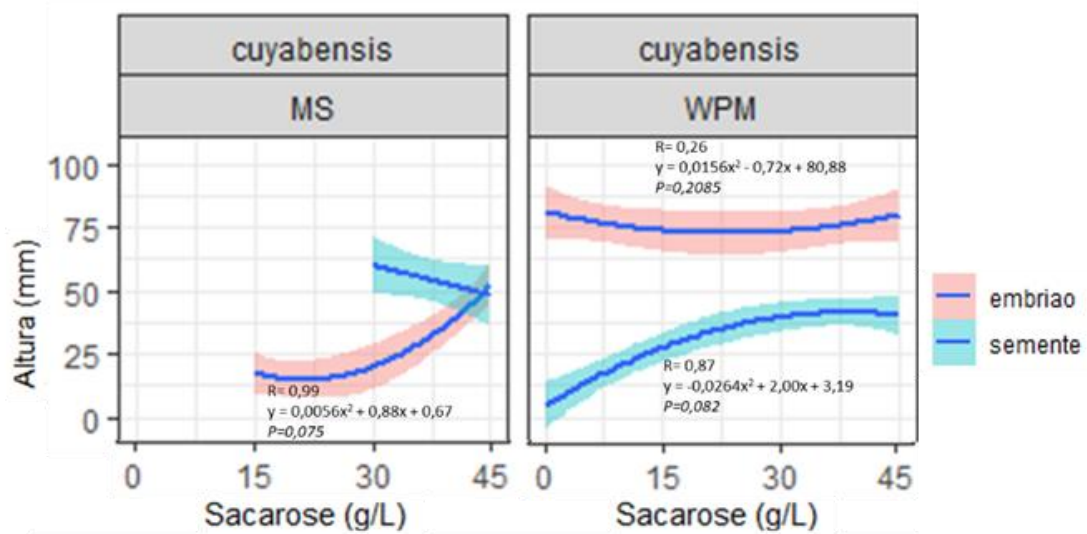


Figura 3.11. Regressões quadráticas da altura de plantas de mangabeira *H. speciosa* var. *cuyabensis*, comparando-se os tipos de explantes em diferentes meios de cultura, em função de doses de sacarose.

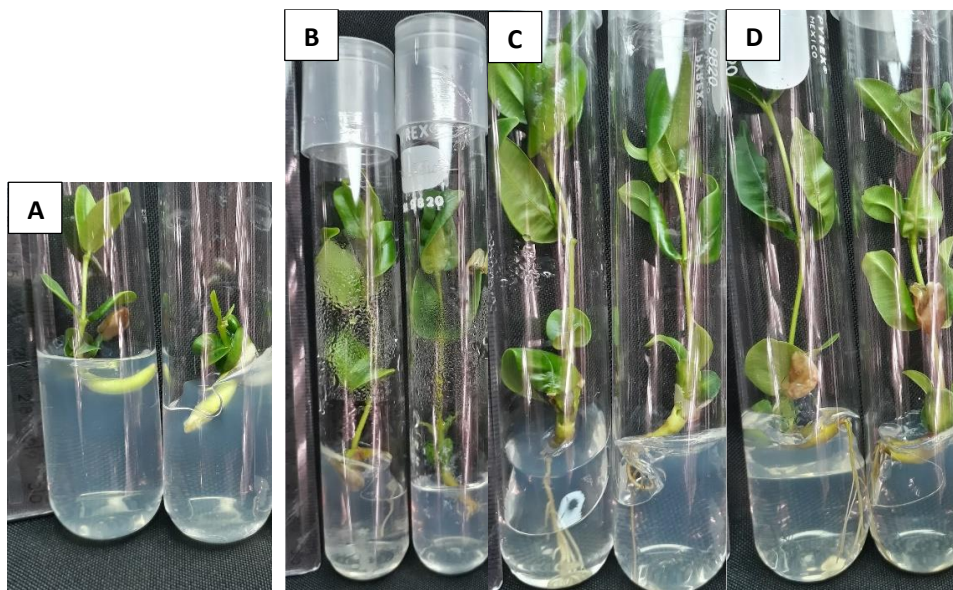


Figura 3.12. Germinação de sementes de mangabeira *H. speciosa* var. *cuyabensis* em doses de sacarose. A=MS sem sacarose, B= MS 15 g.L⁻¹, C= MS 30 g.L⁻¹, D= MS 45 g.L⁻¹. Fonte: Belo, E. S.

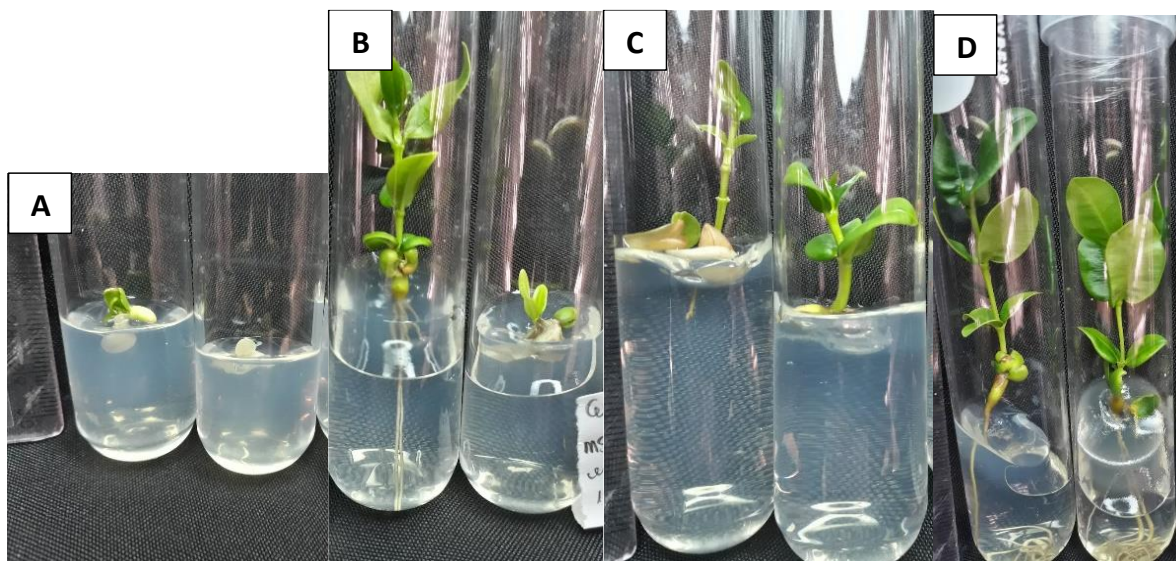


Figura 3.13. Germinação de embriões de mangabeira *H. speciosa* var. *cuyabensis* em doses de sacarose. A=MS sem sacarose, B= MS 15 g.L⁻¹, C=MS 30 g.L⁻¹, D=MS 45 g.L⁻¹. Fonte: Belo, E. S.

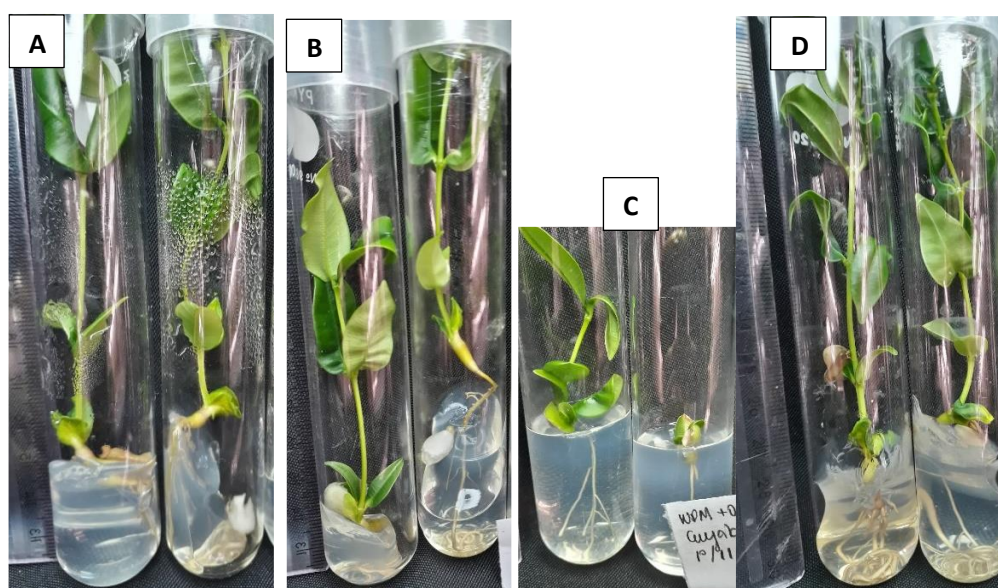


Figura 3.14. Germinação de embriões de mangabeira *H. speciosa* var. *cuyabensis* em doses de sacarose. A=WPM sem sacarose, B=WPM 15 g.L⁻¹, C=WPM 30 g.L⁻¹, D=WPM 45 g.L⁻¹. Fonte: Belo, E. S.

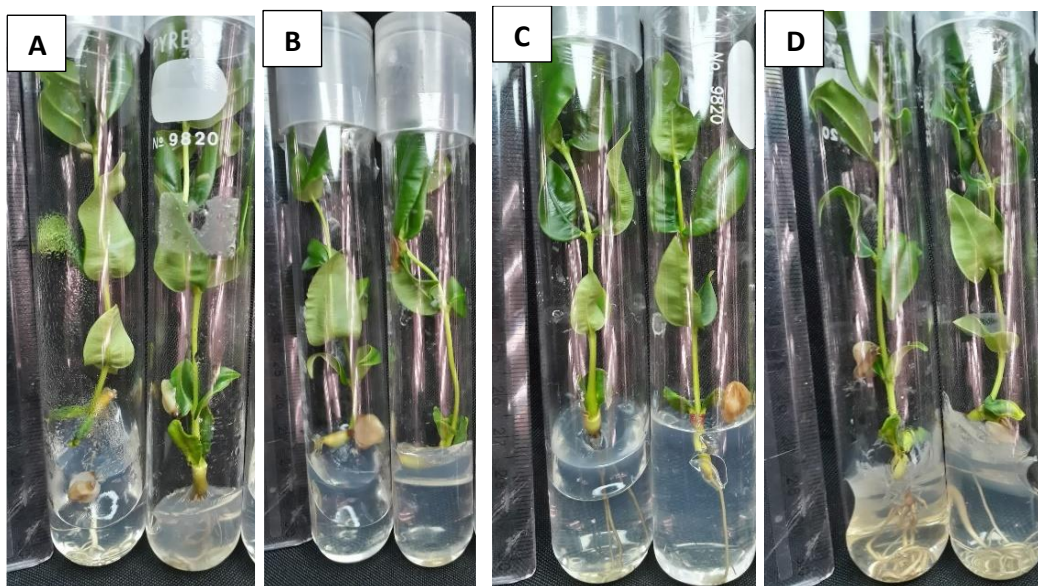


Figura 3.15. Germinação de sementes de mangabeira *H. speciosa* var. *cuyabensis* em doses de sacarose. A=WPM sem sacarose, B= WPM 15 g.L⁻¹, C= WPM 30 g.L⁻¹, D= WPM 45 g.L⁻¹. Fonte: Belo, E. S.

Para a quantidade de folhas na var. *cuyabensis*, observou-se maiores valores conforme os aumentos de sacarose no meio WPM, em plantas de originadas em ambos os tipos de explantes (Figura 3.16, 3.14 e 3.15).

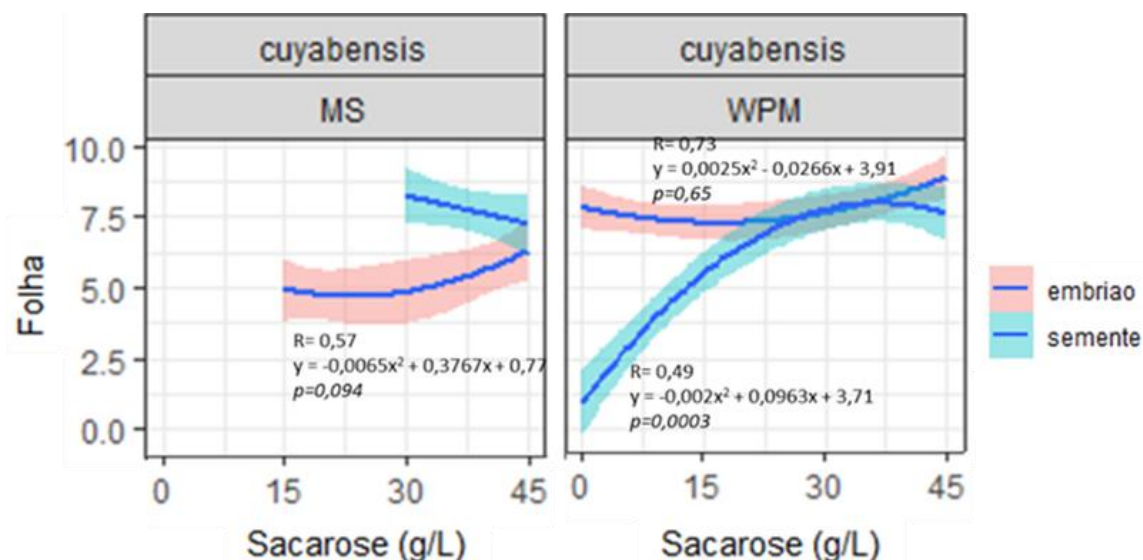


Figura 3.16. Regressões quadráticas da quantidade de folhas de plantas de mangabeira *H. speciosa* var. *cuyabensis*, comparando-se os tipos de explantes em diferentes meios de cultura, em função de doses de sacarose.

Para o comprimento da raiz, a var. *cuyabensis* obteve os maiores valores no meio WPM com 30 e 45 g.L⁻¹ de sacarose, em plantas germinadas de sementes e em todas as doses de sacarose em plantas de resgate de embriões (Figura 3.17).

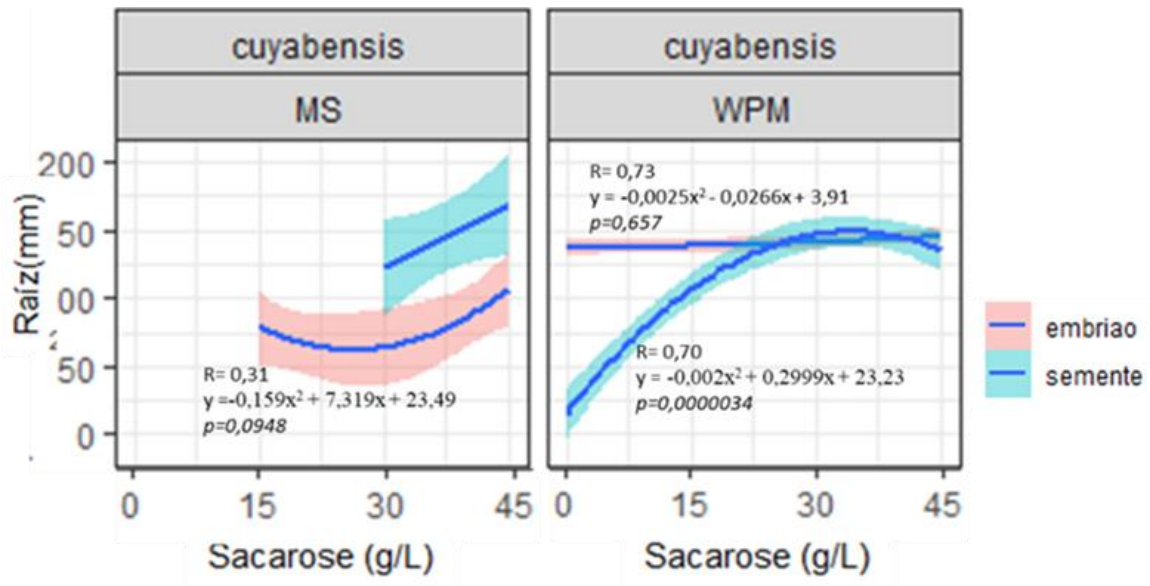


Figura 3.17. Regressões quadráticas do comprimento de raiz de plantas de mangabeira *H. speciosa* var. *cuyabensis*, comparando-se os tipos de explantes em diferentes meios de cultura, em função de doses de sacarose.

Para a var. *pubescens*, as plantas germinadas em meio MS em diferentes doses de sacarose apresentaram valores de altura menores em relação ao uso do meio WPM. Esses valores resultaram em regressão quadrática significativa apenas para as plantas germinadas de embriões, em que exibiram valores crescentes de altura conforme aumentos de sacarose no meio (Figuras 3.18, 3.19 e 3.20). Tratando-se do meio WPM com doses de sacarose, os melhores resultados para altura de plantas foram para aquelas germinadas de sementes na ausência de sacarose (Figuras 3.18, 3.21 e 3.22).

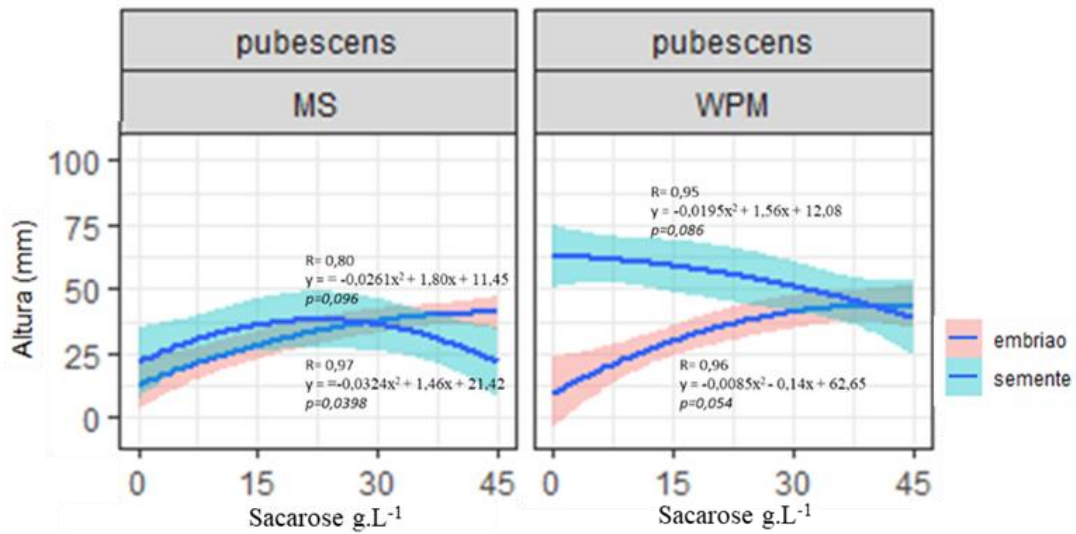


Figura 3.18. Regressões quadráticas da altura de plantas de mangabeira *H. speciosa* var. *pubescens*, comparando-se os tipos de explantes em diferentes meios de cultura, em função de doses de sacarose.

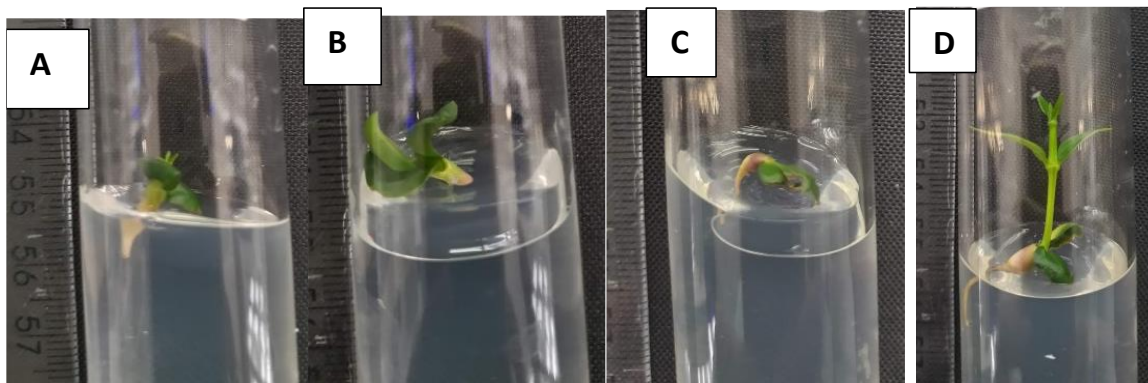


Figura 3.19. Germinação de embriões de mangabeira *H. speciosa* var. *pubescens* em doses de sacarose. A= MS sem sacarose, B= MS 15 g.L⁻¹, C= MS 30 g.L⁻¹, D= MS 45 g.L⁻¹. Fonte: Belo, E. S.

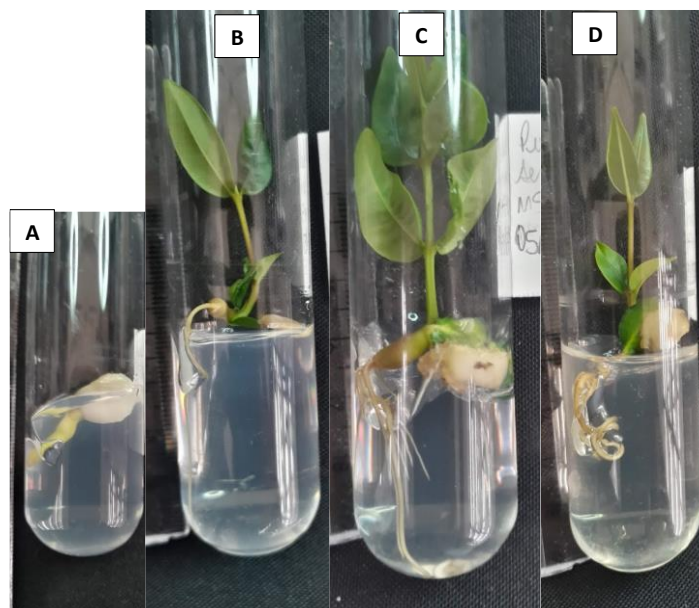


Figura 3.20. Germinação de sementes de mangabeira *H. speciosa* var. *pubescens* em doses de sacarose. A= MS sem sacarose, B= MS 15 g.L⁻¹, C= MS 30 g.L⁻¹, D= MS 45 g.L⁻¹. Fonte: Belo, E. S.

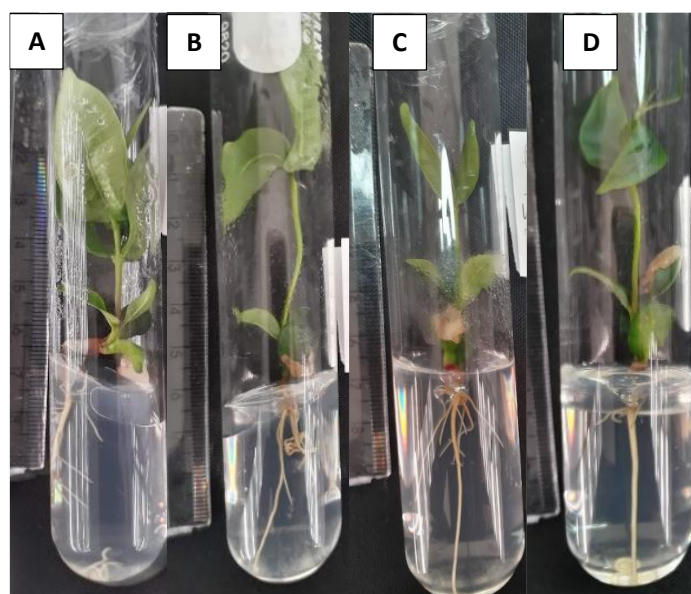


Figura 3.21. Germinação de sementes de mangabeira *H. speciosa* var. *pubescens* em doses de sacarose. A= WPM sem sacarose, B= WPM 15 g.L⁻¹, C= WPM 30 g.L⁻¹, D= WPM 45 g.L⁻¹. Fonte: Belo, E. S.

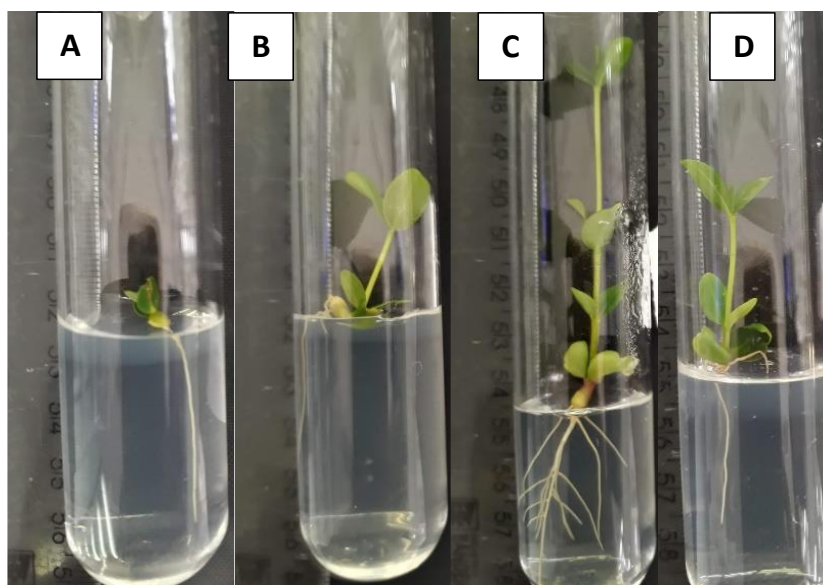


Figura 3.22. Germinação de embriões de mangabeira *H. speciosa* var. *pubescens* em doses de sacarose. A= WPM sem sacarose, B= WPM 15 g.L⁻¹, C= WPM 30g.L⁻¹, D= WPM 45g.L⁻¹. Fonte: Belo, E. S.

Para a quantidade de folhas, as plantas em meio MS apresentaram valores crescentes conforme os acréscimos de sacarose no meio, com regressão quadrática significativa. Todavia, observou-se maiores valores para quantidade de folhas em meio WPM sem sacarose e com 15 g.L⁻¹ embora não houve significância para a regressão quadrática (Figura 3.23).

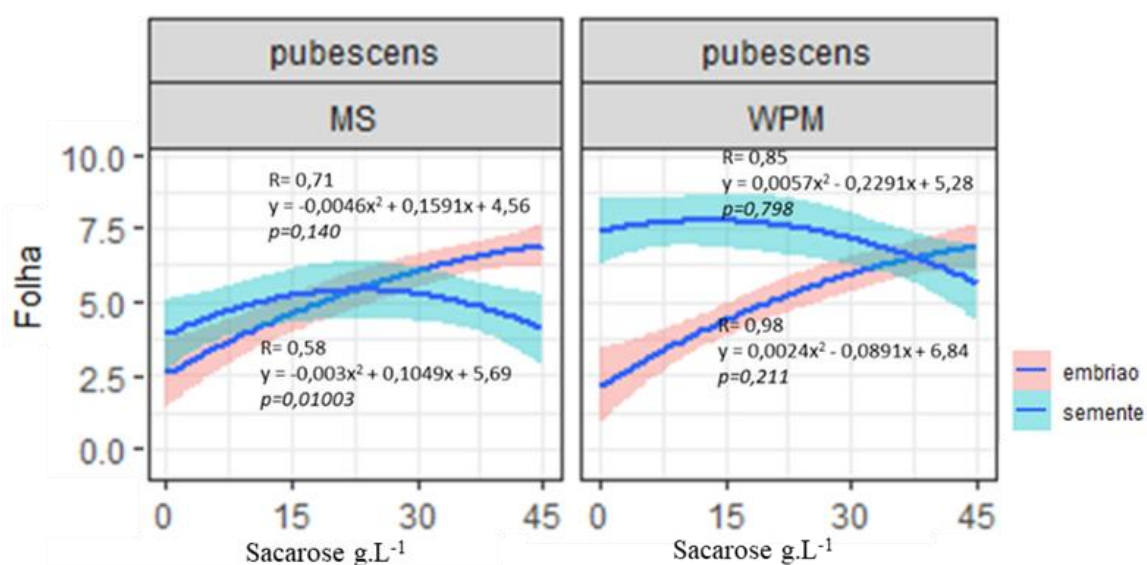


Figura 3.23. Regressões quadráticas da quantidade de folhas de plantas de mangabeira *H. speciosa* var. *pubescens*, comparando-se os tipos de explantes em diferentes meios de cultura, em função de doses de sacarose.

Para comprimento da raiz no meio MS com doses de sacarose, a regressão quadrática foi significativa para plantas germinadas de sementes, com maior valor no uso de 15 g.L⁻¹ de sacarose. Para plantas de embrião não houve significância para regressão, embora observou-se valores crescentes de comprimento conforme os acréscimos de sacarose no meio. Em meio WPM, embora não houve significância nas regressões, a assíntota foi crescente para plantas germinadas de embrião e decrescente para plantas de sementes conforme acréscimos de sacarose no meio (Figura 3.24).

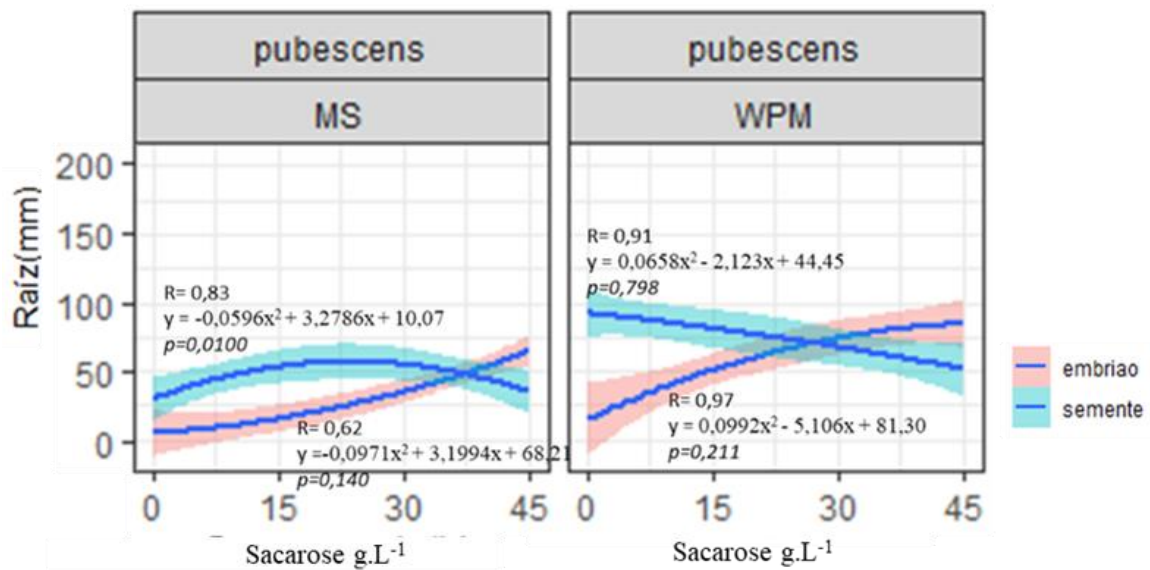


Figura 3.24. Regressões quadráticas do comprimento de raiz de plantas de mangabeira *H. speciosa* var. *pubescens*, comparando-se os tipos de explantes em diferentes meios de cultura, em função de doses de sacarose.

3.6 DISCUSSÃO

Embora a literatura apresente variações de protocolos para germinação da mangabeira, foi possível perceber que as variedades botânicas exibiram resultados distintos conforme os meios e os explantes testados. As diferenças na composição química das variedades botânicas da mangabeira já foram evidenciadas por Flores et al. (2018), em que evidenciam que var. *pubescens* e *speciosa* são mais distantes quimicamente. As sementes usadas neste estudo foram conservadas em geladeira por até 7 dias. Todos os frutos colhidos estavam maduros e com embriões com folhas cotiledonares completamente formadas.

As taxas de contaminação podem estar associadas aos tipos de explante utilizados. Em embriões pode haver menores taxas de contaminação por estarem localizados

dentro da semente, um local com menor risco de entrada de contaminantes. As sementes podem apresentar maiores taxas de contaminação pois estão circundadas ao endocarpo com polpa mucilaginosa rica em nutrientes e tegumento em aderência ao endosperma (Abdalla et al., 2021), além disso a casca fina e permeável favorece a contaminação.

Neste estudo foi utilizada a técnica de escarificação química por imersão das sementes em solução de NaOH 1 M em agitação por 10 minutos (Soares et al., 2009), seguidos por três enxágues sucessivos. Desta forma o tegumento da semente foi digerido, tomando uma coloração de marrom para o branco, ficando desprendido da semente e posteriormente descartado nos enxágues com água esterilizada. Esta foi uma maneira prática e eficiente de remover o tegumento, visto que de forma manual exige-se maior tempo tratando-se uma única semente.

As técnicas de extração das sementes da mangabeira são diversas, Vieira et al. (2020) usaram o NH₄OH na proporção de 1,5 a 5,0% para otimização da despolpa de mangabeira das variedades *gardneri* e *cuyabensis*. Nunes et al. (2021) testaram a extração das sementes de forma manual e mecânica e não observaram diferenças na viabilidade das sementes. A maioria dos estudos apresentam a extração das sementes manualmente, com peneira e água corrente como recomendado por (Barros et al., 2006).

Além disso, outros fazem a remoção do tegumento para germinação *in vitro* (Pinheiro et al., 2001; Léo et al., 2007; Vieira, 2014) ou extração com hidróxido de sódio (Soares et al., 2009, Cabral et al., 2013). Esses estudos são importantes pois conforme Lorenzi (1992), a presença de inibidores na polpa pode prejudicar a germinação, o que corrobora com os resultados de Oliveira & Aloufa (2018), que observaram prejuízos na germinação das sementes com polpa aderida ao tegumento.

Para embriões, um fator associado ao risco de contaminação é o método de extração. Há necessidade de vários cortes para a remoção do embrião inteiro aderido ao endosperma rígido. Embora isso ocorra de maneira asséptica em cabines de fluxo laminar, pode haver transferência de contaminantes da superfície da semente para o embrião. Outro fator é a composição do meio de cultura. Grattapaglia e Machado (1990) afirmaram que o meio MS completo não se mostrou satisfatório em alguns casos, para espécies lenhosas e que composições mais diluídas, como as do meio WPM, podem apresentar melhores resultados. Isso associado à suplementação com sacarose influencia no risco de qualquer contaminação cruzada, no crescimento de microrganismos contaminantes, ainda que a a concentração do inóculo seja pequena.

Ainda Vieira et al. (2018) relataram a contaminação de sementes de mangabeira com maior incidência de bactérias do que fungos. Muitos desses microrganismos podem ser endógenos, manifestam após algum estresse ou após vários dias de crescimento e geralmente convivem com a planta. Porém, eles podem competir com as plantas por nutrientes e carboidratos do meio de cultura contribuindo para redução do desenvolvimento da planta.

A altura das plantas mostra o comportamento diferencial entre as variedades. A var. *gardneri* e *pubescens* cresceram melhor em meio WPM e utilizando-se sementes (Figuras 3.4 e 3.18). As doses de sacarose afetaram pouco o desenvolvimento das plantas com semente dessas variedades. A var. *cuyabensis* apresentou melhor crescimento utilizando-se sementes em meio MS com 30 e 45 g.L⁻¹ de sacarose (Figura 3.11).

Tratando-se de plantas de resgate de embriões, houve alguma dependência de sacarose para o crescimento, pois para todas as variedades, os embriões se desenvolveram melhor em meio WPM e aumentaram o crescimento com maiores doses de sacarose. Os embriões usados neste estudo foram extraídos de frutos maduros e, possivelmente, a taxa fotossintética poderia estar ocorrendo logo após 48 horas de exposição à luz, pois as folhas cotiledonares rapidamente se desenvolveram e com radícula proeminente.

As respostas diferenciadas entre explantes se relaciona com a forma de nutrição do embrião e a composição bromatológica do endosperma, visto que é este que fornece nutrientes para o desenvolvimento do embrião. Isso pode ser observado nos resultados com os meios de cultura completos, com desenvolvimento melhor para as plantas originadas de sementes do que para aquelas formadas por embriões.

Na germinação de sementes a primeira raiz apareceu 7 a 10 dias após a introdução no meio. A protusão da radícula das sementes é mais tardia que em embriões, que ocorre após 48 horas com mudança no intumescimento e alteração para a cor avermelhada. Todavia, ainda que os embriões apresentassem germinação imediata, as reservas nutricionais do endosperma presente na semente são importantes para nutrir a planta, e assim, logo as plantas formadas de sementes tem incrementos de crescimento maiores em pequeno período, o que resulta em plantas mais vigorosas que as plantas de embriões.

Embriões zigóticos nus apresentaram alongamento da raiz primária e entumescimento do hipocótilo e posterior tuberização para formar o xilopódio de coloração avermelhada. A germinação é epígea, fanerocotiledonar, caracteriza-se como pivotante com uma raiz primária axial, fina, cilíndrica, sinuosa, com numerosas raízes secundárias que são

cilíndricas, sinuosas, delgadas abundantes e bastantes ramificadas que assim como a raiz primária, apresentam base mais grossa que vai afinando no sentido do ápice. O hipocótilo é epígeo, reto, espesso, curto, suberbáceo, textura lisa, coloração avermelhada na base e mais alaranjada no ápice (Dias et al., 2021).

Evidentemente, em plantas de sementes, os nutrientes do endosperma nutriram a planta a longo prazo. A região do colo, transição entre raiz e caule, formou um sistema subterrâneo, com diâmetro maior que as plantas de embriões (dados não publicados). Esse sistema é o xilopódio, que transloca nutrientes e carboidratos (mecanismo de “fonte-dreno”) que ficam armazenados. Estas substâncias, com aumento de temperatura e um mínimo de água disponível são degradados e utilizados no metabolismo vegetal (Rizzini & Heringer, 1961). Essa estrutura, é um sistema complexo com mistura de tecidos da raiz e do caule que auxilia no armazenamento de compostos de reserva e permite a sobrevivência das espécies em condições desfavoráveis como seca e fogo na Savana Brasileira (Rizzini; Heringer, 1961; Hayashi & Appezzato-da-Glória, 2007). Isso corrobora com os resultados observados por Oliveira et al. (2014), Dresch et al. (2016) e Vieira et al. (2018).

Neste trabalho, as plantas germinadas foram influenciadas pelas doses de sacarose no meio. Outros estudos mostram a influência da sacarose na germinação das plantas. Pinheiro et al. (2001) testaram sacarose em doses até 90 g.L⁻¹ no meio MS e não observaram qualquer favorecimento na germinação de sementes de mangabeira. Soares et al. (2009), obtiveram as maiores porcentagens de germinação in vitro de sementes mangabeira em meio MS-50% e WPM com 15 g.L⁻¹ de sacarose.

Cabral et al. (2013) mostraram que a alta percentagem de germinação em meio WPM líquido com 15 g.L⁻¹ e sem sacarose. A var. *gardneri* foi avaliada em meio MS nas concentrações de 25 a 100% e se apresentou eficiente nos diferentes meios de cultura testados (Cubas et al., 2017). Santos et al. (2017) relataram que a adição de sacarose acima de 60 g.L⁻¹ causam prejuízos na germinação de sementes de mangabeira.

Freire et al. (2011) mostraram que em embriões zigóticos maduros de mangabeira é dispensável a presença de ANA ou BAP no meio de cultura. Santana et al. (2013) mostraram que embriões zigóticos em frutos maduros de mangabeira tem maior taxa de germinação que embriões de frutos verdes. Ainda, embriões pré-cultivados em sacarose e criopreservados não regeneraram em plantas. Santos (2013) verificou a eficiência da germinação de embriões de mangabeira em meio MS completo 5 dias após desidratação.

Os estudos com outras espécies mostraram a influência da sacarose no meio para o resgate de embriões. Para variedades de pimenta, os embriões maduros tiveram boa germinação sem adição de sacarose e fitoreguladores, e embriões imaturos ainda requerem sacarose como fonte exógena de carboidrato para germinarem (Walter et al., 2018). Conforme Hu & Ferreira (1998), embriões excisados no estágio maduro ou próximo a esse são quase autotróficos e, em geral, dependendo da espécie, não há necessidade de suplementação de fonte de energia e os reguladores de crescimento tornam-se dispensáveis.

Alguns trabalhos relacionam o vigor de plantas com parâmetros biométricos. De acordo com Moraes & Alves (2002), o tamanho de diásporos de espécies arbóreas tropicais afeta o valor adaptativo das árvores matrizes e do processo de regeneração da população, constituindo uma característica importante da história de vida. Dessa forma, têm-se evidenciado que diásporos de maior tamanho apresentam maior sucesso germinativo, crescimento e sobrevivência da plântula, por se originarem de plântulas competitivamente superiores e conseqüentemente mais vigorosas.

As respostas das variedades de mangabeira em meios de cultura também foram salientadas por Vieira et al. (2018), com diferentes taxas de germinação para as variedades *cuyabensis*, *gardneri* e *pubescens*, com 66, 64 e 76% de germinação, respectivamente, utilizando o meio MS com doses de AIB. Outro teste mostrou que a germinação de sementes foi de 100% nos meios WPM e MS-50%, e ao associar doses de sacarose e giberelina mostrou que as taxas de germinação também não diferiram entre si (Soares et al., 2009).

Conforme Pinheiro et al. (2001) as maiores taxas de germinação *in vitro* de sementes de mangabeira podem ser obtidas através da retirada do seu tegumento e posterior inoculação em meio MS líquido suplementado com 0,1 g.L⁻¹ GA₃. Cabral et al. (2013) mostraram que meio líquido sem agitação favoreceu a germinação de sementes, e o aumento contínuo da concentração de sacarose (15 a 90 g.L⁻¹) no meio causou prejuízos na taxa de emergência. Cabral (2012) mostrou que em meio WPM-50%, líquido na ausência ou com 15 g.L⁻¹ de sacarose proporcionou os maiores índices de porcentagem de germinação e vigor.

A sacarose pode gerar o estresse osmótico nos tecidos e causar prejuízos no crescimento, mas também pode contribuir com o desenvolvimento. Nesse estudo, o uso de sacarose em embriões zigóticos foi eficiente para conversão de embriões em plantas. No entanto, são encontradas respostas diferenciadas no uso de sacarose em cultura *in vitro* conforme a espécie da planta.

Santos et al. (2017) evidenciam isso em decréscimos do índice de velocidade de germinação reduzido com o aumento da concentração de sacarose no meio. Entretanto, a capacidade de ajustar aos osmolitos do meio pode ser específico para cada espécie, como é evidente para pequi, em que houve benefícios para a germinação (Silva et al., 2013). Para murici (*Byrsonima cydoniifolia*) e louro (*Laurus nobilis*), a ausência e a adição de várias concentrações de sacarose no meio de cultura não afetaram as características das plantas (Martendal et al., 2013, Cavusoglu & Bozkurt, 2020).

3.7 CONCLUSÕES

- A var. *pubescens* tem maior taxa de contaminação no uso de sementes e por sua vez tem maior sobrevivência em uso de embriões em ambos os meios de cultura com qualquer dose de sacarose.
- A var. *gardneri* tem maior taxa de contaminação no uso de sementes no meio WPM em qualquer dose de sacarose, tendo maior sobrevivência no uso de sementes em meio MS e no uso de embriões em meio WPM até o nível de 15 g.L⁻¹ de sacarose.
- A var. *cuyabensis* tem maior taxa de contaminação em meio WPM independente o tipo de explante, tendo maior sobrevivência no uso de sementes em meio WPM com qualquer dose de sacarose.
- O meio WPM completo é indicado para a germinação de sementes das três variedades botânicas.
- Plantas germinadas de sementes inteiras são mais vigorosas que aquelas geradas de embriões zigóticos.
- No uso de sementes inteiras, a variedade *cuyabensis*, tem melhor crescimento no meio WPM em qualquer dose de sacarose do estudo, enquanto as variedades *gardneri* e *pubescens*, tem melhor crescimento em meio WPM até 15 g.L⁻¹ de sacarose.
- No uso de embriões zigóticos, a var. *gardneri* tem melhor crescimento em meio MS a partir de 15 g.L⁻¹ de sacarose, var. *pubescens* em meio WPM até 15 g.L⁻¹ e *cuyabensis* se desenvolve em meio WPM com qualquer dose de sacarose do estudo.

3.8 REFERÊNCIAS

ABDALLA, D. F.; FERREIRA, I. N. M.; MORAES, M. G.; SOUZA, E. R. B. Comparative Anatomy and Histochemistry of Fruits of Four Varieties of *Hancornia Speciosa* Gomes (Apocynaceae). **Revista Desafios**, Palmas, v. 8, n. 2, 2021.

ALMEIDA, L. M.; FLORIANO, J. F.; RIBEIRO, T. P.; MAGNO, L. N.; MOTA, L. S. L. S.; PEIXOTO, N.; MRUÉ, F.; MELO-REIS, P.; JUNIOR, R. S. L.; GRAEFF, C. F. O.; GONÇALVES, P. J. *Hancornia speciosa* latex for biomedical applications: physical and chemical properties, biocompatibility assessment and angiogenic activity. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, Taylor and Francis, v. 25, p. 2153-2162, 2014.

ALMEIDA, L.; NOGUEIRA, C. A.; BORGES, P. P.; PRADO, A. D. L.; GONÇALVES, P. J. State of the art of scientific literature on *Hancornia speciosa*: Trends and gaps. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 38, n. 4, e-869, 2016.

BARREIRO-NETO, M. Recursos genéticos para o melhoramento da mangabeira no Estado da Paraíba. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE A CULTURA DA MANGABA, 1., 2003, Aracaju. **Anais eletrônicos: [...]**. Aracaju: Embrapa - CPATC, 2003.

BARROS, D. I. **Tecnologia de Sementes de Mangaba** (*Hancornia speciosa* Gomez). 2006. 89 f. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Agronomia Área de Concentração Sementes) - Universidade Federal da Paraíba, Centro de Ciências Agrárias, Areia, 2006.

CABRAL, J. S. R. **Otimização de Parâmetros Físico-Químicos e Microbiológicos no Estabelecimento In Vitro de Explantes de Mangabeira** (*Hancornia Speciosa* Gomes) e na sua Promoção do Crescimento. 2012. 182 f. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias) - Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano, Rio Verde – GO, 2012.

CABRAL, J. S. R.; ALBERTO, P. E.; PEREIRA, F. D.; SOUCHIE, E. L.; SILVA, F. G. In vitro Cultivation of *Hancornia speciosa* Gomes: The Physical Constitution of the Culture Medium, Sucrose Concentrations and Growth Conditions. **Plant Tissue Culture and Biotechnology**, Elsevier, v. 23, n. 2, p. 177-187, 2013.

CASAROLI, D.; RODRIGUES, T. R.; MARTINS, A. P. B.; EVANGELISTA, A. W. P.; ALVES JÚNIOR, J. Padrões de Chuva e de Evapotranspiração em Goiânia, GO. **Revista Brasileira de Meteorologia**, Rio de Janeiro, v. 33, n. 2, 247-256, 2018.

CAVUSOGLU, A.; BOZKURT, D. Plant stress induced by excessive sucrose and agar concentration on in vitro germination and plantlet growth of *Laurus nobilis* L. (Lauraceae). **Applied Ecology and Environmental Research**, Budapest, v. 18, n. 5, p. 7445-7455, 2020.

CHAGAS, M. B. O.; SANTOS, I. P.; SILVA, L. C. N.; CORREIA, M. T. S.; ARAÚJO, J. M.; CAVALCANTI, M. S.; LIMA, V. L. M. Antimicrobial Activity of Cultivable Endophytic Fungi Associated with *Hancornia Speciosa* Gomes Bark. **The Open Microbiology Journal**, Netherlands, v. 11, p. 179-18, 2017.

COSTA e SILVA, S. M.; RIBEIRO, K. O.; PIRES, L. L.; CRUZ, G. H. T.; DOURADO, F. O. Caracteres Morfológicos de Variedades Botânicas de *Hancornia speciosa* Gomes. **Revista Mirante**, Anápolis, v. 10, n. 5, 2017.

CUBAS, E. B.; VITAL, N. A. M.; FREITAS, I. N.; NEVES, E. L.; VIEIRA, M. C. Análise Morfobiométrica da Mangaba do Cerrado. **Multi-Science Journal**, Urutaí, v. 1, n. 8, 2017.

DIAS, A. O.; MELO NETO, P. R.; MAGALHÃES, A. P.; COSTA NETO, S. V.; MIRANDA, Z. P. Caracterização morfológica de frutos e sementes e aspectos morfológicos da germinação de plântula de mangaba (*Hancornia speciosa* Gomes) nativa da savana amapaense. **Research, Society and Development**, Vargem Grande Paulista, v. 10, n. 13, e193101321176, 2021.

Dos SANTOS NEVES, J. S. N.; FRANCHIN, M.; ROSALEN, P. L.; OMAR, N. F.; SANTOS, M. A.; PASCHOAL, J. A.; NOVAES, P. D. Evaluation of the osteogenic potential of *Hancornia speciosa* latex in rat calvaria and its phytochemical profile. **Journal of Ethnopharmacology**, Limerick, v. 183, p. 151- 158, 2016.

DRESCH, D. M.; JEROMINI, T. S.; SCALON, S. P. Q.; MUSSURY, R. M.; MASETTO, T. E.; PEREIRA, Z. V. Germinação e Secagem de Sementes de *Hancornia speciosa* Gomes. **Journal of Bioscience**, Uberlândia, v. 32, n. 2, p. 496-504, 2016.

EMBRAPA. **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos**. 3ª edição. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2013. 353p.

ENGELMANN, F. Use of biotechnologies for the conservation of plant biodiversity. In **Vitro Cellular and Developmental Biology Plant**, Springer, n. 47, p. 5-16, 2011.

FLORES, I. S.; SILVA, A. K.; FURQUIM, L. C.; CASTRO, C. F. S.; CHAVES, L. J.; COLLEVATTI, R. G.; LIÃO, L. M. HR-MAS NMR allied to chemometric on *Hancornia speciosa* varieties differentiation. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, Campinas, v. 29, p. 708-714, 2018.

FLORIANO, J. F.; NETO, F. C.; DA MOTA, L. S. L. S.; FURTADO, E. L.; FERREIRA, R. S.; BARRAVIERA, B.; GONÇALVES, P. J.; ALMEIDA, L. M.; BORGES, F. A.; HERCULANO, R. D.; GRAEFF, C. F. O. Comparative study of bone tissue accelerated regeneration by latex membranes from *Hevea brasiliensis* and *Hancornia speciosa*. **Biomedical Physics and Engineering Express**, IOP Publishing, v. 2, p-045007, 2016.

FREIRE, K. C. S.; COELHO, G. G.; RUSSO, S. L.; SILVA, A. V. C.; LÉDO, A. S.; SÁ, A. J.; MACHADO, C. A. Germinação in vitro de embriões zigóticos e aclimação de plântulas de mangaba oriundas da cultura de embrião (*Hancornia speciosa* Gomes). **Scientia Plena**, Uberlândia, v. 7, n. 11, p. 1-7, 2011.

GANGA, R. M. D.; CHAVES, L. J.; NAVES, R. V. Parâmetros genéticos em progênies de *Hancornia speciosa* Gomes do Cerrado. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, v. 37, p. 395-404, 2009.

GANGA, R. M. D.; FERREIRA, G. A.; CHAVES, L. J.; NAVES, R. V.; NASCIMENTO, J. L. Caracterização de frutos e árvores de populações naturais de *Hancornia speciosa* Gomes do Cerrado. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 32, p. 101-113, 2010.

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. **Micropropagação**. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. (Eds.). Cultura de tecidos e transformação genética de plantas. Brasília, DF: Embrapa-SPI/Embrapa-CNPq, p. 183-260, 1998.

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. **Micropropagação**. In: TORRES, A.C.; CALDAS, L.S. (Ed.). Técnicas e aplicações da cultura de tecidos de plantas. Brasília: EMBRAPA/CNPq, 1990. p.99-169.

HAYASHI, A. H.; APPEZZATO-DA-GLÓRIA, B. Anatomy of the underground system in *Vernonia grandiflora* Less. and *V. brevifolia* Less. (Asteraceae). **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v. 50, n. 6, p. 979-988, 2007.

HU, C. Y.; FERREIRA, A. G. **In vitro embryology of *Ilex***. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. (Ed.). Cultura de tecidos e transformação genética de plantas. Brasília: Embrapa-SPI; Embrapa-CNPq, 1998. p. 371-393.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Produção da extração vegetal e da silvicultura 2020: mangaba. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/estatisticas/economicas/agricultura-e-pecuaria/9105-producao-da-extracao-vegetal-e-da-silvicultura.html?=&t=destaques>. Acesso em: 23 e julho de 2022.

LÉDO, A. S.; SÁ, A. J.; SANTOS, M. C.; SILVA-JUNIOR, J. F.; MUNIZ, A. V. C. S. Protocolo para conservação in vitro por crescimento lento de mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes). **Comunicado técnico 115**, Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, 2011.

LÉDO, A. S.; SECA, G. S. V.; BARBOZA, S. B. S. C.; SILVA-JUNIOR, J. F. Crescimento Inicial de Mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes) em Diferentes Meios de Germinação in vitro. **Ciência e Agrotecnologia de Lavras**, Lavras, v. 31, n. 4, p. 989-993, 2007.

LLOYD, G.; McCOWN, B. Commercially-feasible micropropagation of Mountain laurel, *Kalmia latifolia*, by use of shoot tip culture. **International Plant Propagation Society Proceedings**, Carlisle, v. 30, n. 1, p. 421-427, 1980.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras**. Plantarum, Nova Odessa, 1992, 384 p.

MARTENDAL, C. O.; BENARDINO, M. M.; PEREIRA, F. D.; SILVA, F. G.; MENEZES, C. C. E.; HARA, A. C. B. A. M. In vitro cultivation of zygotic embryos from Murici (*Byrsonima cydoniifolia* A. Juss.): establishment, disinfection, and germination. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 35, n. 2, p. 221-229, 2013.

MONACHINO, J. A. A revision of *Hancornia* (Apocynaceae). **Lilloa**, Tucumán, v. 1, p. 19-48, 1945.

MORAES, P. L. R.; ALVES, M. C. Biometria de frutos e diásporos de *Cryptocarya aschersoniana* Mez e *Cryptocarya moschata* Nees (Lauraceae). **Biota Neotropica**, São Paulo, v. 2, n. 1, BN01302012002, 2002.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Plant Physiology**, Rockville, v. 52, p. 473–49, 1962.

NORMAH, M. N.; SULONGA, N.; REED, B. M. Cryopreservation of shoot tips of recalcitrant and tropical species: Advances and strategies. **Cryobiology**, Baltimore, v. 87, p. 1–14, 2019.

NUNES, V. V.; SILVA-MANN, R.; SOUZA, J. L.; CALAZANS, C. C. Geno-phenotypic diversity in a natural population of *Hancornia speciosa* Gomes: implications for conservation and improvement. **Genetic Resource Crop Evolution**, Springer, v. 68, p. 2869-2882, 2021.

OLIVEIRA, K. S. D.; ALOUFA, M. A. I. Extrativismo e Geração de Renda da Mangaba (*Hancornia Speciosa* Gomes) em Região Litorânea do Rio Grande do Norte. **Revista Brasileira de Agroecologia**, Rio de Janeiro, v. 15, n. 5, p. 291-304, 2020.

OLIVEIRA, K. S.; ALOUFA, M. A. I. Métodos de Extração de Sementes e Substratos na Emergência e Crescimento Inicial de Plântulas de *Hancornia Speciosa* Gomes. **Revista Brasileira de Agroecologia**, Rio de Janeiro, v. 13, n. 5, p. 247-254, 2018.

OLIVEIRA, K. S.; OLIVEIRA, M. S.; PEREIRA, E. C.; LIMA, C.; ALOUFA, S. I.; AHMED, M. Efeito DE Diferentes Meios DE Cultura na Germinação In Vitro de Sementes de Mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes). **Revista Árvore**, Viçosa, v. 38, n. 4, p. 601-607, 2014.

PEREIRA, A. V.; PEREIRA, E. B. C.; SILVA JÚNIOR, J. F.; SILVA, D. B. *Hancornia speciosa* (mangaba). In: Vieira, R. F.; CAMILO, J.; CORADIN, L. (Ed.). Espécies Nativas da Flora Brasileira de Valor Econômico Atual ou Potencial – Plantas para o Futuro – Região Centro-Oeste. Ministério do Meio Ambiente, Secretaria da Biodiversidade, 2016. Brasília, p. 237-246.

PINHEIRO, C. S. R.; MEDEIROS, D. N.; MACEDO, C. E. C.; ALLOUFA, M. A. I. Germinação in vitro de mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes) em diferentes meios de cultura. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 23, n. 2, p. 413 – 416, 2001.

R CORE TEAM. R: A language and environment for statistical computing. **R Foundation for Statistical Computing**, Vienna, Austria, 2020.

REIS, L. L. **Propagação De *Hancornia Speciosa* Gomes – Apocynaceae, Por Alporquia e Micropropagação**. 2011, 106 f. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Agronomia) – Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira.

RIBEIRO, T. P.; SOUSA, T. R.; ARRUDA, A. S.; PEIXOTO, N.; GONÇALVES, P. J.; ALMEIDA, L. M. Evaluation of cytotoxicity and genotoxicity of *Hancornia speciosa* latex in *Allium cepa* root model. **Brazilian Journal of Biology**, São Carlos, v. 76, n.1, p. 245-249, 2016.

RIZZINI, C. T.; HERINGER, E. P. Underground organs of plants from some southern Brazilian savannas with special reference to the xylopodium. **Phyton**, Horn, v. 17, p. 105–124, 1961.

SÁ, A. J.; LÉDO, A. S.; LÉDO, C. A. S.; PASQUAL, M.; SILVA, A. V. C.; SILVA JUNIOR, J. F. Tipo de vedação e explantes na micropropagação de mangabeira. **Ciência e Agrotecnologia de Lavras**, Lavras, v. 36, n. 4, p. 406-414, 2012.

SANTANA, F. V.; OKIVIERA, A. C. A.; OLIVEIRA, L. A. R.; MIRANDA, I. C. D.; MACHADO, C. A.; SANTOS, P. A. A. Effect of Desiccation Time on Seed Moisture and Regeneration of Mangaba (*Hancornia speciosa*) Embryos. **Journal of Experimental Agriculture International**, Hooghly, v. 28, n. 1, p.1-10, 2018.

SANTOS, M. C.; CARDOSO, B. T.; GOMES-COPELAND, K. K. P.; SILVA, A. V. C.; SILVA JUNIOR, J. F.; LÉDO, A. S. Teor de prolina em brotações adventícias de mangabeira cultivadas in vitro sob condições de estresse osmótico. **Scientia Plena**, Sergipe, n. 12, v. 12, p. 2016.

SANTOS, M. P.; AGRIAR, R. A.; BRANDÃO, D. C.; PIRES, L. L.; CASTRO Y. O.; SILVA, F. G.; NERI, L. M. S.; PEREIRA, D. R. M.; CASTRO, J. R.; SELEGUINI, A. Effect of seed desiccation and sucrose concentration on the in vitro establishment of mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes var. *gardneri*) seedlings. **African Journal of Agricultural Research**, South Africa, v. 12, n. 5, p. 348-353, 2017.

SANTOS, P. A. A. **Cultivo e conservação in vitro de *Hancornia speciosa* Gomes**. 2013. 96 f. Tese (Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal) – Universidade Federal de Lavras. Lavras, 2013.

SANTOS, U. P.; TOLENTINO, G. S.; MORAIS, J. S.; SOUZA, K. P.; ESTEVINHO, L. M.; SANTOS, E. L. Physicochemical Characterization, Microbiological Quality and Safety, and Pharmacological Potential of *Hancornia speciosa* Gomes. **Hindawi Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, London, ID2976985, 2018.

SILVA, G. P.; RUBIO NETO, A.; FRANÇA, S. C.; SALES, J. F.; SILVA, F. G.; RESENDE, O. Influence of the drying temperature on the emergence and vigor of Pequi seedlings (*Caryocar brasiliense* Camb), an important species of the Brazilian Cerrado. **African Journal of Agricultural Research**, South Africa, v. 8, n. 6, p. 553-558, 2013.

SOARES, F. P.; PAIVA, R.; STEIN, V. C.; NERY, F. C.; NOGUEIRA, R. C.; OLIVERIRA, L. M. Efeito de Meios de Cultura, Concentrações de GA3 sobre a Germinação *in vitro* de Mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes). **Ciência e Agrotecnologia de Lavras**, Lavras, v. 33, Comunicação, Edição Especial, p. 1847 -1852, 2009.

VIEIRA, M. C. **Produção, fenologia de plantas e morfogênese in vitro de diferentes subespécies de mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes)**. 2014. 208 f. Tese (Doutorado em Produção Vegetal) - Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2014.

VIEIRA, M. C.; OLIVIERA, R. M.; FRANÇA, J. B. A.; OLIVEIRA, C. C. P.; SOUZA, E. R. B. In vitro morphogenesis of different mangabeira (*Hancornia speciosa* gomes) varieties from the savanna of the Goiás. **Scientific Electronic Archives**, Rondonópolis, v. 11, n. 5. 2018.

VIEIRA, M. C.; PEREIRA, C. C. O.; SANTOS, L. F.; SOUZA, J. L. C.; FRACA, J. B. A.; ARAÚJO, E. F. L.; SOUZA, E. R. B. Extração Química De Sementes De Duas Variedades Da Mangaba. **Brazilian Journal of Development**, Curitiba, v. 6, n. 5, p. 26217–26227, 2020.

WALTER, R.; CARVALHO, V. S.; GENEROSO, A. L.; RODRIGUES, R.; GRAVINA, G. A. Cultivation of immature *Capsicum* spp. embryos for incompatible-crossing embryo rescue. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 40, e39474, 2018.

YAMASHITA, F. O.; RÊGO, M. T.; GOMES, J. A. S.; FELIX-SILVA, J.; PASSOS, J. G. R.; FERREIRA, L. S.; SILVA-JÚNIOR, A. A.; ZUCOLOTTI, S. M.; FERNANDES-PEDROSA, M. F. Mangaba (*Hancornia speciosa* Gomes) fruit juice decreases acute pulmonary edema induced by *Tityus serrulatus* venom: Potential application for auxiliary treatment of scorpion stings. **Toxicon**, Oxford, n. 79, p. 42–52, 2020.

CAPÍTULO 3

ORGANOGENESE DIRETA DE VARIEDADES BOTÂNICAS DE MANGABEIRA (*Hancornia speciosa* Gomes)¹

Emiliane dos Santos Belo²; Sérgio Tadeu Sibov²

¹ Capítulo elaborado como artigo para a revista científica **TreeDimensional** (ISSN 2447-9829)

² Universidade Federal de Goiás. Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas. Goiânia, GO, Brasil.

4 ORGANOGÊNESE DIRETA DE VARIEDADES BOTÂNICAS DE MANGABEIRA (*Hancornia speciosa* Gomes)

4.1 RESUMO

A mangabeira *Hancornia speciosa* Gomes é uma fruteira tropical, produtora de frutos importantes para economia local e promissora do ponto de vista comercial. Salienta-se a importância do estabelecimento de protocolos completos de micropropagação da mangabeira, devido a diferenciação genética já relatada entre variedades botânicas. O objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos de diferentes citocininas na multiplicação de brotações de mangabeira das variedades botânicas *gardneri*, *cuyabensis* e *pubescens*. Foram utilizados segmentos nodais de plantas de mangabeira germinadas in vitro, das variedades botânicas *gardneri*, *cuyabensis* e *pubescens*, de árvores da coleção de germoplasma da Escola de Agronomia da UFG. Utilizou-se o meio de cultura WPM suplementado com as citocininas 6-benzilaminopurina (BAP), cinetina e ácido idolacético (AIA). Os tratamentos de BAP foram 0,00, 2,20, 4,40, 6,60 e 8,80 μM . Para cinetina, foram: 0,00, 2,30, 4,60, 7,00 e 9,30 μM ; e 2,85, 5,70, 8,55 e 11,40 μM de AIA associadas a 4,40 μM de BAP. O BAP é a melhor citocinina para multiplicação de brotos para todas as variedades de mangabeira. A associação de 4,40 μM de BAP com qualquer dose de AIA testada favorece a formação de calos. As maiores brotações se formam nas doses 4,40 μM de BAP para var. *gardneri*, 4,40 a 6,60 μM para a var. *cuyabensis* e 2,30 μM para a var. *pubescens*. Seguimentos nodais com gemas laterais são recomendados para multiplicação de brotos para as variedades *cuyabensis* e *pubescens*.

Palavras-chave: propagação, variedades botânicas, citocininas, auxina

4.2 ABSTRACT

The mangabeira *Hancornia speciosa* Gomes is a tropical fruit tree, producing important fruits for the local economy and promising from a commercial point of view. The importance of establishing complete mangabeira micropropagation protocols is highlighted, due to the genetic differentiation already related between botanical varieties. The aim of this work was to evaluate the effects of different cytokinins on the multiplication of mangabeira shoots of the botanical varieties *gardneri*, *cuyabensis* and *pubescens*. Nodal segments of mangabeira plants germinated in vitro from trees from the germplasm collection of the UFG School of Agronomy were used. WPM culture medium supplemented with the cytokinins benzylaminopurine (BAP), kinetin and indoleacetic acid (IAA) was used. BAP treatments were 0,00, 2,20, 4,40, 6,60 and 8,80 μM . For kinetin, they were: 0,00, 2,30, 4,60, 7,00 and 9,30 μM ; and 2,85, 5,70, 8,55 and 11,40 μM of IAA associated with 4,40 μM of BAP. BAP is the best cytokinin for shoot multiplication for all mangabeira varieties. The association of 4,40 μM of BAP with any dose of IAA tested favors the formation of calluses. The largest shoots form at doses of 4,40 μM of BAP for var. *gardneri*, 4,40 to 6,60 μM for var. *cuyabensis* and 2,30 μM for var. *pubescens*. Nodal segments with lateral buds are recommended for rotation multiplication for *cuyabensis* and *pubescens* varieties.

Keywords: propagation, botanical varieties, cytokinins, auxin

4.3 INTRODUÇÃO

Hancornia speciosa é uma árvore de porte médio (Silva-Junior et al., 2018), ocorre em todas as regiões do Brasil (REFLORA, 2023). Se trata de uma fruteira tropical, que produz frutos doces, importantes para economia local e promissora do ponto de vista comercial. Os frutos caem quando maduros, apresentam casca fina e inúmeras sementes. Destes são elaborados vários tipos de alimentos, como geleias, doces, picolés, sorvetes, bolos entre outros (Lima, 2010).

A planta é laticífera, produz látex com propriedades hipoalergênicas, antioxidantes, anti-inflamatórias de importância para a indústria médica e farmacêutica (Arruda et al., 2016; Marinho et al., 2011; Silva et al., 2022). Das folhas extraem-se diversas

substâncias como polifenóis (Dantas et al., 2021) e bornesitol importantes para o tratamento de diabetes e hipertensão (Pereira et al., 2012). A principal fonte de obtenção de frutos da mangabeira é o extrativismo de populações naturais. De tal forma, o Nordeste é a região que mais se destaca na coleta e comercialização dos frutos, e buscam a adoção de boas práticas de manejo do extrativismo vegetal para evitar escassez de populações de mangabeira (Lima, 2010).

Atualmente, não há registros de pomares comerciais produzindo mangabeira no estado de Goiás. Todavia a preocupação da perda de diversidade genética como consequência do extrativismo predatório e da colonização agrícola, várias instituições de pesquisa têm coleções de germoplasma de mangabeira ex situ e in vivo para estudos de populações e pré-melhoramento (Ganga et al., 2009; Silva-Junior, 2020; Dias et al., 2021).

Embora as coleções de germoplasma sejam uma boa estratégia para conservação, há riscos de perdas de genótipos importantes por ataque de pragas, doenças e catástrofes ambientais. Assim, as coleções in vitro, sejam por micropropagação e criopreservação, se fazem importantes para obtenção de protocolos específicos para as variedades de mangabeira para armazenamento do germoplasma. As vantagens das coleções in vitro são alto índice de multiplicação, propagação de material livre de patógenos e vírus, possibilidade de propagação de espécies com dificuldade de multiplicação vegetativa in vivo e produção de material durante todo o ano, a longo prazo e espaço reduzido (Shen & Mullins, 1984; Augé et al., 1984; Erig & Schuch, 2005).

Salienta-se a importância do estabelecimento de protocolos completos de micropropagação da mangabeira, devido a diferenciação genética já relatada entre variedades (Almeida et al., 2019), para exploração de genótipos superiores e resgate de matrizes adultas. A multiplicação de brotos in vitro é uma das formas em que se pode obter alta multiplicação vegetativa da planta, um método usado muitas vezes para outras espécies florestais (Malysz et al., 2011). A multiplicação de brotos permite a formação de clones, de forma a haver um resgate da matriz in vitro.

A espécie é responsiva ao uso de fitorreguladores para multiplicação de brotos. Oliveira et al. (2016, 2019) mostraram que a multiplicação in vitro em segmentos nodais de mangabeira é mais responsiva na ausência de reguladores de crescimento vegetal. Cabral (2012) recomenda a dose de 1 mg.L⁻¹ de cinetina ou a interação com 1 mg.L⁻¹ de ANA e 1 mg.L⁻¹ de BAP para multiplicação de brotos. Conforme Soares et al. (2011), 2 mg.L⁻¹ de BAP em meio WPM induz as melhores respostas organogênicas na cultura de segmentos

caulinares de mangabeira e maior taxa de multiplicação de brotações. Soares et al. (2007) obtiveram maior comprimento de brotos com 1 a 2 mg.L⁻¹ de AIB. Conforme Sousa et al. (2007), a combinação de 1 mg.L⁻¹ e 0,5 mg.L⁻¹ de AIA é a combinação que proporciona melhor resposta organogênica dos explantes de mangabeira, independentemente da posição do segmento internodal.

As giberelinas GA₁ e GA₃ também podem ser utilizadas para alongamento do caule e para aumentar a quantidade de nós para micropropagação por gemas laterais em subcultivos sucessivos. Pereira-Netto (2001) complementa que seguimento nodal de mangabeira crescendo sob temperatura elevada (35°C) ou em meio de cultura com inibidor da síntese de etileno, o metilciclopropeno, apresenta maior taxa de multiplicação de brotos.

Para o armazenamento de brotos de mangabeira in vitro, a técnica por crescimento lento foi relatada por Léo et al. (2011), Santos et al. (2011), Sartor et al. (2012), Oliveira & Aloufa (2022) e Pires et al. (2022). Os diversos efeitos sobre o uso de fitorreguladores para multiplicação de brotos nos relatos acima não identificaram a variedade, sendo descrito apenas a espécie *H. speciosa*. Estudos recentes mostram as diferenças organogênicas das variedades botânicas da mangabeira (Vieira et al. 2018), as quais diferiram quanto à velocidade de germinação e comprimento de raiz com uso de AIB.

Conforme Belo et al. (2018) as variedades botânicas de mangabeira: *gardneri*, *pubescens* e *cuyabensis*, se manifestaram de modo diferente quanto ao processo de desinfestação e sobrevivência para cultivo in vitro. Os estudos de biometria mostraram que a variedade *cuyabensis* é superior as outras considerando a produção de frutos e tamanho da planta (Almeida et al., 2019). Ganga et al. (2009, 2010) mostraram que há também uma grande variação fenotípica dentro das variedades botânicas.

Com a evidente diversidade das respostas morfogênicas entre as variedades botânicas de *H. speciosa* e a busca de estratégias de conservação do germoplasma em risco, o objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos de diferentes citocininas na multiplicação de brotações de mangabeira das variedades botânicas *gardneri*, *cuyabensis* e *pubescens*.

4.4 MATERIAL E MÉTODOS

Os trabalhos foram desenvolvidos no Laboratório de Cultura de Tecidos de Plantas da Universidade Federal de Goiás – Setor de Melhoramento de Plantas em Goiânia – GO. Para os experimentos de brotação foram utilizados segmentos caulinares obtidos de

plantas de mangabeira germinadas in vitro, das variedades botânicas *H. speciosa* var. *gardneri*, *H. speciosa* var. *cuyabensis* e *H. speciosa* var. *pubescens*. A germinação in vitro procedeu-se conforme testes anteriores (Capítulo 2) com uso de sementes de árvores da Coleção de Germoplasma da Escola de Agronomia da UFG.

Para os testes de brotação utilizou-se o meio de cultura WPM (*Wood Plant Medium*) (Lloyd & Mccown, 1981), gelificados com Gellflex® e com pH 5,7. A suplementação foi realizada com as citocininas, 6-benzilaminopurina (BAP) e cinetina; e BAP associado a doses de ácido indolacético (AIA). Os tratamentos com BAP foram 0,00, 2,20, 4,40, 6,60 e 8,80 μM . Para cinetina, as doses foram: 0,00, 2,30, 4,60, 7,00, 9,30 μM . Também se fez a associação de 4,40 μM de BAP e AIA: 2,85, 5,70, 8,55 e 11,40 μM . Também testou-se tipos de explantes: seguimentos caulinares com gemas laterais e apical no uso da melhor citocinina previamente determinada. Os experimentos foram realizados com cada variedade botânica da mangabeira, com trinta repetições por tratamento.

A multiplicação de brotos foi realizada em condições assépticas, em câmara de fluxo laminar. Os seguimentos caulinares com um par de gemas laterais foram transferidos para frascos com meio gelificado e autoclavado. Após a transferência dos explantes, os frascos foram levados para sala de crescimento com temperatura média de 25°C e fotoperíodo de 16 horas de luz com irradiância de 50-60 $\mu\text{M m}^{-1} \text{s}^{-1}$ e 8 horas de escuro. Foi realizado um só subcultivo no uso dos fitorreguladores, do qual obteve-se as plantas para as medições.

Após vinte dias, foram feitas as avaliações de número de brotações e de folhas. Mediu-se o diâmetro de calos e comprimento de brotos. A análise dos resultados foi realizada com auxílio do software R (R Core Team, 2020). Os resultados foram submetidos à análise de variância, após adequação dos pressupostos. Para a comparação dos tipos de explantes, as médias foram comparadas pelo teste F ao nível de 5%. Para os resultados relacionados às doses de citocininas, procedeu-se a regressão quadrática.

4.5 RESULTADOS

As regressões evidenciaram os efeitos das citocininas BAP e cinetina na brotação das variedades botânicas de mangabeira. O BAP foi a citocinina que promoveu as maiores brotações. Embora não foram significativas para altura de brotos, as maiores médias de

brotos foram observados na dose 2,20 μM de BAP para todas as variedades (Figuras 4.1, 4.2 e 4.4).

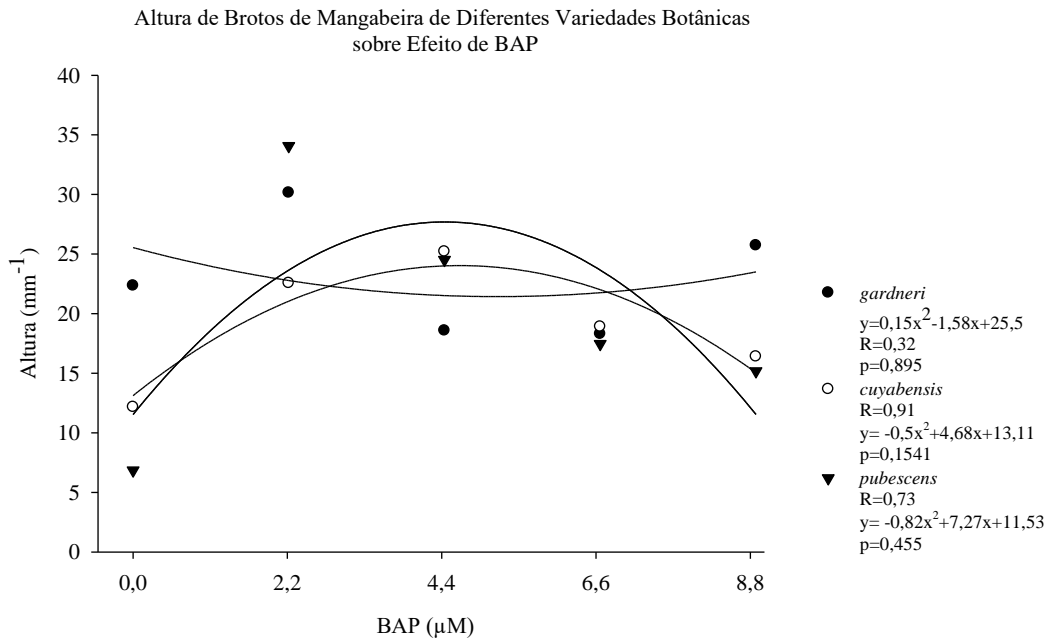


Figura 4.1. Regressões quadráticas da altura de brotações de mangabeira de diferentes variedades botânicas sob efeito de concentrações de BAP.

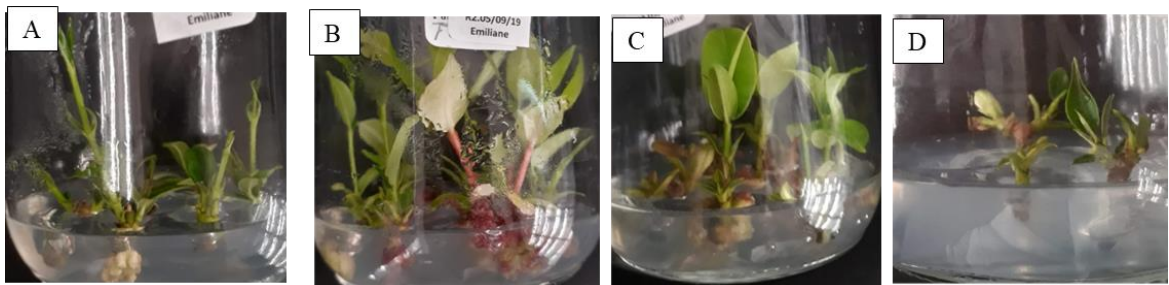


Figura 4.2 Brotações de *H. speciosa* var. *cuyabensis* em meio WPM com concentrações de BAP. A=2,21 μM , B=4,42 μM , C=6,6 μM , D=8,8 μM . Fonte: Belo, E. S.

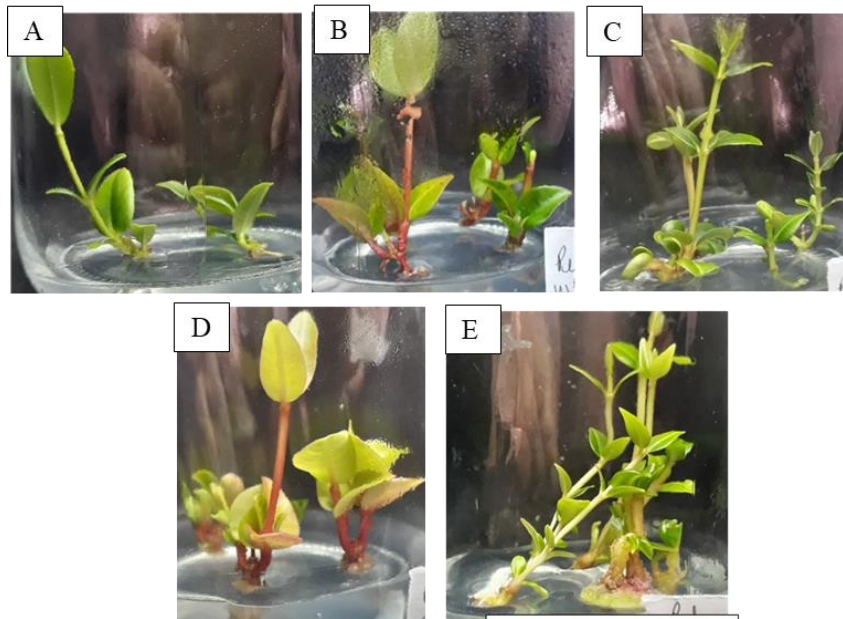


Figura 4.3. Brotações de *H. speciosa* var. *pubescens* em meio WPM com concentrações de BAP. A= WPM, B= 2,2 μ M, C=4,4 μ M, D=6,6 μ M, E= 8,8 μ M. Fonte: Belo, E. S.

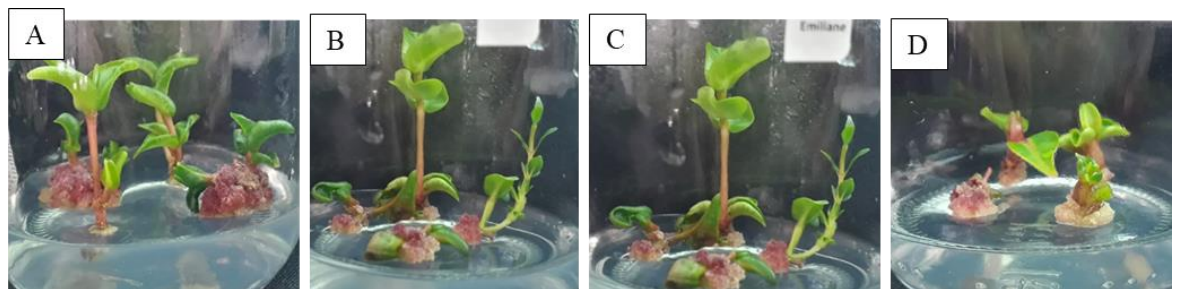


Figura 4.4. Brotações de *H. speciosa* var. *gardneri* em meio WPM com doses de BAP. A=2,21 μ M, B=4,4 μ M, C=6,6 μ M, D= 8,8 μ M. Fonte: Belo, E. S.

No uso de cinetina, a regressão foi significativa para comprimento de brotos apenas para a var. *gardneri*, com maior valor no uso de 9,20 μ M (Figuras 4.5 e 4.6). Vale ressaltar que sob o uso de cinetina, as brotações da var. *cuyabensis* apresentaram aspecto anômalo, alta mortalidade e com baixo desenvolvimento (Figura 4.7). A var. *pubescens* a altura de brotos apresentou resposta positiva com aumentos da concentração da cinetina no meio, mas a regressão não foi significativa (Figuras 4.5 e 4.8).

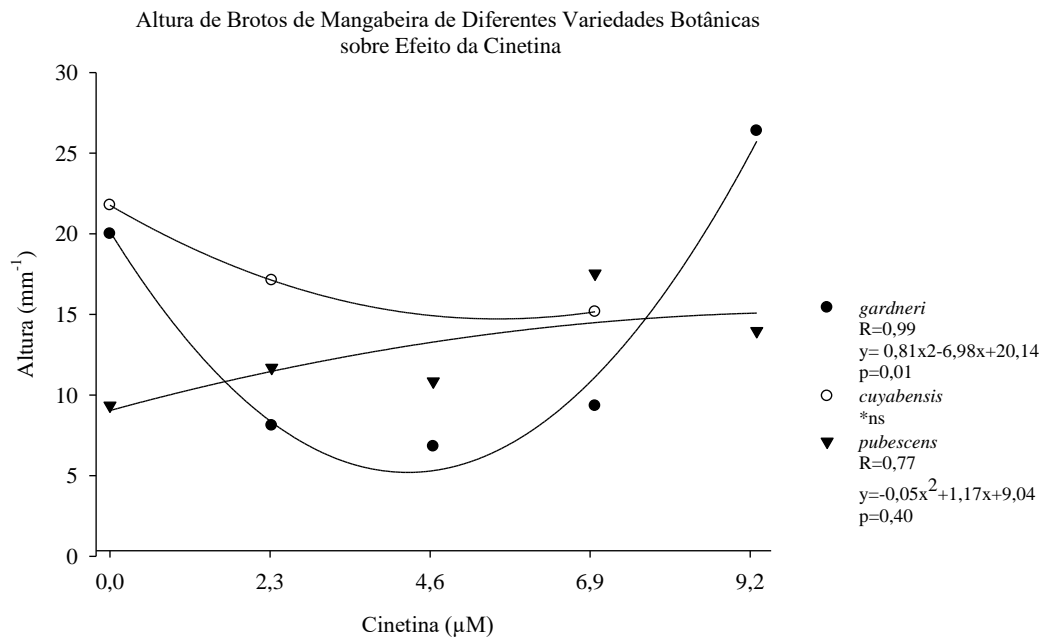


Figura 4.5. Regressões quadráticas da altura de brotações de mangabeira de diferentes variedades sob efeito da cinetina.

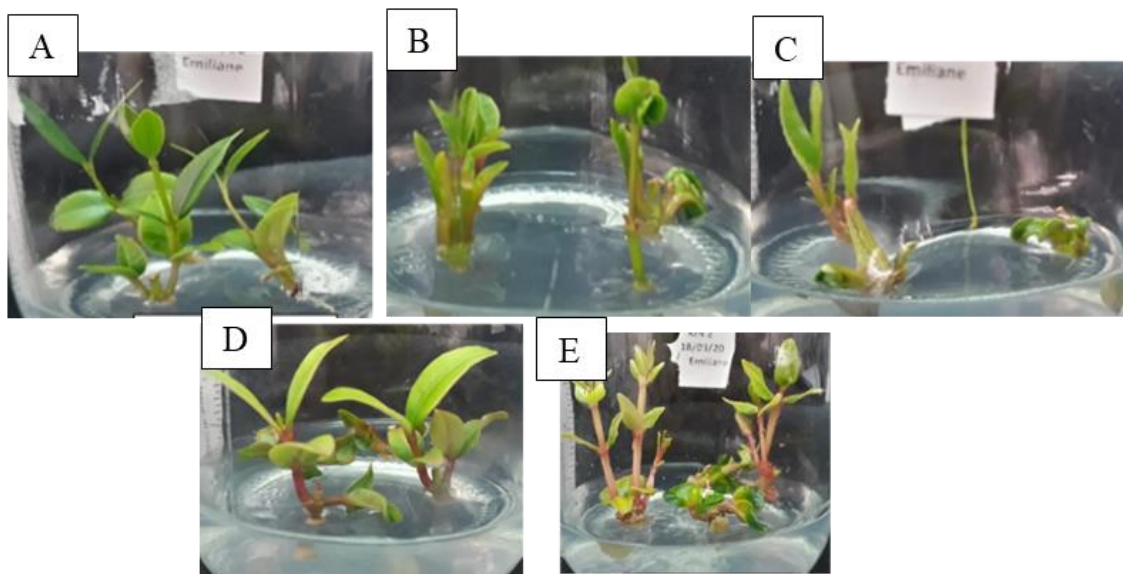


Figura 4.6. Brotações de *H. speciosa* var. *gardneri* em meio WPM com doses de cinetina. A=WPM, B=2,3 μM , C= 4,5 μM , D=6,6 μM , E=9,1 μM . Fonte: Belo, E. S.

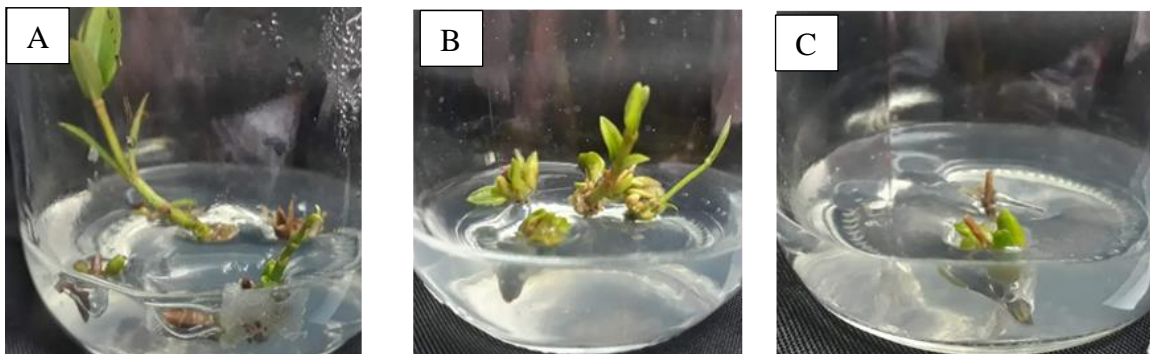


Figura 4.7. Brotações de *H. speciosa* var. *cuyabensis* em meio WPM com doses de cinetina. A=2,3, μM B=6,5 μM , C=9,1 μM . Fonte: Belo, E. S.

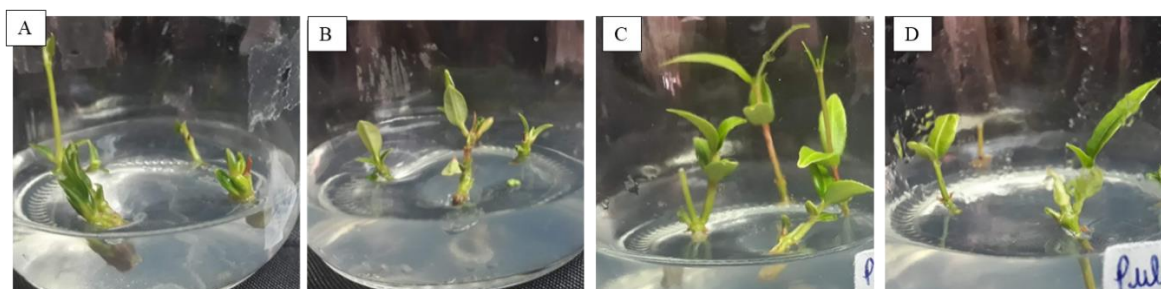


Figura 4.8. Brotações de *H. speciosa* var. *pubescens* em meio WPM com doses de cinetina. A=2,3, μM B=6,5 μM , C=9,1 μM . Fonte: Belo, E. S.

Não houve significância para as regressões quadráticas, para a quantidade de folhas por brotação sob o efeito do BAP, em todas as variedades botânicas da mangabeira. A var. *pubescens* foi a variedade que produziu mais folhas, com o maior valor no uso de 6,60 μM de BAP (Figura 4.9). A quantidade de folhas da mangabeira é compatível com a quantidade de nós, pois estas são opostas, com um par por nó. Quantidades maiores de folhas podem refletir brotos com entrenós mais curtos.

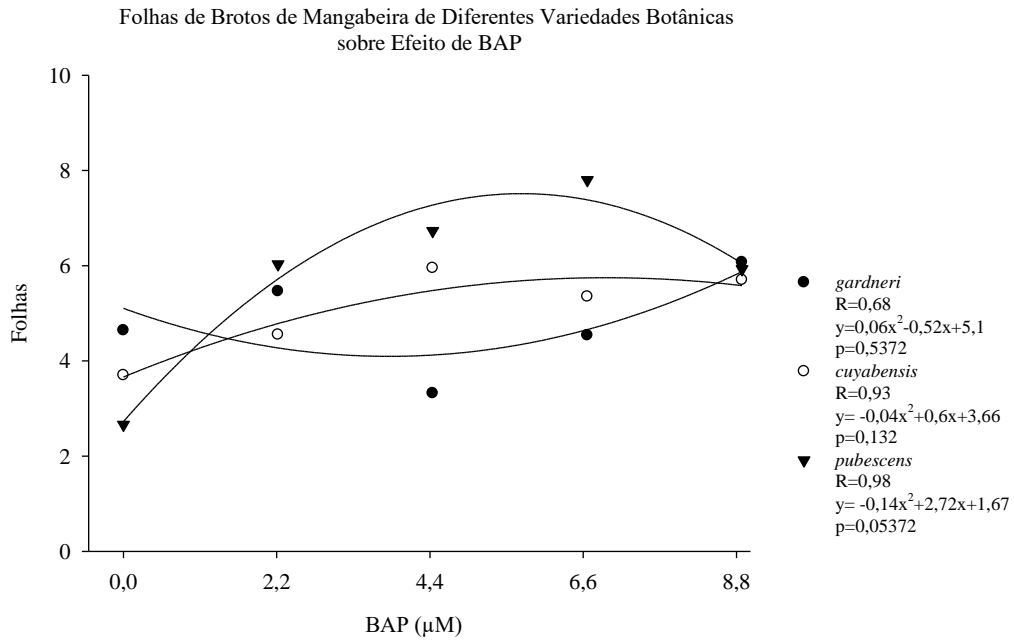


Figura 4.9. Regressões quadráticas da quantidade de folhas em brotações de mangabeira de diferentes variedades sob efeito de BAP.

Em relação à quantidade de folhas sob o uso de cinetina, a regressão foi significativa apenas para a var. *pubescens*, com valores crescentes conforme aumentos nas concentrações (Figura 4.10). A var. *gardneri* também apresentou resposta positiva, com maior quantidade de folhas na dose 9,20 μM de cinetina (Figura 4.10).

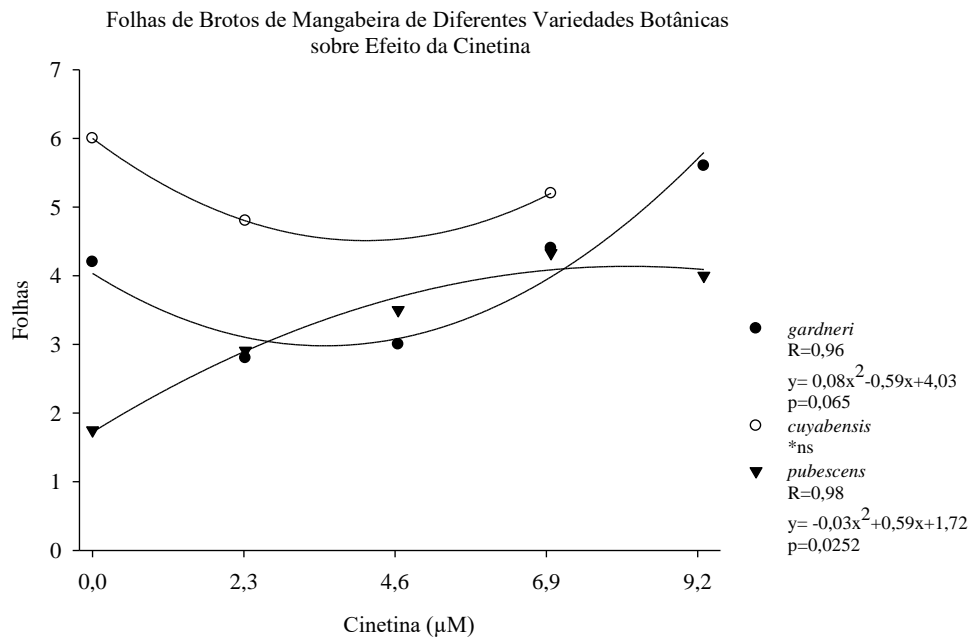


Figura 4.10. Regressões quadráticas da quantidade de folhas em brotações de mangabeira de diferentes variedades sob efeito da cinetina.

Quanto às as taxas de calogênese no uso de BAP, as regressões quadráticas não foram significativas para todas as variedades botânicas de mangabeira. Todavia, houve aumento nas taxas de maneira crescente e proporcional aos aumentos de BAP no meio (Figuras 4.11).

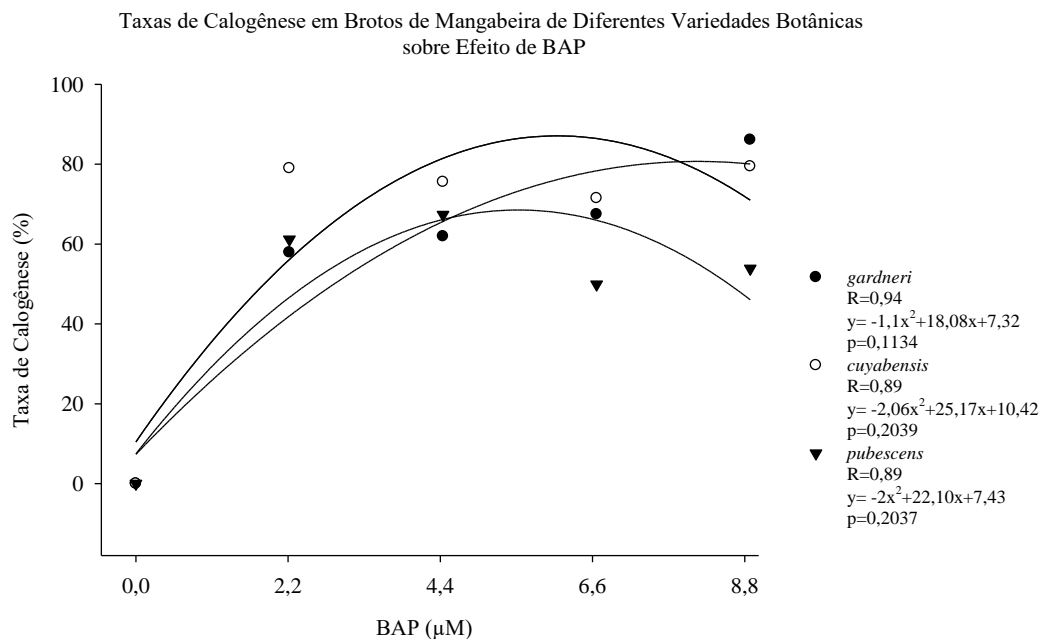


Figura 4.11. Regressões quadráticas das taxas de calogênese em brotações de mangabeira de diferentes variedades sob efeito de BAP.

Os diâmetros dos calos aumentaram conforme as crescentes doses de BAP (Figuras 4.12, 4.13, 4.14 e 4.15). A menor dose da citocinina no meio já foi suficiente para formar uma massa calosa na base da microestaca. A regressão foi significativa apenas para a var. *gardneri*, a qual também apresentou os maiores diâmetros de calos dentre as variedades (Figuras 4.12 e 4.13).

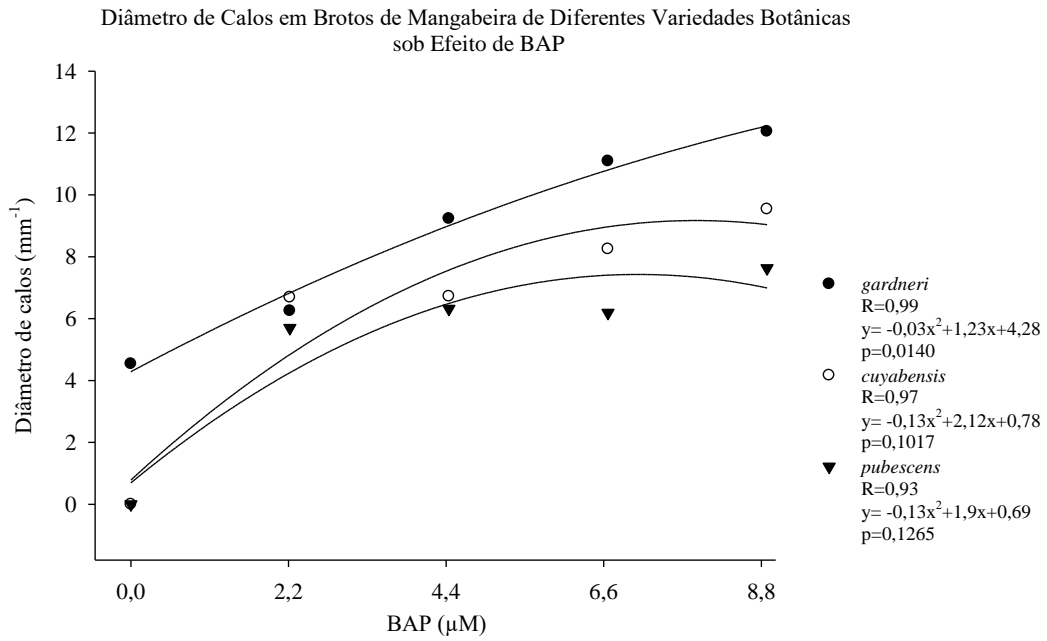


Figura 4.12. Regressões quadráticas do diâmetro de calos em brotações de mangabeira de diferentes variedades sob efeito de BAP.

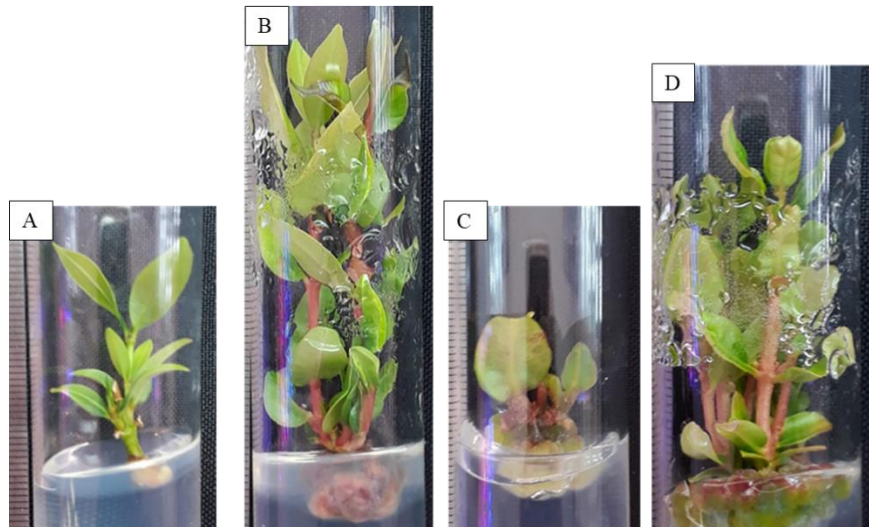


Figura 4.13. Dimensão de calos de *H. speciosa* var. *gardneri* com uso de doses de BAP. A= 2,2 μM, B= 4,4 μM, C= 6,6 μM e D=8,8 μM de BAP. Fonte: Belo, E. S.

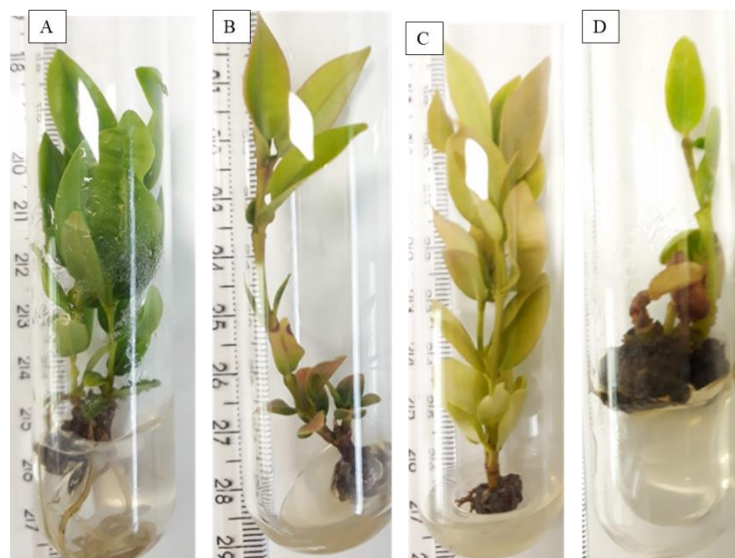


Figura 4.14. Dimensão de calos de *H. speciosa* var. *cuyabensis* com uso de doses de BAP. A= 2,2 μ M, B= 4,4 μ M, C= 6,6 μ M e D=8,8 μ M de BAP. Fonte: Belo, E. S.

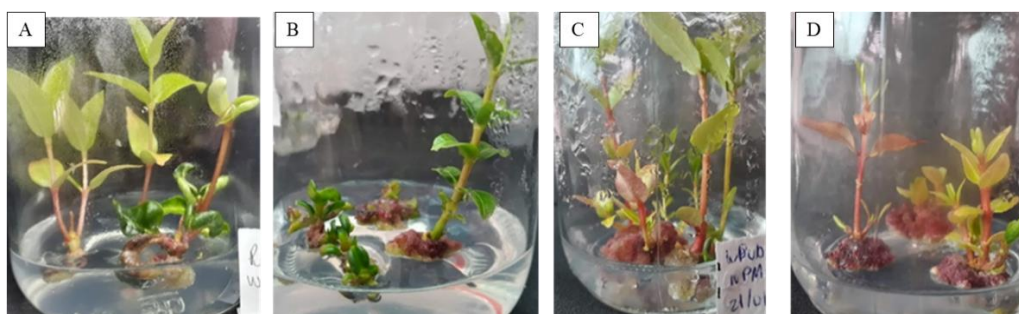


Figura 4.15. Dimensão de calos de *H. speciosa* var. *pubescens* com uso de doses de BAP. A= 2,2 μ M, B= 4,4 μ M, C= 6,6 μ M e D=8,8 μ M de BAP. Fonte: Belo, E. S.

Foi possível verificar a calogênese sob efeito da cinetina apenas para a var. *gardneri*. A regressão não foi significativa para taxa de calogênese e diâmetro de calos (Figuras 4.16 e 4.17). Para a var. *pubescens* não houve a formação de calos. Para a var. *cuyabensis* houve o intumescimento do segmento caulinar, hiperidricidade e alta mortalidade.

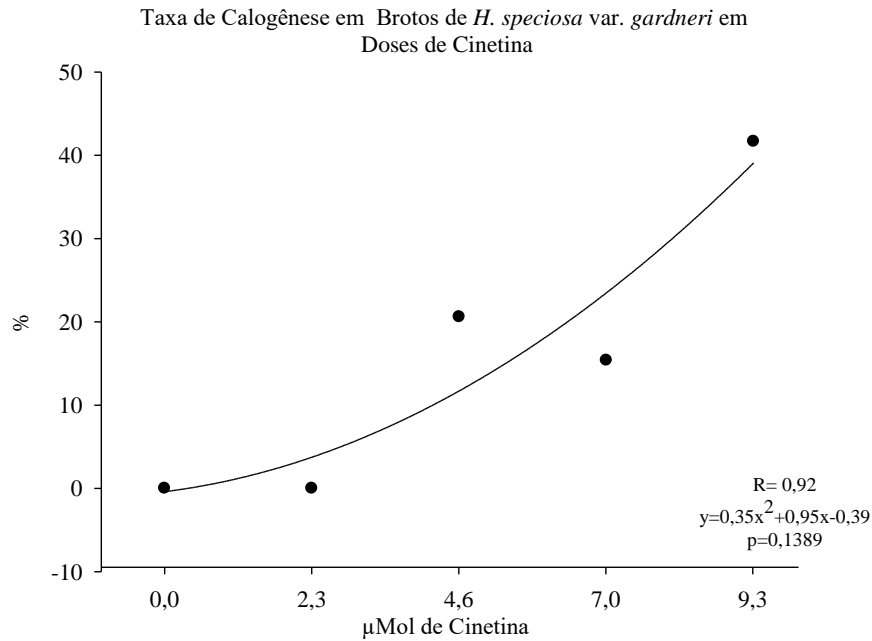


Figura 4.16: Regressão quadrática da taxa de calogênese em brotações de mangabeira *H. speciosa* var. *gardneri* em doses de cinetina.

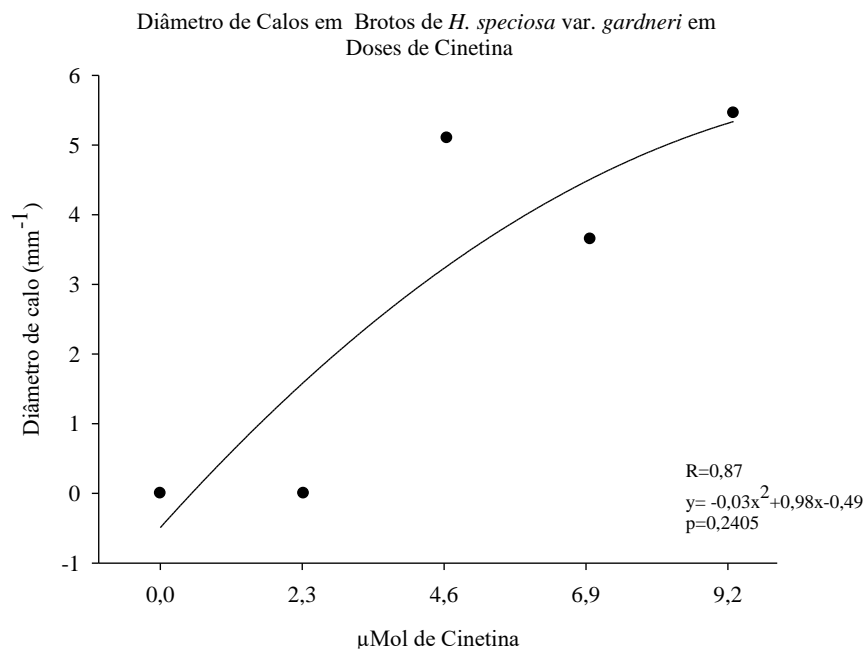


Figura 4.17: Regressão quadrática do diâmetro de calos em brotações de mangabeira *H. speciosa* var. *gardneri* em doses de cinetina.

A calogênese foi mais acentuada no uso de BAP. Considerando-se o efeito global das citonininas, foi possível observar que para a var. *gardneri*, o BAP apresentou maior efeito em formar calos, pois a média global do diâmetro de calos foi significativamente maior no uso de BAP em relação à média apresentada para cinetina (Figura 4.18).

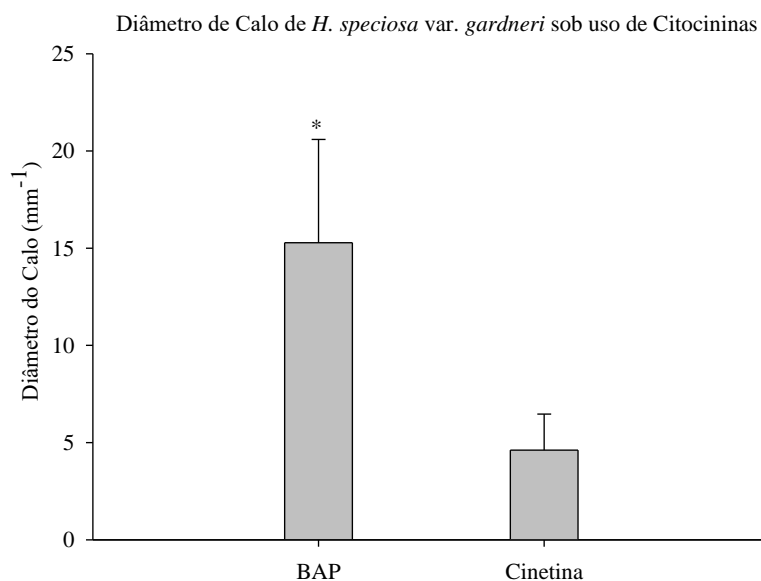


Figura 4.18. Médias do diâmetro de calos em brotações de mangabeira *H. speciosa* var. *gardneri* no uso de BAP e cinetina. *Valor significativo conforme teste F ao nível de 5% de probabilidade.

Em relação ao teste com os tipos de gemas utilizadas na brotação, o seguimento nodal com gemas laterais é indicado para brotação das variedades *cuyabensis* e *pubescens* (Figura 4.20). Os comprimentos de brotos foram significativamente maiores em relação às gemas apicais para as duas variedades (Figura 4.19).

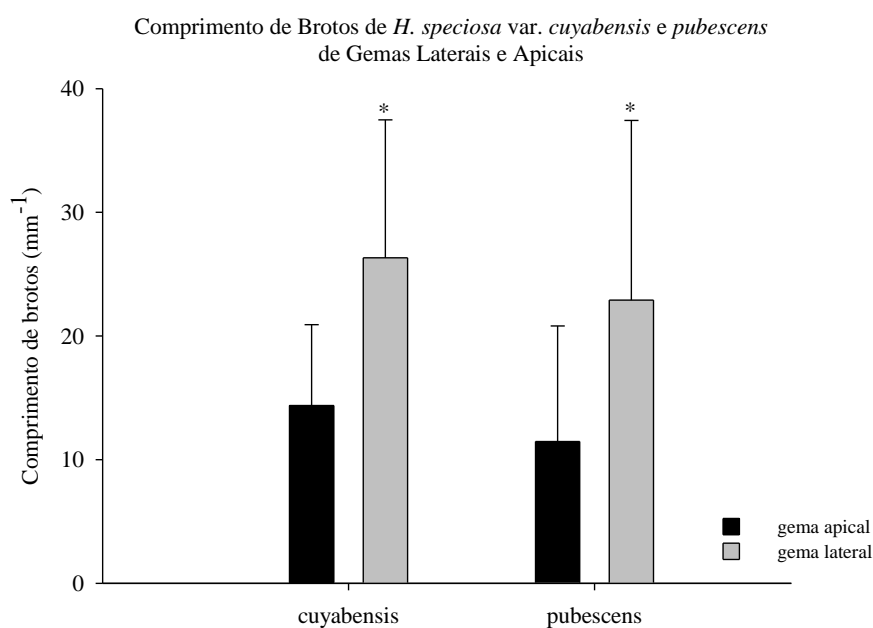


Figura 4.19: Comprimento de brotos de *H. speciosa* var. *cuyabensis* e var. *pubescens* com uso de 4,4 μ M de BAP. *Médias significativa na variedade botânica conforme o teste F ao nível de 5% de probabilidade.

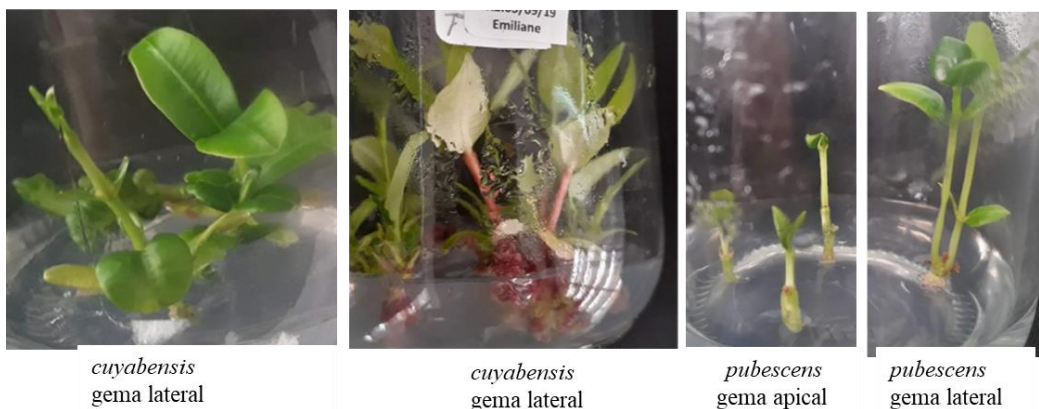


Figura 4.20. Brotações de gemas apicais e laterais de *H. speciosa* var. *cuyabensis* e *H. speciosa* var. *pubescens*. Fonte: Belo, E. S.

O uso associado de BAP e AIA na multiplicação de brotos foi possível apenas para as variedades *cuyabensis* e *pubescens* devido à alta mortalidade e oxidação na var. *gardneri*. As regressões quadráticas não foram significativas para comprimento de brotos (Figuras 4.21 e 4.23) e diâmetro de calos (Figuras 4.22 e 4.24) no uso de AIA junto ao BAP para var. *cuyabensis* e *pubescens*. Houve formação de uma massa calosa espessa que surgiam numerosos brotos curtos e de aspecto vítreo (Figuras 4.23 e 4.24).

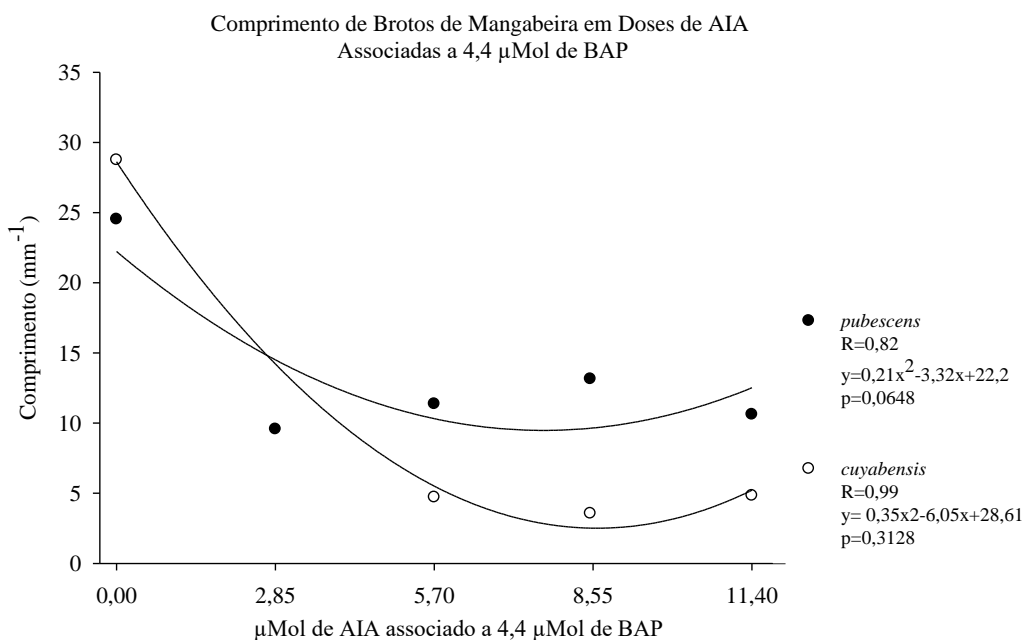


Figura 4.21. Regressões quadráticas do comprimento de brotos de mangabeira *H. speciosa* var. *cuyabensis* e *H. speciosa* var. *pubescens* em meio com 4,4 μM de BAP associado a doses de AIA (2,85, 5,7, 8,5 e 11,4 μM).

As maiores médias de diâmetro de calos para var. *pubescens* ocorreu em 2,85 μM e para var. *cuyabensis* ocorreu em 11,4 μM de AIA (Figuras 4.23 e 4.24).

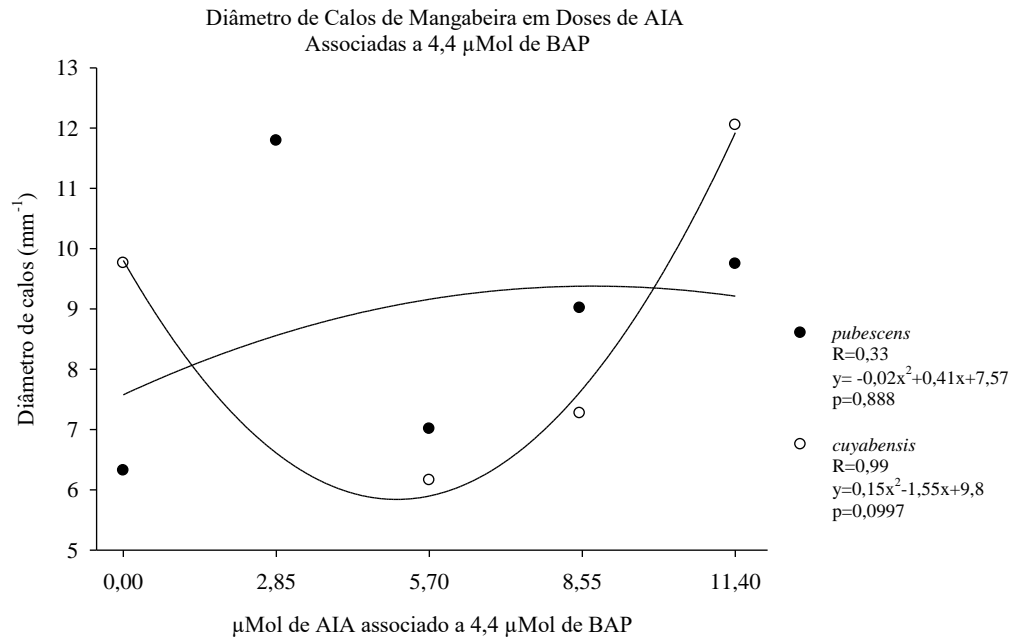


Figura 4.22. Regressões quadráticas do diâmetro de calos de mangabeira *H. speciosa* var. *cuyabensis* e *H. speciosa* var. *pubescens* em meio com 4,4 μM de BAP associado a doses de AIA (2,85, 5,7, 8,5 e 11,4 μM).

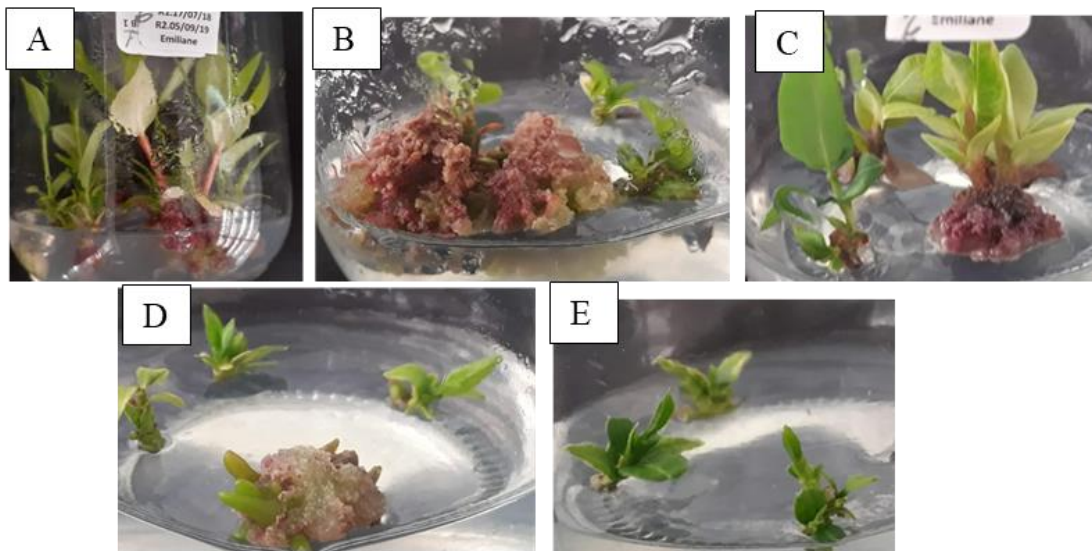


Figura 4.23. Brotações de *H. speciosa* var. *cuyabensis* em meio WPM com BAP 4,4 μM e doses de AIA. A= WPM + BAP 4,4 μM , B= BAP 4,4 μM + 2,85 μM de AIA, C= BAP 4,4 μM + 5,7 μM , D= BAP 4,4 μM + 8,53 μM , E= BAP 4,4 μM + 11,4 μM . Fonte: Belo, E. S.

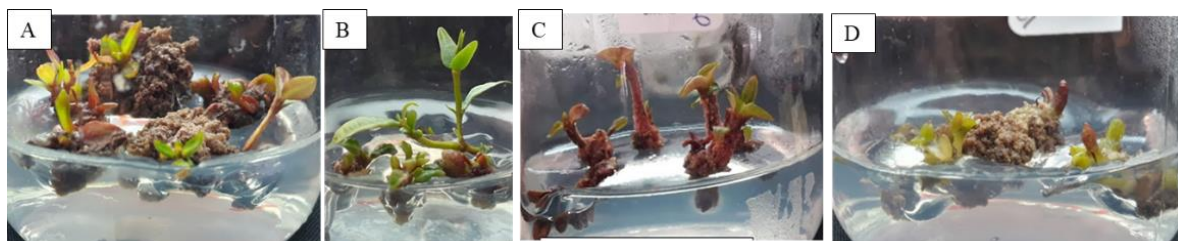


Figura 4.24. Brotações de *H. speciosa* var. *pubescens* em meio WPM com BAP 4,4 μM e doses de AIA. A= BAP 4,4 μM + 2,85 μM , B= 5,7 μM C= 8,53 μM D= 11,4 μM . Fonte: Belo, E. S.

4.6 DISCUSSÃO

A multiplicação de brotos direcionada ao melhoramento de espécies lenhosas e nativas tem sido bastante explorada. Para a mangabeira, os métodos de melhoramento genético recomendados são por seleção recorrente e plantios de diferentes clones gerados por propagação vegetativa (Chaves, 2018). Todavia, uma das dificuldades em ter-se clones são as diversas respostas das variedades botânicas da mangabeira na propagação vegetativa. A diversidade de respostas é enorme, em vista da amplitude de fluxo gênico populacional intrínseca da matriz adulta. Além disso, a grande maioria dos relatos de uso de fitorreguladores na propagação vegetativa da mangabeira não apontam a variedade botânica.

Alguns autores não recomendam qualquer citocinina para brotação e alongamento de brotos, como o relato de Oliveira et al. (2016). Todavia, obteve-se respostas positivas para a multiplicação de brotos com uso de BAP, para as três variedades botânicas deste estudo (Figuras 4.1, 4.2 e 4.3). Além disso, houve a formação de calos com grande potencial para embriogênese somática e multibrotação (Figuras 4.12, 4.13, 4.14 e 4.15).

Entretanto o relato de Soares et al. (2007; 2011) mostra que o uso de 2,00 mg.L^{-1} de BAP foi eficiente na formação de multibrotações em mangabeira, com melhor organogênese em segmentos caulinares. Tal dose representa 8,80 μM de BAP, que é uma concentração superior à 2,20 e 4,40 μM de BAP, das quais se obteve os maiores comprimentos de brotos nas variedades botânicas deste estudo.

Quanto ao uso de cinetina para mangabeira, Emrich et al. (2007) mostraram que a concentração de 4,00 mg.L^{-1} , o que representa cerca de 18,00 μM , promoveu maior taxa de multiplicação de brotações. Houve a formação de brotações com as doses de cinetina para as três variedades botânicas, mas tiveram maior comprimento no uso de BAP. Vale salientar que dentre as variedades sob doses de cinetina, aquela que apresentou a maior comprimento

de brotos foi a var. *gardneri* com uso de 9,20 μM (Figura 3.5). Além disso, a var. *cuyabensis* apresentou brotos anômalos, curtos e hiperhídricos.

Em outras espécies da família Apocynaceae, na qual a mangabeira é classificada, resultados como de Roy et al. (2022), obtiveram emergência de brotos em *Catharanthus roseus* com 0,20 mg.L^{-1} de BAP, 1,00 mg.L^{-1} de cinetina e 0,05 mg.L^{-1} de ANA. Neste caso houve uma ação sinérgica com três tipos de citocininas. Isto para algumas espécies é interessante, logo para outras, como *Aspidosperma polyneuron*, a brotação foi efetiva apenas no uso de 10,00 μM de BAP isoladamente, sem auxina e qualquer outra citocinina (Máximo et al. 2020). Para *Allamanda catartica*, houve aumento na brotação com o uso de cinetina 3,50 μM ou 2,50 μM de BAP (Khanam & Anis, 2018). Para *Eugenia involucrata* recomendaram o uso de 2,00 μM de ANA e dispensaram o uso de cinetina na multiplicação in vitro (Stefanel et al. 2022).

Seguimentos caulinares com gemas laterais das variedades *cuyabensis* e *pubescens* tiveram maior média de comprimento de brotos em comparação às gemas apicais (Figura 3.19). Por outro lado, Oliveira et al. (2019) concluíram que ápices caulinares na ausência de BAP apresentaram-se mais responsivos em relação à indução de brotações in vitro de mangabeira. O estabelecimento do tipo de explante é importante para formação de brotos longos e de aspectos normal, pois uma vantagem é que esses enraízam mais facilmente do que brotos curtos (Sano & Almeida, 1998). Neste caso, para as variedades botânicas de mangabeira deste estudo, seguimentos caulinares com gemas laterais são recomendados.

A associação de AIA e BAP já foi usada para multiplicação de brotos de mangabeira (Sá et al., 2012), em que utilizaram BAP 1,00 mg.L^{-1} e AIA 1,00 mg.L^{-1} . Na combinação de AIA e BAP para as variedades *cuyabensis* e *pubescens*, formou-se numerosos brotos, mas estes não foram viáveis para subcultivos, por serem curtos e recalcitrantes sobre uma massa calosa (Figuras 4.23 e 4.24). As concentrações de AIA usadas para *pubescens* e *cuyabensis* proporcionaram maior calogênese do que brotação. O maior comprimento de brotos ocorreu na ausência de AIA, tendo-se apenas BAP (4,40 μM) isoladamente (Figura 4.21). O AIA foi marcante na formação de calos, visto que com AIA junto ao BAP os calos tiveram maior diâmetro do que aqueles no uso apenas de BAP. Os maiores diâmetros de calos foram observados no uso de 2,85 μM para a var. *pubescens* e com 11,40 μM para a var. *cuyabensis* (Figura 4.22).

A interação com auxinas e citocininas foi discutida por Bastos et al. (2007), que verificaram que a combinação de 1,00 e 2,00 mg.L⁻¹ BAP e 0,50 mg.L⁻¹ AIA foi aquela que melhor proporcionou a formação de maior número e tamanho de brotações adventícias in vitro em segmentos internodais de mangabeira. A predominância de calos em doses de AIA associadas ao BAP pode ser interessante para a embriogênese somática.

Prudente et al. (2016) observaram que a combinação entre o conteúdo de fitormônios endógenos no seguimento caulinar de *H. speciosa* com a adição de 7,38 µM 2,4-D ao meio de cultura estimulou a divisão celular de regiões do parênquima, estimulando a desdiferenciação celular para formar calos. A alta razão de auxina e citocinina estimula a formação de brotos, das quais raízes são formadas quando essa razão é baixa (Hnatuszko-Konka et al., 2021). Ambos os fitormônios exercem controle inibitório bidirecional sobre cada via de sinalização em órgãos como raízes e brotos. Esse mútuo controle inibitório é assimétrico e permite ambas as ações antagonistas e aditivas.

Dentre as várias funções das auxinas, está a divisão celular e alongamento, iniciação de raízes laterais, dominância apical e respostas a tropismos e diferenciação de tecido vascular (Aloni et al., 2006; Konstantinova et al., 2021). A biossíntese, conjugação e desconjugação, degradação e transporte gera um gradiente diferencial em tecidos e células (Casanova-Sáez et al., 2021; Ljung, 2013). Esta distribuição diferencial lidera a uma regulação coordenada para desenvolvimento da planta (Mishra et al., 2021). Citocininas e auxinas agem antagonistamente em concentrações baixas e médias e somente em altas concentrações tem ação aditiva (Kurepa et al., 2019).

Brotos curtos e em maior quantidade podem ser interessantes para a organogênese indireta. Para as variedades de mangabeira, a ocorrência de calos na interação AIA e BAP já foi descrita anteriormente (Soares et al., 2007). O uso de BAP isoladamente também induziu a formação de calos (Figura 4.12). Oliveira et al. (2016) observaram maior porcentagem de formação de calos com o acréscimo nas concentrações de BAP. Para *Mandevilla guanabara* (Apocynaceae), uma espécie endêmica do Brasil, houve 100% de calogênese na base das microestacas com uso das citocininas BAP e zeatina, 2-IP e TDZ (Cordeiro et al. 2014). Para as variedades de mangabeira, as taxas de calogênese chegaram a 80% para var. *gardneri* (Figura 4.11).

Os calos induzidos por auxinas e citocininas são amplamente usados na biotecnologia em diversas formas. Eles são formados pelo fenômeno de desdiferenciação de células, ocorrente em tecidos vegetais, que a torna capaz de regenerar tecidos ou até mesmo

a planta inteira. A dediferenciação é a transformação de células de um determinado estado diferenciado para um estado menos diferenciado. Neste processo, as células readquirem a totipotência, também manifestada pela transição de células dediferenciadas para protoplastos (Jamet et al., 1990; Zhao et al., 2001) com características como a dedensação da cromatina (Tessadori et al., 2007; Ondrej et al., 2010).

Auxinas e citocininas induzem protoplastos a reentrar no ciclo celular, proliferar e formar calos (Grafí, 2004; Muraro et al., 2011). A dediferenciação é um complexo processo relacionado a expressão e regulação de genes específicos. Diversas linhas de evidências sugerem a hipótese que genes relacionados a meristemas apicais estão envolvidos na diferenciação celular. Essa expressão não é somente regulada por fatores de transcrição, mas também por eventos epigenéticos como modificação das histonas e metilação de DNA (Jiang et al., 2015).

Não foi determinado o tipo de calo formado na base das brotações neste estudo. Existem calos embriogênicos, estes por sua vez, contêm células diferenciadas e embriogenicamente competentes, que regeneram plantas inteiras. Calos não embriogênicos contêm células homogêneas dediferenciadas, as quais são usadas para produção de metabólitos secundários. Células de calos são similares a células meristemáticas não diferenciadas, com vacúolos pequenos e sem cloroplastos para fotossíntese, dentre outras características (Efferth, 2019).

Os resultados obtidos neste estudo, com o uso de citocininas e auxinas para as variedades de mangabeira, podem ser direcionados para diferentes fins biotecnológicos ou estratégias de conservação. Seja para a produção de clones, metabólitos a partir da massa calosa ou suspensão de células como no trabalho de Dantas et al. (2021) ou para calos embriogênicos, como visto por Royani et al. (2023) em *Hevea brasiliensis* e Silva et al. (2018) em *Byrsonima intermedia*.

As diferenças de desenvolvimento de brotações encontradas nesse estudo estão correlacionadas com estudos de diversidade genética das plantas da coleção de germoplasma. Eles mostram que a diversidade genética foi conservada na progênie das variedades (Collevati et al., 2016). Muitas publicações com mangabeira da região Nordeste brasileira foram realizadas com a mangabeira da variedade *speciosa*, de comum ocorrência local e não relatam dificuldades quanto à micropropagação. Esta variedade é a que mais se difere em relação à fenologia, produtividade e genética em relação às demais variedades,

como as descritas neste trabalho. Collevatti et al., (2018) mostraram que a *speciosa* assemelha mais com a var. *gardneri* do que as demais variedades de ocorrência no Cerrado.

A elucidação das diferentes respostas aos fitorreguladores para as variedades botânicas de mangabeira é importante para ter-se protocolos de micropropagação de maior eficiência. A observação das respostas frente às citocininas é interessante para obtenção de clones como forma de estratégia de resgate de recursos genéticos de populações naturais ou mesmo para produção de clones. Mesmo que haja fluxo gênico desconhecido, percebe-se que as características das matrizes da coleção de germoplasma da UFG foram conservadas nas progênies.

4.7 CONCLUSÕES

O BAP é a melhor citocinina para multiplicação de brotos para todas as variedades de mangabeira. A associação de 4,40 μM de BAP com qualquer dose de AIA testada favorece a formação de calos. As maiores brotações se formam nas doses 4,40 μM de BAP para var. *gardneri*, 4,40 a 6,60 μM para a var. *cuyabensis* e 2,30 μM para a var. *pubescens*. Seguimentos nodais com gemas laterais são recomendados para multiplicação de brotos para as variedades *cuyabensis* e *pubescens*.

4.8 REFERÊNCIAS

ALMEIDA, G. Q.; CHAVES, L. J.; VIEIRA, M. C.; GANGA, R. D. Agronomic evaluation of a *Hancornia speciosa* Gomes germplasm collection from the Brazilian Cerrado. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Viçosa, v. 19, p. 8-14, 2019.

ALONI, R.; ALONI, E.; LANGHANS, M.; ULLRICH, C. I. Role of cytokinin and auxin in shaping root architecture: regulating vascular differentiation, lateral root initiation, root apical dominance and root gravitropism. **Annals of Botany**, Oxford University Press, v. 97, n. 5, p. 883–893, 2006.

ARRUDA, A. S.; FARIA, R. Q.; MOREIRA, A. S. F. P.; FLORIANO, J. F.; GRAEFF, C. F. O.; GONÇALVES, P. J.; ALMEIDA, L. M. Avaliação da produção de látex em mangabeiras do cerrado goiano. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 26, p. 939- 948, 2016.

AUGÉ, R.; BEUCHESNE, G.; BOCCON-GIBOD, J.; DECOURTYE, L.; DIGAT, B.; GALANDRIN, J. C. L.; MINIER, R.; MORAND, J. C. L.; VIDALIE, H. **La Culture in vitro et ses Applications Horticoles**, Lavoisier, Paris, 1984, 151p.

BASTOS, L. P.; CARVALHO COSTA, M. A. P.; SOUZA HANSEN, D.; MOREIRA, M. J. S.; ROCHA, M. A. C.; SILVA, S.; SILVA SOUSA, C. Cultivo in vitro de Mangabeira (*Hancornia speciosa*). **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 5, p. 1122-1124, 2007.

BELO, A. P. M.; VIEIRA, M. C.; GUIMARÃES, H. O.; OLIVEIRA, T. C.; MASCARENHAS, Y. S.; SOUZA, E. R. B. Taxas de sobrevivência e contaminação de segmentos nodais de três variedades de *Hancornia speciosa* em diferentes concentrações de hipoclorito de sódio e tempos de imersão. **Scientific Electronic Archives**, Rondonópolis, v. 11, n. 2, p. 48-57, 2018.

CABRAL, J. S. R. **Otimização de Parâmetros Físico-Químicos e Microbiológicos no Estabelecimento in Vitro de Explantes de Mangabeira (*Hancornia Speciosa* Gomes) e na sua Promoção do Crescimento**. Dissertação de Mestrado. Orientador: Prof. Dr. Edson Luiz Souchie. Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias, Instituto Federal de Ciência e Tecnologia Goiano, Campus Rio Verde, 2012. 155p.

CALDAS, L. S.; MACHADO, L. L.; CALDAS, S. C.; CAMPOS, M. L.; CALDAS, J. A.; PHARIS, R. P.; PEREIRA-NETTO, A. B. Growth-active gibberellins overcome the very slow shoot growth of *Hancornia speciosa*, an important fruit tree from the Brazilian “Cerrado”. **Trees**, Oxford, v. 23, p. 1229–1235, 2009.

CASANOVA-SÁEZ, R.; MATEO-BONMATÍ, E.; LJUNG, K. Auxin metabolism in plants. **Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine**, United States, v. 13, n. 3, p. a039867, 2021.

COLLEVATTI, R. G.; OLIVATTI, A. M.; TELLES, M. P. C.; CHAVES, L. J. Gene flow among *Hancornia speciosa* (Apocynaceae) varieties and hybrid fitness. **Tree Genetics and Genomes**, Springer Nature, v. 12, p. 74-85, 2016.

COLLEVATTI, R. G.; RODRIGUES, E. E.; VITORINO, L. C.; LIMA-RIBEIRO, M. S.; CHAVES, L. J.; TELLES, M. P. C. Unravelling the genetic differentiation among varieties of the Neotropical savanna tree *Hancornia speciosa* Gomes. **Annals of Botany**, Oxford, v. 122, p. 973-984, 2018.

CORDEIRO, S. Z.; SIMAS, N. K.; HENRIQUES, A. B.; SATO, A. Micropropagation and callogenesis in *Mandevilla guanabara* (Apocynaceae), an endemic plant from Brazil. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Viçosa, v. 14, p. 108-115, 2014.

DANTAS, L. A.; FARIA, P. S. A.; DÁRIO, B. M. M.; ARANTES, A. L. M.; SILVA, F. G.; AVILA, R. G.; PEREIRA, P. S.; NETO, A. R. The impact of carbon source on cell growth and the production of bioactive compounds in cell suspensions of *Hancornia speciosa* Gomes. **Nature Reports**, Springer Nature, v. 11, p. 24315, 2021.

DIAS, A. O.; MELO NETO, P. R.; MAGALHÃES, A. P.; COSTA NETO, S. V.; MIRANDA, Z. P. Morphometric characterization of fruits and seeds and morphological aspects of mangaba (*Hancornia speciosa* Gomes) germination and seedlings native to the savanna in Amapá state. **Research, Society and Development**, Vargem Grande Paulista, v. 10, n. 13, p. e193101321176, 2021.

EFFERTH, T. Biotechnology applications of plant callus cultures. **Engineering**, Bangkok, v. 5, n. 1, p. 50-59, 2019.

EMRICH, E. B.; PAIVA, R.; PEREIRA, S. F.; CORRÊA, S. D. P.; STEIN, V. C.; FIGUEIREDO, M. A. Efeito de diferentes concentrações de AIB na multiplicação in vitro de *Hancornia speciosa* Gomes. In: 6º CONGRESSO BRASILEIRO DE FLORICULTURA E PLANTAS ORNAMENTAIS/3º CONGRESSO BRASILEIRO DE CULTURA DE TECIDOS DE PLANTAS/1º SIMPÓSIO DE PLANTAS ORNAMENTAIS NATIVAS, 6., 2007, Goiânia. **Suplemento** [...] Goiânia, SBCTP, v. 13, p. 873-876, 2007.

ERIG, A. C.; SCHUCH, M. W. Micropropagação fotoautotrófica e uso da luz natural. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 35, n. 4, p. 961-965, 2005.

GANGA, R. M. D.; CHAVES, L. J.; NAVES, R. V. Parametros genéticos em progênies de *Hancornia speciosa* Gomes do Cerrado. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, v. 37, p. 395- 404, 2009.

GANGA, R. M. D.; FERREIRA, G. A.; CHAVES, L. J.; NAVES, R. V.; NASCIMENTO, J. L. Caracterização de frutos e árvores de populações naturais de *Hancornia speciosa* Gomes do Cerrado. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 32, p. 101-113, 2010.

GRAFI, G. How cells dedifferentiate: a lesson from plants. **Developmental Biology**, Rockville, v. 268, n. 1, p. 1-6, 2004.

HNATUSZKO-KONKA, K.; GERSZBERG, A.; WEREMCZUK-JEŻYNA, I.; GRZEGORCZYK-KAROLAK, I. Cytokinin Signaling and de Novo Shoot Organogenesis. **Genes**, Basel, v.12, n.2, 265, 2021.

JAMET, E.; DURR, A.; PARMENTIER, Y.; CRIQUI, M. C.; FLECK, J. Is ubiquitin involved in the dedifferentiation of higher plant cells? **Cell differentiation and development**, Elsevier, v. 29, n. 1, p. 37-46, 1990.

JIANG, F.; XU, X.; LIU, H.; ZHU, J. DRM1 and DRM2 are involved in *Arabidopsis callus* formation. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Springer Nature Switzerland, v. 123, p. 221-228, 2015.

KHANAM, M. N.; ANIS, M. Organogenesis and efficient in vitro plantlet regeneration from nodal segments of *Allamanda cathartica* L. using TDZ and ultrasound assisted extraction of quercetin. **Plant Cell Tissue Organ Culture**, Springer Nature Switzerland, v. 134, p. 241–250, 2018.

KONSTANTINOVA, N.; KORBEI, B.; LUSCHNIG C. Auxin and Root Gravitropism: Addressing Basic Cellular Processes by Exploiting a Defined Growth Response. **International Journal of Molecular Sciences**, Basel, v. 22, n. 5, p. 2749, 2021.

KUREPA, J.; SMALLE, J. A. Trans-Cinnamic Acid-Induced Leaf Expansion Involves an Auxin-Independent Component. **Communicative and Integrative Biology**, London, v. 12, p. 82-85, 2019.

LÉDO, A. S.; SÁ, A. J.; SANTOS, M. C.; SILVA JUNIOR, J. F.; MUNIZ, A. V. C. S. Protocolo para conservação *in vitro* por crescimento lento de mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes). Embrapa Tabuleiros Costeiros, **Comunicado Técnico 115**, Aracaju, 2011.

LIMA, I. L. P.; SCARIOT, A. **Boas práticas de manejo para o extrativismo sustentável da Mangaba**. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, 2010. 68 p.

LJUNG, K. Auxin metabolism and homeostasis during plant development. **Development**, *Histon*, v. 140, n. 5, p. 943–950, 2013.

LLOYD, G.; McCOWN, B. Commercially-feasible micropropagation of Mountain laurel, *Kalmia latifolia*, by use of shoot tip culture. **International Plant Propagation Society Proceedings**, Carlisle, v. 30, n. 1, p. 421-427, 1980.

MALYSZ, M.; CADORE, D.; TIBOLA, E.; LEONTIEV-ORLOV, O.; CANSIAN, R. L.; MOSSI, A. J. M. Desinfestação e Micropropagação de *Eucalyptus dunnii* MAIDEN. **Perspectiva**, Erechim. v. 35, n. 131, p. 69-77, 2011.

MARINHO, D. G.; ALVIANO, D. S.; MATHEUS, M. E.; ALVIANO, C. S.; FERNANDES, P. D. The latex obtained from *Hancornia speciosa* Gomes possesses anti-inflammatory activity. **Journal of Ethnopharmacology**, County Clare, v. 135, n. 2, p. 530-537, 2011.

MÁXIMO, W. P. F.; SANTOS, B. R.; MATINS, J. P. R.; BEIJO, L. A.; BARBOSA, S. Multiplication and in vitro rooting of *Handroanthus impetiginosus* (Mart. Ex DC.) Mattos. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 30, n. 3, p. 658-668, 2020.

MISHRA, B. S.; SHARMA, M.; LAXMI, A. Role of sugar and auxin crosstalk in plant growth and development. **Physiologia Plantarum**, Lund, v.174, n.1, e13546, 2022.

MURARO, D.; BYRNE, H.; KING, J.; VOß, U.; KIEBER, J.; BENNETT, M. The influence of cytokinin–auxin cross-regulation on cell-fate determination in *Arabidopsis thaliana* root development. **Journal of Theoretical Biology**, Elsevier, v. 283, n.1, p.152-167, 2011.

OLIVEIRA, K. S.; ALOUFA, M. A. I. Slow Growth In Vitro Culture for Conservation of *Hancornia Speciosa* Gomes. **Revista Floresta**, Curitiba, v. 52, n. 1, p. 7-16, 2022.

OLIVEIRA, K. S.; FREIRE, F. A. M.; ALOUFA, M. A. I. Efeito de 6-benzilaminopurina e ácido naftalenoacético sobre a propagação in vitro de *Hancornia speciosa*. **Revista Floresta**, Curitiba, v. 46, n. 3, p. 335-342, 2016.

OLIVEIRA, K. S.; FREIRE, F. A. M.; ALOUFA, M. A. I. Influência de reguladores de crescimento e do tipo de explante na morfogênese in vitro de *Hancornia speciosa* Gomes. **Revista Desafios**, Palmas, v. 6, n. 4, 2019.

ONDREJ, V.; NAVRÁTILOVÁ, B.; PROTIVÁNKOVÁ, I.; PITERKOVÁ, J.; SEDLÁŘOVÁ, M.; LUHOVÁ, L.; LEBEDA, A. Recondensation level of repetitive sequences in the plant protoplast nucleus is limited by oxidative stress. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 61, n. 9, p. 2395-2401, 2010.

PEREIRA, A. B. D.; VERÍSSIMO, T. M.; OLIVEIRA, M. A.; ARAÚJO, I. A.; ALVES, R. J.; BRAGA, F. C. Development and validation of an HPLC-DAD method for quantification of bornesitol in extracts from *Hancornia speciosa* leaves after derivatization with p-toluenesulfonyl chloride. **Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences**, Elsevier, v. 1, n. 7, p. 887-888, 2012.

PEREIRA-NETTO, A. B. Effect of inhibitors of ethylene biosynthesis and signal transduction pathway on the multiplication of in vitro-grown *Hancornia speciosa*. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Springer Nature, v. 66, n. 1-7, 2001.

PIRES, D. C. M.; ASMAR, S. A.; LUZ, J. M. Q.; PASQUAL, M.; REZENDE, R. A. L. S.; DORIA, J. “In vitro” conservation of mangaba (*Hancornia speciosa* Gomes): An important fruit tree of Brazilian Cerrado. **Australian Journal of Crop Science**, Queensland, v. 16, n. 9, p. 1084–1093, 2022.

PRUDENTE, D. O.; PAIVA, R.; NERY, F. C.; MÁXIMO, W. P. F.; SILVA, L. C. Indirect in vitro organogenesis of *Hancornia speciosa* Gomes. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 32, n. 3, p. 721-729, 2016.

R CORE TEAM (2020). *R: A Language and Environment for Statistical Computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <<https://www.R-project.org/>>.

REFLORA. *Hancornia in: Flora e Funga do Brasil*. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <https://reflora.jbrj.gov.br/reflora/herbarioVirtual/> Acesso em: 09 fev. 2023.

ROY, A.; MONDAL, T.; BANERJEE, N. Micropropagation and apical cell morphology study of flowerless plant of *Catharanthus roseus* (L.) G. Don. **International Journal of Botany Studies**, Delhi, v. 7, n. 5, p. 95-100, 2022.

ROYANI, J. I.; KHAIARIYAH, H.; MIRA, F. R.; WATANABE, N. The effect of callus induction media for somatic embryo formation in *Hevea brasiliensis* Muell. Arg. In: 2º AGRIFOOD SYSTEM INTERNATIONAL CONFERENCE, 2022, Pandang. **Anais eletrônicos** [...]. Pandang, Andalas Universitas, 2022. Disponível em <https://iopscience.iop.org/article/10.1088/1755-1315/1160/1/012007/pdf>. Acesso em 07 de fevereiro de 2024.

SÁ, A. J.; LÉDO, A. S.; LÉDO, C. A. S.; PASQUAL, M.; SILVA, A. V. C.; SILVA JUNIOR, J. F. Tipo de vedação e explantes na micropropagação de mangabeira. **Ciência e Agrotecnologia de Lavras**, Lavras, v. 36, n. 4, p. 406-414, 2012.

SANO, S. M.; ALMEIDA, S. P. (Ed.) **Cerrado: ambiente e flora**. Planaltina: EMBRAPA-CPAC, 1998. 556 p.

SANTOS, M. C.; LÉDO, A. S.; LÉDO, C. A. S.; SOUZA, F. V. D.; SILVA JÚNIOR, J. F. Efeito da sacarose e do sorbitol na conservação *in vitro* de segmentos nodais de mangabeira. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 42, n. 3, p. 735-741, 2011.

SARTOR, F. R.; MORAES, A. M.; ALMEIDA, F. D. A. C. Técnicas para criopreservação de gemas de mangabeira. **Revista Agrotecnologia**, Anápolis, v. 3, n.1, p. 31-39, 2012.

SHEN, X. S.; MULLINS, M. G. Propagation in vitro of pear, *Pyrus communis* L., cultivars William's Bon chrétion, Packham's Triumph and Beurré Bosc. **Scientia Horticulturae**, Elsevier, v. 23, p. 51-57, 1984.

SILVA, D. P.; PAIVA, R.; HERRERA, R. C.; SILVA, L. C.; FERREIRA, G. N.; RIS, M. V. Somatic embryogenesis of *Byrsonima intermedia* A. Juss.: induction and maturation via indirect approach. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Springer Nature on line, v. 133, p. 115–122, 2018.

SILVA, M. E. C. S.; MARQUES, E. B.; BRANDÃO, G. E. C.; CARDOSO, C. M.; GOMES, D. V. V.; PEREIRA, B. A.; FARIAS, H. K. A.; VASCONCELOS, F. A. C.; dos SANTOS, O. L. S.; SANTOS, D. R. *Hancornia speciosa* Gomes: caracterização química, compostos bioativos e atividade antioxidante. **Brazilian Journal of Development**, Curitiba, v. 8, n. 3, p. 16439-14452, 2022.

SILVA-JUNIOR, J. F. Banco de germoplasma de mangaba: Embrapa Tabuleiros Costeiros. In: PADUA, J. G.; ALBUQUERQUE, M. do S. M.; MELLO, S. C. M. de (ed.). **Bancos e coleções de germoplasma da Embrapa: conservação e uso**. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2020. p. 75.

SILVA-JUNIOR, J. F.; MUNIZ, A. V. C. S.; FERREIRA, E. G.; MOTA, D. M.; ALVES, R. E.; LEMOS, E. E. P. *Hancornia speciosa* – Mangaba. In: **Espécies nativas da flora brasileira de valor econômico atual ou potencial: plantas para o futuro: região Nordeste**. In: CORADIN, L.; CAMILLO, J.; PAREYN, F. G. C. (Eds.). Ministério do Meio Ambiente, Secretaria de Biodiversidade, p. 177-192, 2018.

SOARES, F. P.; PAIVA, R.; ALVARENGA, A. A. D.; NERY, F. C.; VARGAS, D. P.; SILVA, D. R. G. Taxa de multiplicação e efeito residual de diferentes fontes de citocinina no cultivo in vitro de *Hancornia speciosa* Gomes. **Ciência e Agrotecnologia de Lavras**, Lavras, v. 35, p. 152-157, 2011.

SOARES, F. P.; PAIVA, R.; ALVARENGA, A. A. D.; NOGUEIRA, R. C.; EMRICH, E. B.; MARTINOTTO, C. Organogênese direta em explantes caulinares de mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes). **Ciência e Agrotecnologia de Lavras**, Lavras, v. 31, p. 1048-1053, 2007.

SOUSA, S. C.; MOREIRA, M. J. S.; BASTOS, L. P.; CARVALHO, M. A. P. C.; ROCHA, M. A. C.; HANSEN, D. S. Germinação e Indução de Brotações in vitro utilizando diferentes reguladores vegetais em Mangabeira (*Hancornia speciosa*). **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, n. 5, 276-278, 2007.

STEFANEL, C. M.; REINIGER, L. R. S.; SERROTE, C. M. L.; ZIEGLER, A. C. F. Ácido naftalenoacético e cinetina na multiplicação in vitro de *Eugenia involucrata*. **Pesquisa Florestal Brasileira**, Colombo, v. 42, v. 42, e201902079, p. 1-5, 2022.

TESSADORI, F.; CHUPEAU, M. C.; CHUPEAU, Y.; KNIP, M.; GERMANN, S.; VAN sreassembly of pericentromeric heterochromatin in dedifferentiated *Arabidopsis* cells. **Journal of cell science**, London, v. 120, n. 7, p. 1200-1208, 2007.

VIEIRA, M. C.; OLIVIERA, R. M.; FRANÇA, J. B. A.; OLIVEIRA, C. C. P.; SOUZA, E. R. B. In vitro morphogenesis of different mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes) varieties

from the savanna of the Goiás. **Scientific Electronic Archives**, Rondonópolis, v. 11, n. 5, 2018.

ZHAO, J.; MOROZOVA, N.; WILLIAMS, L.; LIBS, L.; AVIVI, Y.; GRAFI, G. Two phases of chromatin decondensation during dedifferentiation of plant cells: distinction between competence for cell fate switch and a commitment for S phase. **Journal of Biological Chemistry**, Rockville, v. 276, n. 25, p. 22772–22778, 2001.

CAPÍTULO 4

ENRAIZAMENTO E ACLIMATIZAÇÃO DE VARIEDADES BOTÂNICAS DE MANGABEIRA (*Hancornia speciosa* Gomes)¹

Emiliane dos Santos Belo²; Sérgio Tadeu Sibov³

¹ Capítulo elaborado como artigo para a revista Pesquisa Agropecuária Tropical - (e-ISSN 1983-4063)

² Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas - UFG

5. ENRAIZAMENTO E ACLIMATIZAÇÃO DE VARIEDADES BOTÂNICAS DE MANGABEIRA (*Hancornia speciosa* Gomes)

5.1 RESUMO

Hancornia speciosa Gomes é uma fruteira nativa, conhecida como mangabeira, de ocorrência em todas as regiões do Brasil. Um dos obstáculos na micropropagação da mangabeira é a baixa taxa de enraizamento, com no máximo 30% de sucesso. De acordo com estudos sobre a história filogeográfica da mangabeira, é esperado que haja respostas diferenciadas para cada variedade em experimentação de enraizamento e aclimatização. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de auxinas no enraizamento e testar diferentes substratos para aclimatização de mangabeira de diferentes variedades. O enraizamento foi realizado utilizando-se brotos de plantas in vitro, das variedades *gardneri*, *cuyabensis* e *pubescens*. Para os ensaios de enraizamento, utilizou-se o meio WPM com as auxinas ácido indol-butírico (AIB): 4,92, 9,84, 19,68 e 39,36 μM , ácido naftaleno-acético (ANA): 21,48, 32,22 e 42,96 μM e AIB e ANA associados nas doses: 2 mg.L^{-1} - (AIB 4,92 μM + ANA 5,37 μM); 4 mg.L^{-1} - (AIB 9,84 μM + ANA 10,74 μM), 6 mg.L^{-1} - (AIB 14,7 μM + ANA 16,11 μM), 8 mg.L^{-1} - (AIB 19,6 μM + ANA 21,4 μM), e meio WPM como tratamento controle. A aclimatização das plantas foi testada em duas formulações de substratos: areia lavada e vermiculita (1:1) e substrato composto. Para as variedades botânicas de mangabeira *gardneri* e *cuyabensis* o melhor enraizamento ocorre em meio WPM sem auxinas e para a var. *pubescens*, ocorre com 8 mg.L^{-1} (AIB 19,6 μM + ANA 21,4 μM). A calogênese é estimulada na presença de AIB e ANA associadas ou não. A aclimatização com areia e vermiculita 1:1 é indicada para maior sobrevivência das variedades *gardneri* e *pubescens*. Para a *cuyabensis* o substrato recomendado é o composto.

Palavras-chave: propagação, variedades botânicas, auxinas, aclimatização.

5.2 ABSTRACT

Hancornia speciosa Gomes is a native fruit tree, known as mangabeira, found in all regions of Brazil. One of the obstacles in mangabeira micropropagation is a low rooting rate, with a maximum of 30% success. According to studies on the phylogeographic history of the mangabeira, it is expected that there will be different responses for each variety in rooting and acclimatization experiments. The objective of this work was to evaluate the effect of auxins on rooting and test different substrates for acclimatization of mangabeira of different varieties. Rooting was carried out using in vitro plant production, of the *gardneri*, *cuyabensis* and *pubescens* varieties. For the rooting tests, the WPM medium was used with the auxins IBA (indole-butyric acid): 4.92, 9.84, 19.68 and 39.36 μM , NAA (naphthalene-acetic acid): 21, 48, 32.22 and 42.96 μM and IBA and NAA associated at doses: : 2 mg.L^{-1} - (IBA 4,92 μM + NAA 5,37 μM); 4 mg.L^{-1} - (IBA 9,84 μM + NAA 10,74 μM), 6 mg.L^{-1} - (IBA 14,7 μM + NAA 16,11 μM), 8 mg.L^{-1} - (IBA 19,6 μM + NAA 21,4 μM), with WPM medium as control treatment. Plant acclimatization was tested in two substrate formulations: washed sand and vermiculite (1:1) and compost substrate. For the botanical varieties of mangabeira *gardneri* and *cuyabensis*, the best rooting occurs in WPM medium without auxins and for var. *pubescens*, occurs with 8 mg.L^{-1} (IBA 19,6 μM + NAA 21,4 μM). Callogenesis is stimulated in the presence of AIB and NAA associated or not. Acclimatization with sand and vermiculite 1:1 is recommended for greater survival of the *gardneri* and *pubescens* varieties. For *cuyabensis*, the recommended substrate is compost.

Keywords: propagation, botanical varieties, auxins, acclimatization.

5.3 INTRODUÇÃO

Hancornia speciosa Gomes é uma fruteira nativa, conhecida como mangabeira, de ocorrência em todas as regiões do Brasil. A ampla dispersão comprova a eficiência reprodutiva natural e a capacidade de adaptação da espécie a diversos ambientes (Pereira et al., 2016). É classificada na família Apocynaceae, gênero *Hancornia* e com a espécie *H. speciosa* com seis variedades descritas conforme Monachino (1945). A espécie é auto-

incompatível com possibilidade de hibridação entre variedades (Darrault & Schlidwein, 2005; Collevatti et al., 2016).

As características da planta são interessantes para o mercado, pois é produtora de frutos comestíveis, de valor para comércio local com a produção de geleias, licores, doces, sucos (Nunes et al., 2022). Da casca e das folhas são extraídos compostos de interesse farmacêutico com propriedades anti-hipertensivas (Silva et al., 2016; Moreira et al., 2019), anti-inflamatórias (Marinho et al., 2011), antidiabéticas (Pereira et al., 2015), gastroprotetivas e com efeito contra a bactéria *Helicobacter pylori* (de Mello Moraes et al., 2008), antibióticas (Barbosa et al., 2019) e de tratamento de doenças de Alzheimer e Parkinson (Santos et al., 2018).

Todavia, a principal forma de obtenção de frutos é por extrativismo de populações naturais (Oliveira & Aloufa, 2020), fato preocupante do ponto de vista de conservação. Conforme Marshall & Hawthorne (2012), a redução do tamanho da população pode causar o risco e extinção local. Há necessidade da produção comercial e conservação de populações naturais da mangabeira para evitar que a espécie se torne ameaçada.

As coleções de germoplasma in vivo são importantes para conservação da mangabeira (Silva-Júnior et al., 2018). Além disso, a espécie tem rápida perda de viabilidade, o que impossibilita o armazenamento a longo prazo. As coleções in vitro são importantes para complementar as coleções in vivo. A micropropagação e criopreservação são atividades essenciais, pois auxiliam no resgate de germoplasma nativo, com custos e espaço reduzidos (Engelman, 2011).

A clonagem de matrizes de mangabeira é uma estratégia para o melhoramento, por ser possível eliminar a segregação e formar plantações mais uniformes e permitir a fixação de caracteres agronômicos de interesse (Yokomizo, 2015; Chaves, 2018). Desta forma, tanto para questões de conservação da espécie como para caracterização de germoplasma e pré-domesticação, o estabelecimento de protocolos de propagação são essenciais. No entanto, um problema acerca destes protocolos: a alta variabilidade genética em progênes entre variedades ou mesmo híbridos naturais de variedades.

Na literatura, os artigos não descrevem a variedade botânica da mangabeira estudada, seja conforme a classificação de Monachino (1945) ou Koch et al. (2015), fato que dificulta a produção de clones in vitro ou mesmo a conservação por criopreservação ou crescimento lento. Existem resultados sobre germinação, multiplicação de brotos, enraizamento e aclimatização da mangabeira (Soares et al., 2007a; 2011b; Cabral et al.,

2013; Prudente et al., 2016, Vieira et al., 2018). Tais referências pouco se enquadram para variedades específicas.

Um dos obstáculos na micropropagação da mangabeira é a baixa taxa de enraizamento, com no máximo 30% de sucesso (Oliveira et al., 2019). A maior proporção foi relatada por Prudente et al. (2016) que alcançaram 80% com uso de 4,92 μM ANA e 4,92 μM AIB. A aclimatização da mangabeira em casa de vegetação tem sido bem relatada, tendo-se maiores taxas de sobrevivência com uso de substratos aerados como misturas de areia e vermiculita ou areia e fibras (Freire et al., 2011).

Variedades botânicas de mangabeira podem responder de maneira diferente aos tratamentos, considerando a história filogeográfica de cada uma. (Costa et al., 2017; Chaves et al., 2020). Isso pode ser levado em conta quando se deseja estabelecer ambientes ideais para reprodução da mangabeira. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar o testar tipos de auxinas para enraizamento de mangabeira de variedades botânicas e testar diferentes substratos para aclimatização de mudas.

5.4 MATERIAL E MÉTODOS

O enraizamento foi realizado utilizando-se microestacas de brotos de mangabeira, germinadas in vitro, das variedades *gardneri*, *cuyabensis* e *pubescens*. As sementes destas plantas foram originadas de matrizes da coleção de germoplasma da Escola de Agronomia da UFG, plantadas em 2005. As brotações foram produzidas com uso do meio WPM (*Wood Medium Plant*) (Lloyd & McCown, 1980), suplementado com 6-benzylaminopurina (BAP). Utilizou-se 4,40 μM para brotação das variedades *gardneri* e *cuyabensis* e 2,30 μM para a var. *pubescens*.

Os tratamentos com as diferentes auxinas foram elaborados em tubos de ensaio (23 x 250 mm) com meio de cultura WPM, gelificados com Gellex® e com pH 5,7 e autoclavado a 121°C e 1 atm por 20 minutos. Os testes com doses de ácido indol butírico (AIB) foram realizados nas variedades *gardneri* e *cuyabensis*. As doses de AIB foram 4,92, 9,84, 19,68 e 39,36 μM , tendo-se o meio WPM completo como controle.

O teste com doses de ANA foi feito apenas com a var. *pubescens* nas doses de 21,48, 32,22 e 42,96 μM , com meio WPM completo como controle. Os testes com AIB + ANA juntos foram feitos nas variedades *gardneri*, *cuyabensis* e *pubescens*. Foram testadas as concentrações: 2 mg.L⁻¹ (AIB 4,92 μM + ANA 5,37 μM); 4 mg.L⁻¹ (AIB 9,84 μM + ANA

10,74 μM), 6 mg.L^{-1} (AIB 14,7 μM + ANA 16,11 μM), 8 mg.L^{-1} (AIB 19,6 μM + ANA 21,4 μM).

Os tratamentos tiveram trinta repetições para todas as variedades botânicas de mangabeira. Cada parcela experimental foi constituída por um tubo de ensaio com uma planta. Nos ensaios de enraizamentos utilizou-se microestacas das brotações *in vitro*, com tamanho entre 2 a 3 cm, com folhas e cortadas em bisel. Os tubos com os explantes foram colocados em sala de crescimento em ambiente com temperatura de 25 °C e 18 horas de luz branca e 6 horas de escuro por vinte dias. Ao final do período de incubação avaliou-se a sobrevivência, comprimento das brotações, quantidade e comprimento de raízes.

O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso com trinta repetições por tratamento. A análise dos resultados foi feita pela análise dos resíduos, adequação aos pressupostos para análise de variância. Quando F significativo na ANOVA, procedeu-se a análise de regressão quadrática, de forma a obter a curva resposta da variável sob doses das auxinas. Para a taxa de sobrevivência foram feitas regressões logísticas, por interpolação de frequência do enraizamento e os valores de preditos na escala de probabilidade. As análises dos resultados foram realizadas no software R (R Core Team, 2020).

As plantas enraizadas *in vitro* foram utilizadas para aclimatização de forma a avaliar dois tipos de substratos para as três variedades botânicas de mangabeira. O substrato 1 foi constituído por areia lavada e vermiculita na proporção 1:1. O substrato 2 foi composto por latossolo vermelho + areia lavada + esterco bovino + torta de filtro + vermiculita nas proporções 3:2:2:2:1. Estes foram condicionados em sacos de mudas de tamanho 30 x 10 cm.

Para os ensaios as plantas *in vitro* das foram aclimatadas previamente, com a transferência para recipientes com furos, com vermiculita umedecida e autoclavada. As plantas permaneceram por oito dias, cobertas por saco plástico com pequenos furos para as trocas gasosas, em ambiente com temperatura média de 25 °C e fotoperíodo de 18 horas de luz e 6 horas de escuro.

Após o preparo, as plantas de cada variedade foram transferidas para os sacos com as formulações de substratos elaboradas e colocadas sobre bancadas dentro de casa de vegetação. A temperatura média variou em torno de 24-26°C, a umidade permaneceu acima de 70% e a irrigação foi automatizada quatro vezes ao dia, com recirculação de ar.

As plantas receberam suplementação nutricional de 10 mL.L⁻¹ de solução nutritiva de Hoagland & Arnon (1950) uma vez por semana. Avaliou-se a quantidade de plantas vivas, altura e número de folhas no dia de transferência e ao início e após 45 dias.

O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso, de maneira a comparar os substratos em cada variedade botânica. Os resultados foram submetidos à análise de resíduos e adequação aos pressupostos da análise de variância e comparação das médias pelo teste F ao nível de 5% de significância. As taxas de sobrevivência foram expressas valores de frequência e valores preditos de probabilidade. Foi utilizado o software R para tais análises (R Core Team, 2020).

5.5 RESULTADOS

As taxas de enraizamento das variedades botânicas de mangabeira foram expressas em regressão logística (Figura 5.1), com valores de probabilidade para as variedades botânicas. Para var. *pubescens*, os aumentos das doses de AIB no meio acompanhou a tendência de redução na taxa de enraizamento. Logo para as variedades *gardneri* e *cuyabensis* os valores de probabilidade foram positivos e semelhantes, com aumentos nas taxas conforme acréscimos das doses de AIB no meio (Figura 5.1).

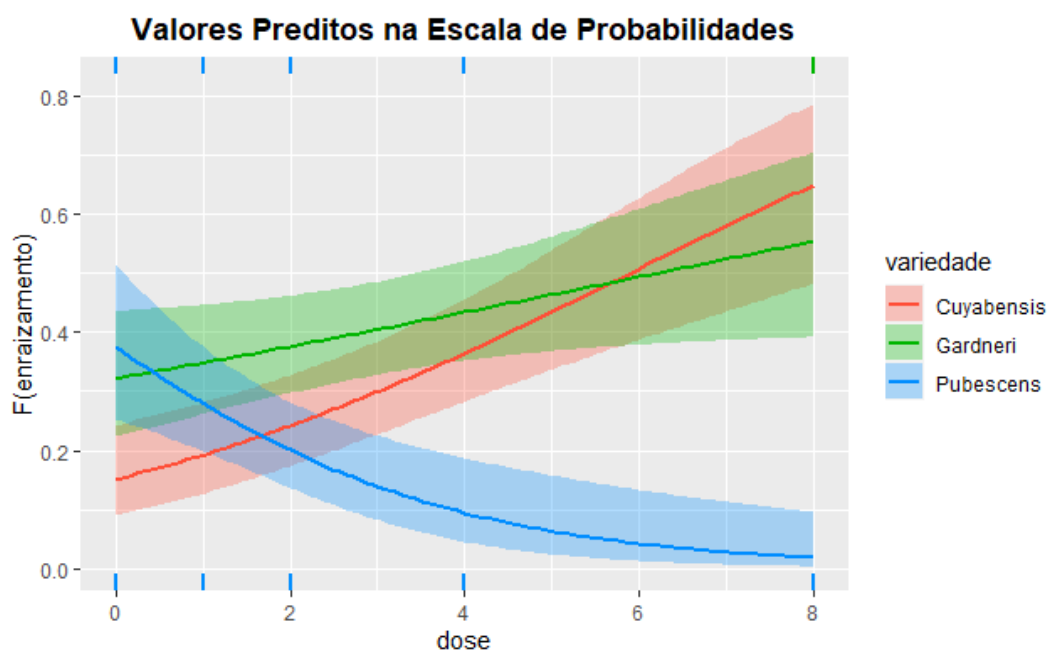


Figura 5.1: Regressão logística de valores de probabilidade de enraizamento de variedades botânicas de mangabeira em doses de AIB.

A adição de AIB no meio induziu a organogênese de raízes curtas e numerosas. As regressões não foram significativas para a quantidade de raízes no uso de AIB isoladamente (Figura 5.2). Para as variedades *gardneri* e *cuyabensis* as maiores quantidades de raízes foram observadas nas doses 19,60 e 39,30 μM de AIB, respectivamente.

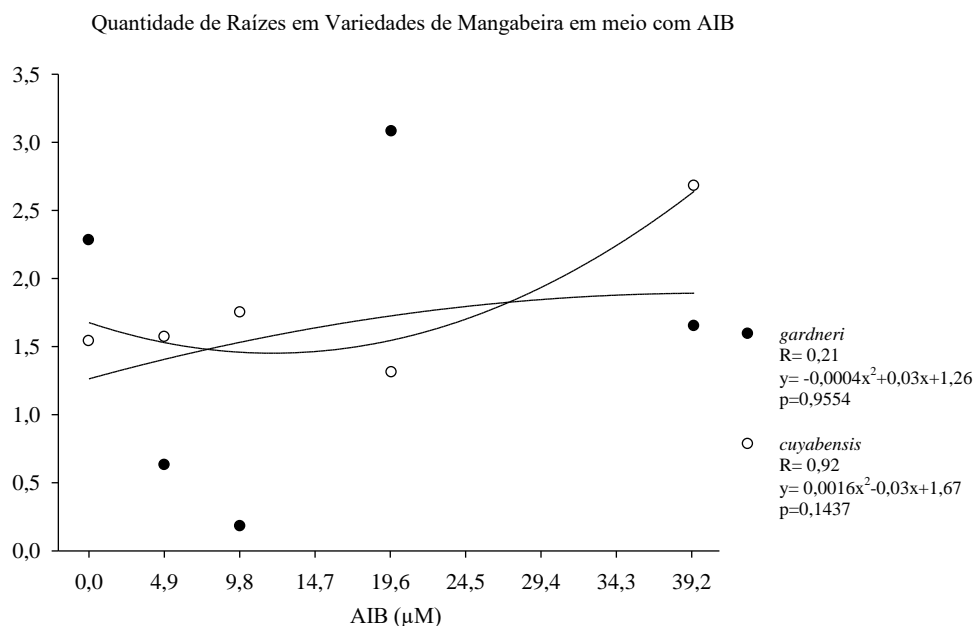


Figura 5.2: Regressões quadráticas da quantidade de raízes em microestacas de mangabeira das variedades *gardneri* e var. *cuyabensis* sob o efeito de doses de AIB.

As regressões para o comprimento de raízes nas variedades *gardneri* e *cuyabensis* não foram significativas. Houve decréscimos no comprimento conforme as doses, tendo-se os maiores valores na ausência de AIB (Figuras 5.3, 5.4 e 5.5).

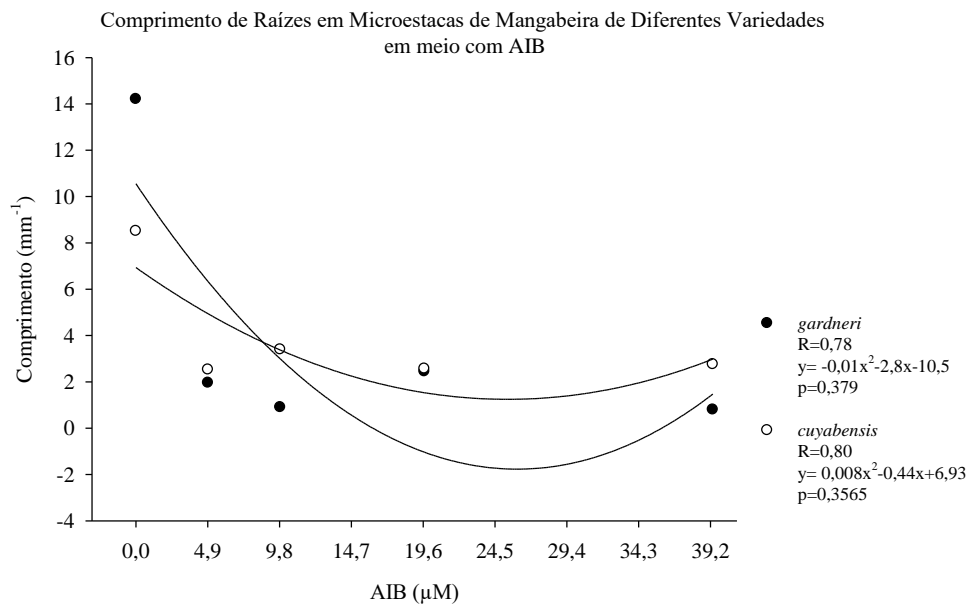


Figura 5.3: Regressões quadráticas da quantidade de raízes em microestacas de mangabeira das variedades *gardneri* e var. *cuyabensis* sob o efeito de doses de AIB.

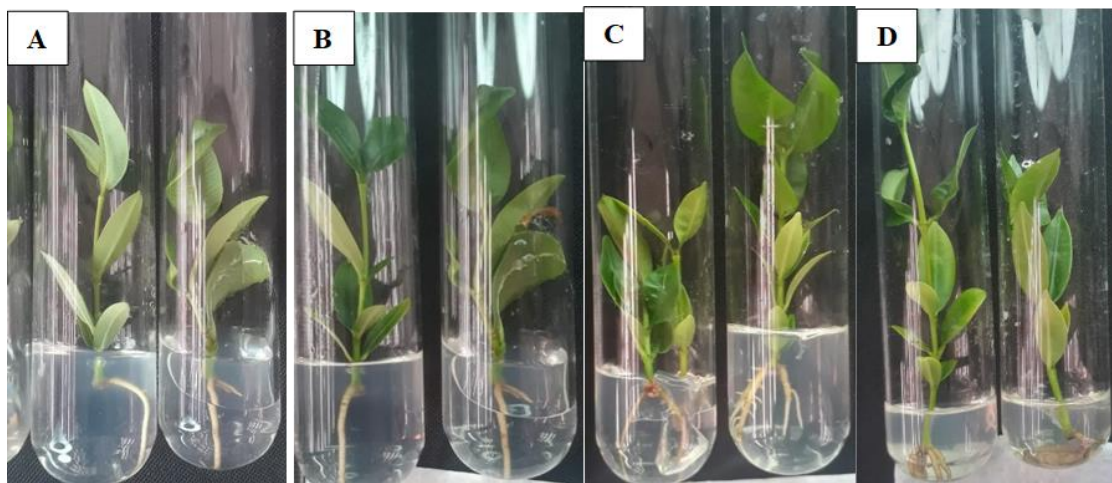


Figura 5.4. Rizogênese em brotações de *H. speciosa* var. *cuyabensis* em doses de AIB. A=AIB 9.84 μM, B=29.52 μM, C=AIB 19.68 μM, C=AIB 39.36 μM. Fonte: Belo, E.S.

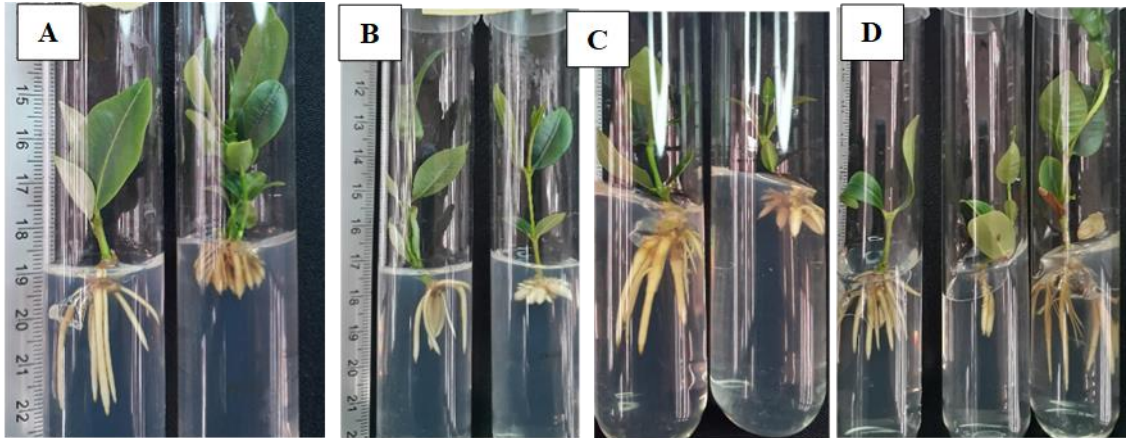


Figura 5.5. Rizogênese em brotações de *H. speciosa* var. *gardneri* em doses de AIB. A=WPM, B=AIB 9.84 μM , C=29.52 μM , D=AIB 19.68 μM , E=AIB 39.36 μM . Fonte: Belo, E.S.

As regressões para altura de brotos não foram significativas para as variedades *gardneri* e *cuyabensis* em meio com AIB. Na ausência da auxina observou-se os maiores valores de comprimento de brotos (Figura 5.6).

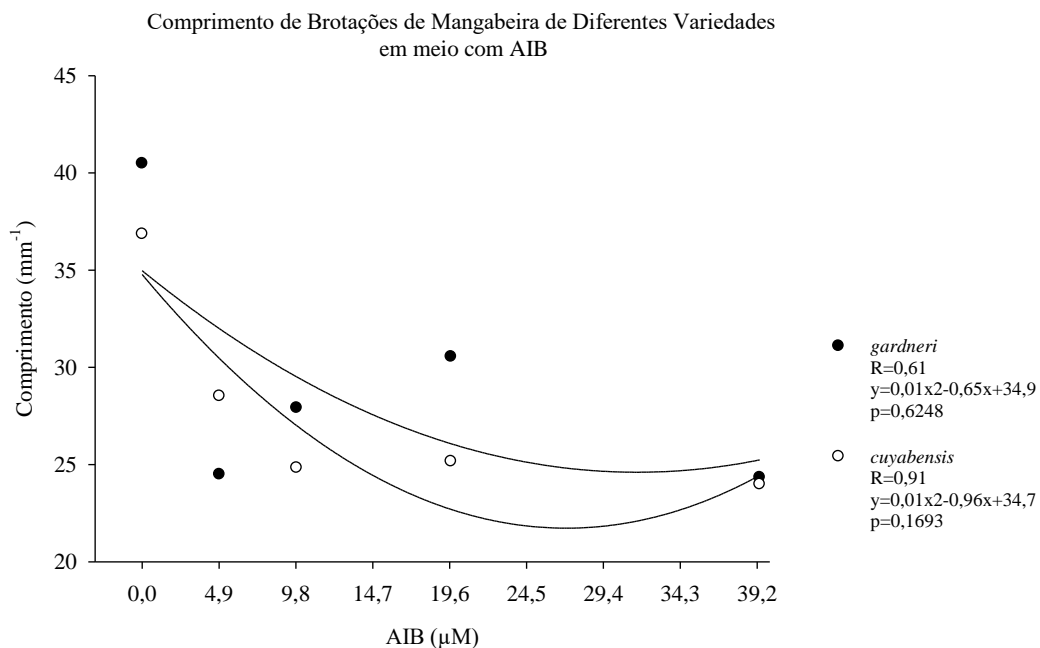


Figura 5.6: Regressões quadráticas do comprimento das brotações de mangabeira das variedades *gardneri* e var. *cuyabensis* sob o efeito de doses de AIB.

A taxa de calogênese nas microestacas foram expressas em valores de probabilidades de ocorrência de calos. As regressões não foram significativas para *gardneri*

e *cuyabensis*, mas notou-se a maior probabilidade de ocorrência de calos uso de 9.8 μM de AIB para a var. *gardneri* (Figura 5.7).

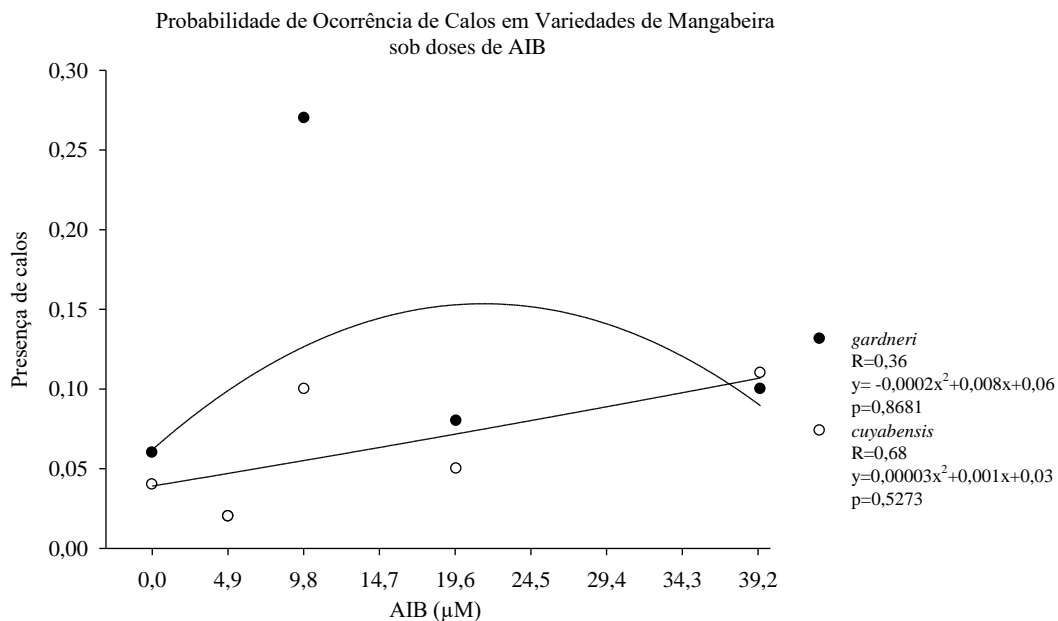


Figura 5.7. Regressões quadráticas dos valores de probabilidades de ocorrência de calos em microestacas de mangabeira das variedades *gardneri* e var. *cuyabensis* sob o efeito de doses de AIB.

Em ensaios com uso associado de AIB com ANA tiveram a concentração total de auxinas expressas em mg.L^{-1} , sendo estas constituídas por proporções iguais de AIB e ANA. As regressões quadráticas não foram significativas para quantidade de raízes para todas as variedades botânicas (Figura 5.8). A var. *cuyabensis* apresentou as menores quantidades de raízes enquanto a var. *pubescens* obteve as maiores dentre as variedades, ocorrentes sem auxinas e na dose 8 mg.L^{-1} .

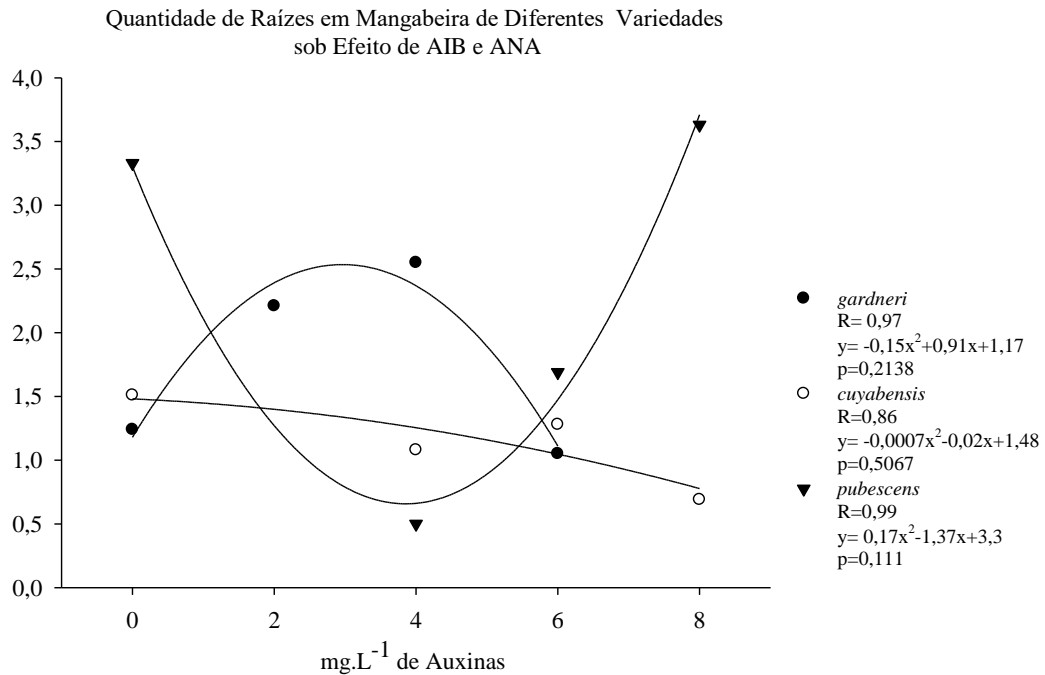


Figura 5.8. Regressões quadráticas das quantidades de raízes formadas em microestacas de variedades de mangabeira sob efeitos das auxinas AIB e ANA em conjunto.

De maneira semelhante, as regressões não foram significativas para os comprimentos das raízes para todas as variedades botânicas (Figura 5.9). A var. *cuyabensis* teve os maiores comprimentos sem as auxinas. Houve tendência de redução no comprimento de raiz para a var. *gardneri* e aumento para var. *cuyabensis* com acréscimos das auxinas no meio (Figura 5.9, 5.10, 5.11 e 5.12).

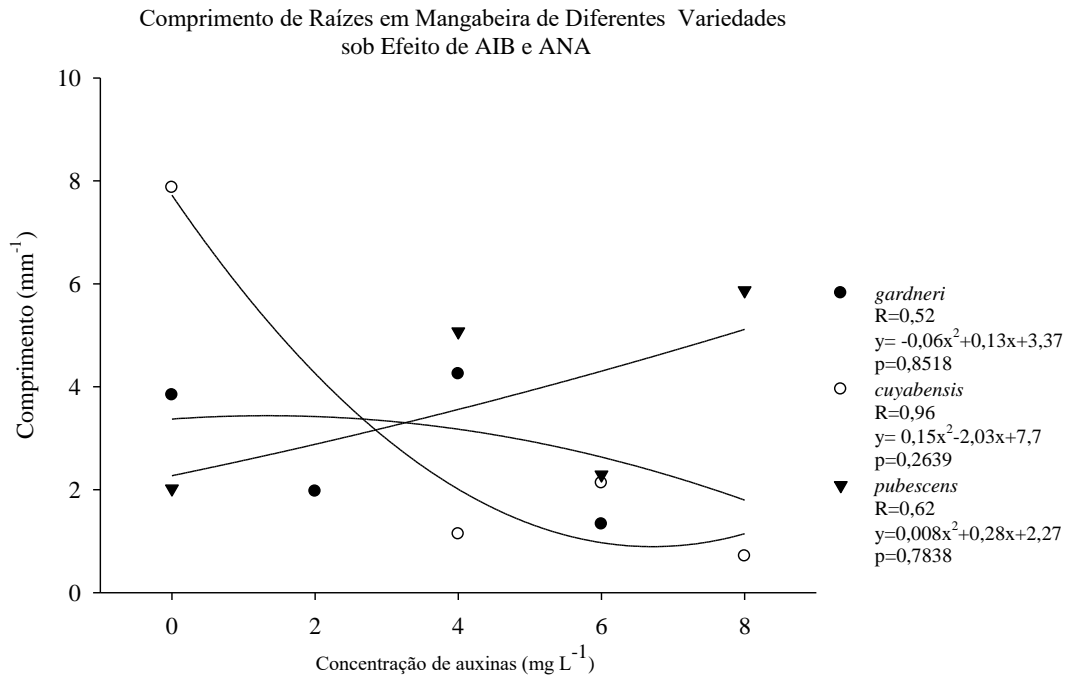


Figura 5.9. Regressões quadráticas do comprimento de raízes formadas em microestacas de variedades de mangabeira sob efeitos das auxinas AIB e ANA em conjunto.

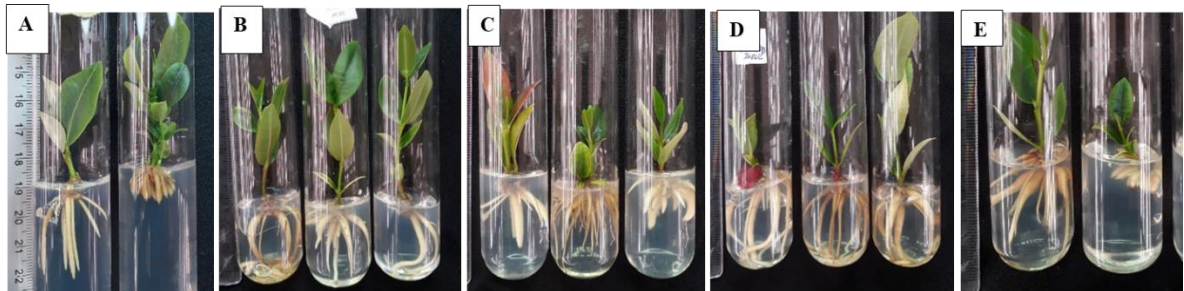


Figura 5.10. Rizogênese em brotações de *H. speciosa* var. *gardneri* em doses de auxinas. A= WPM; B= AIB 1 mg.L⁻¹ + ANA 1 mg.L⁻¹; C= AIB 2 mg.L⁻¹ + ANA 2 mg.L⁻¹; D= AIB 3 mg.L⁻¹ + ANA 3 mg.L⁻¹, E= AIB 4 mg.L⁻¹ + ANA 4 mg.L⁻¹. Fonte: Belo, E.S.

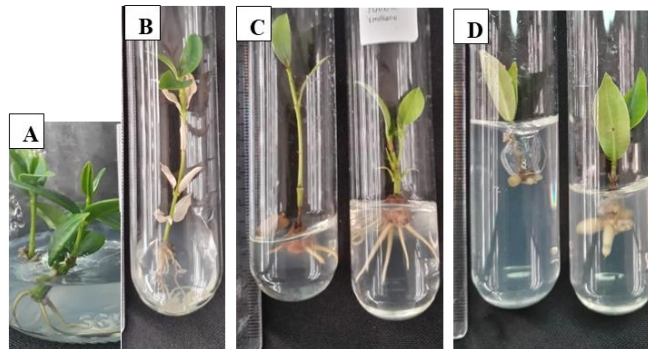


Figura 5.11. Enraizamento de microestacas de mangabeira *H. speciosa* var. *cuyabensis* em concentrações das auxinas AIB e ANA juntos. A= meio WPM, B= 2 mg.L⁻¹ de AIB +ANA; C= 4 mg.L⁻¹ de AIB +ANA; D= 6 mg.L⁻¹ de AIB +ANA. Fonte: Belo, E.S.

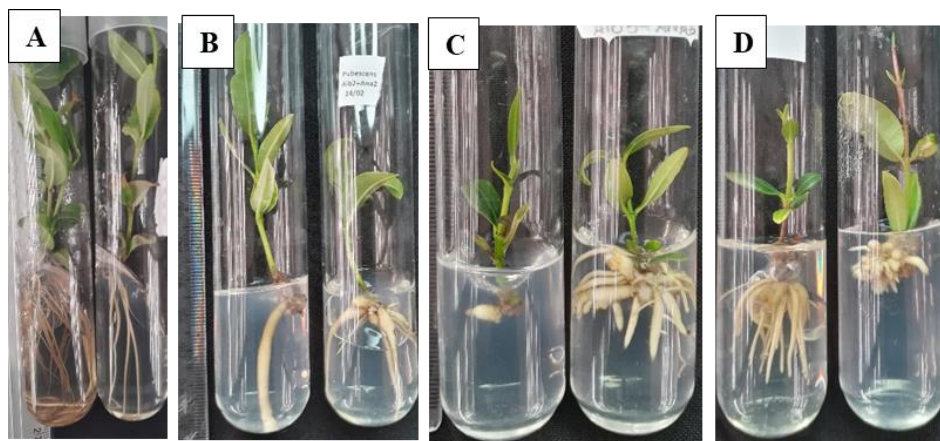


Figura 5.12. Rizogênese em brotações de *H. speciosa* var. *pubescens* em doses de AIB e ANA combinados. A=WPM, B=AIB 9.84 μM + ANA 10.74 μM , C=AIB 19.68 μM + ANA 16.11 μM , D=AIB 39,36 μM + ANA 32,22 μM . Fonte: Belo, E.S.

O comprimento de brotações de mangabeira sob enraizamento com AIB e ANA juntos evidenciou que os maiores comprimentos ocorreram para a var. *pubescens*. Embora as regressões não sejam significativas, observou-se reduções nos valores conforme os aumentos das concentrações de auxinas (Figura 5.13).

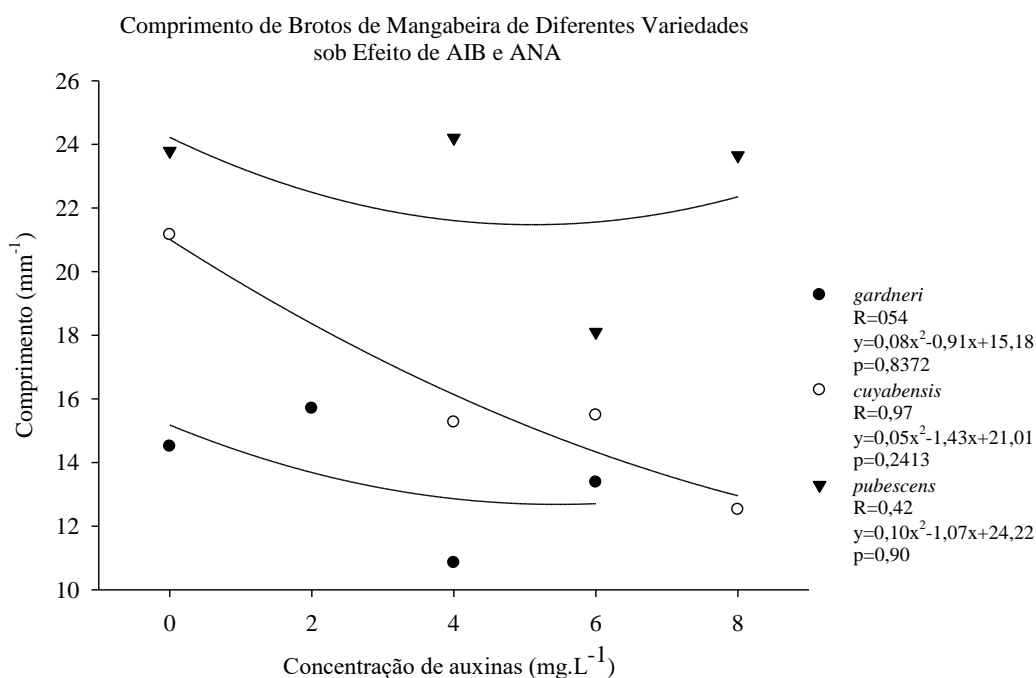


Figura 5.13. Regressões quadráticas do comprimento de brotações de variedades de mangabeira sob efeitos das auxinas AIB e ANA em conjunto.

A ocorrência de calos nas microestacas sob efeitos das auxinas diferiu dentre as variedades botânicas. As var. *cuyabensis* apresentou valores crescentes de probabilidade de ocorrência de calos enquanto a var. *pubescens* obteve os menores valores (Figura 5.14).

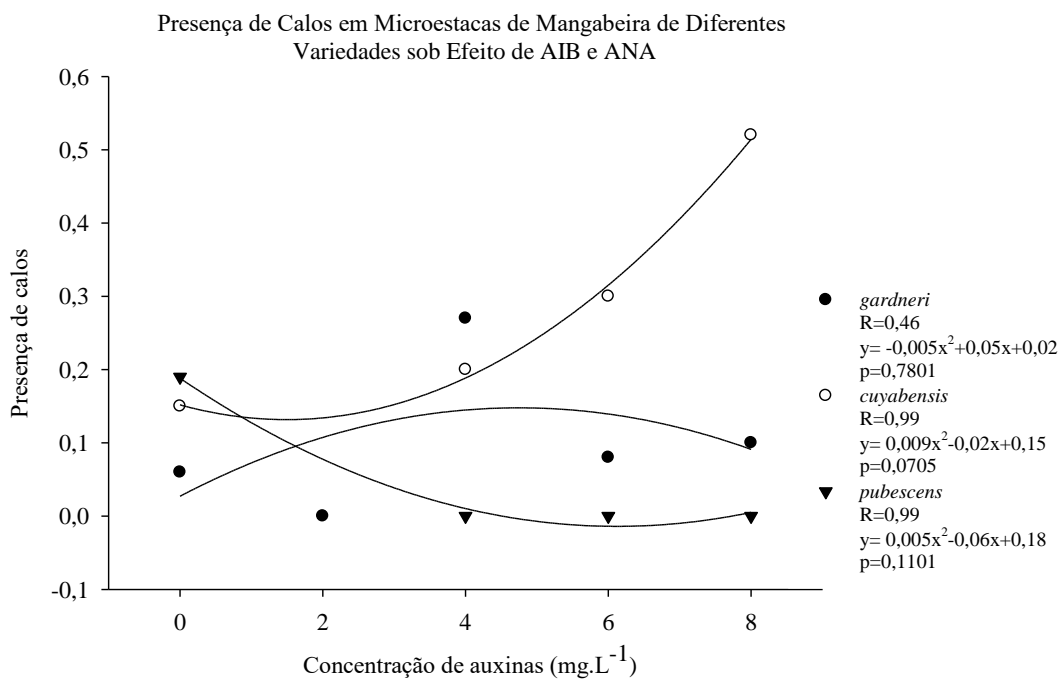


Figura 5.14. Regressões quadráticas da presença de calos em microestacas de variedades de mangabeira sob efeitos das auxinas AIB e ANA em conjunto.

Para diâmetro dos calos na base das microestacas, observou-se aumentos nos valores conforme os acréscimos de auxinas no meio. Logo a var. *pubescens* foi a variedade que mais diferiu, com regressão significativa, tendo-se valores reduzidos sob aumentos de auxinas no meio (Figura 5.15).

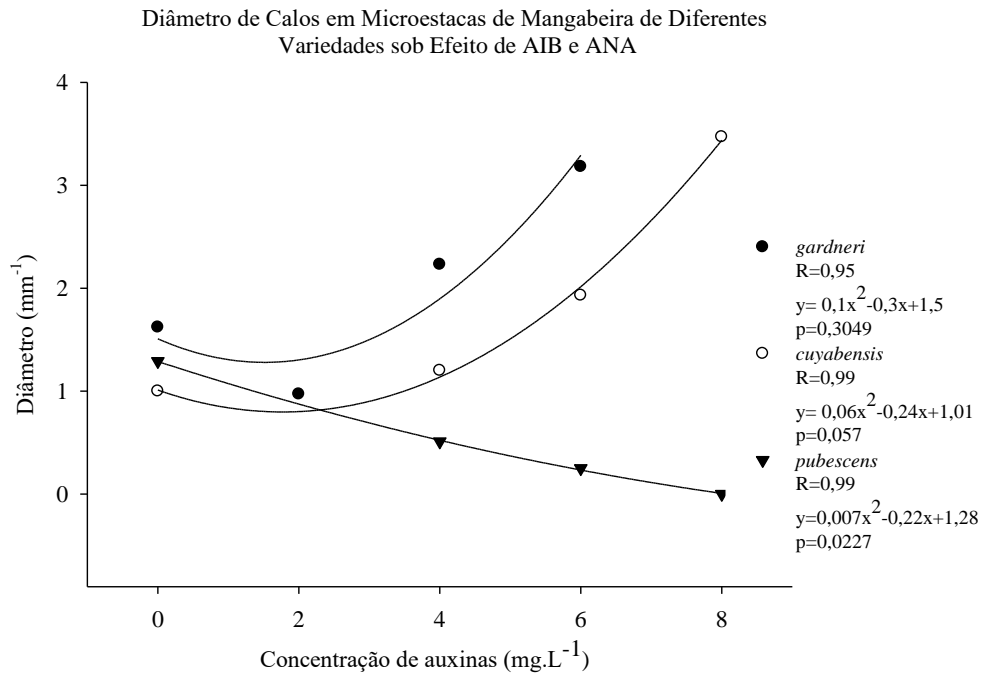


Figura 5.15. Regressões quadráticas do diâmetro de calos em microestacas de variedades de mangabeira sob efeitos das auxinas AIB e ANA em conjunto.

Para a variedade *pubescens*, o comprimento de raízes foi maior em meio WPM sem ANA (Figura 5.16 e 5.17). Embora houvesse a organogênese de raízes, estas eram curtas com no máximo 2,50 mm de comprimento (Figura 5.17). Os maiores comprimentos das raízes ocorreram na ausência de ANA e com 21,40 μM (Figura 5.18).

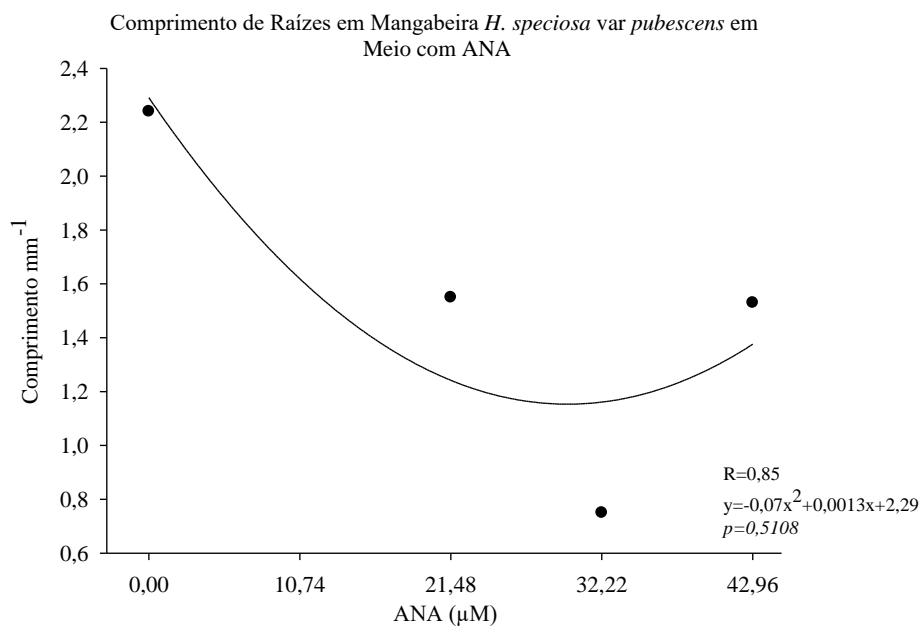


Figura 5.16. Regressão quadrática do comprimento de raiz em mangabeira *H. speciosa* var. *pubescens* sob efeitos de ANA.

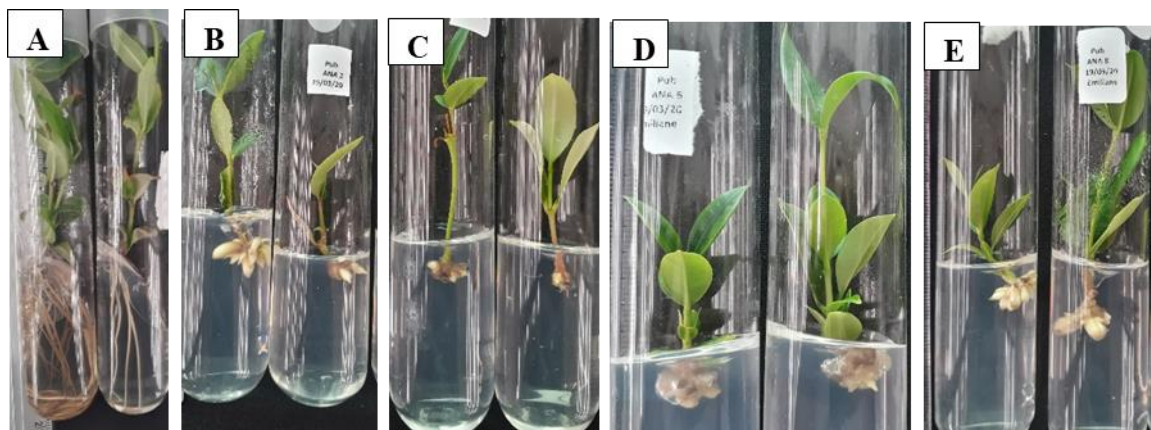


Figura 5.17. Enraizamento de microestacas de mangabeira *H. speciosa* var. *pubescens* em doses de ANA. A=WPM, B=ANA 10.74 μ M, C=ANA 16.11 μ M, D=ANA 32.22 μ M, E=42.96 μ M. Fonte: Belo, E.S.

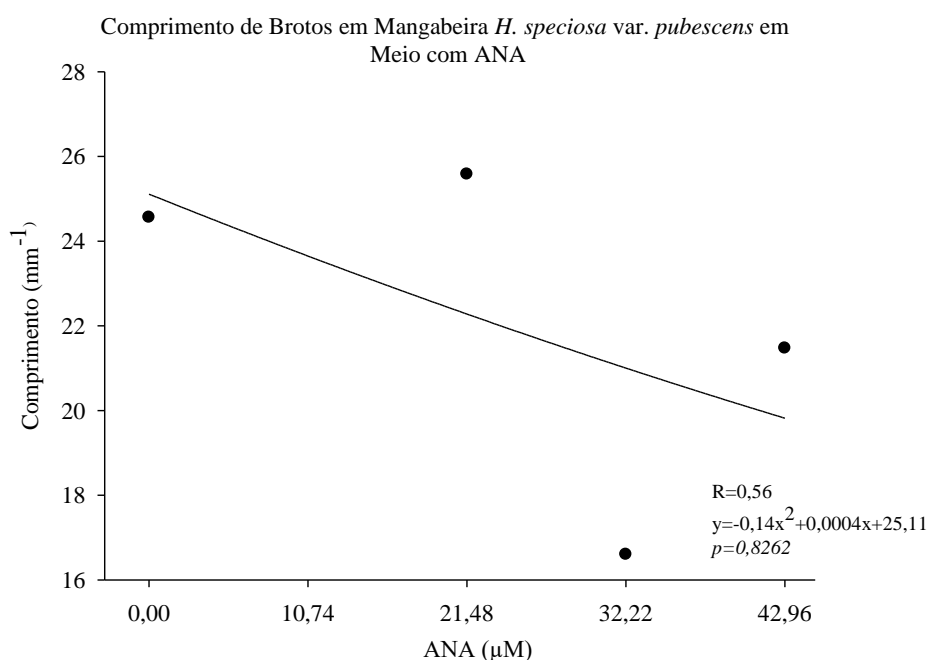


Figura 5.18. Regressão quadrática do comprimento de brotações de mangabeira *H. speciosa* var. *pubescens* sob efeitos de ANA.

Para as presença e diâmetro de calos, observou-se valores crescentes conforme as doses de ANA no meio (Figura 5.19 e 5.20). Para a variedade *pubescens*, a auxina ANA parece ter favorecido a calogênese, mas sem respostas organogênicas.

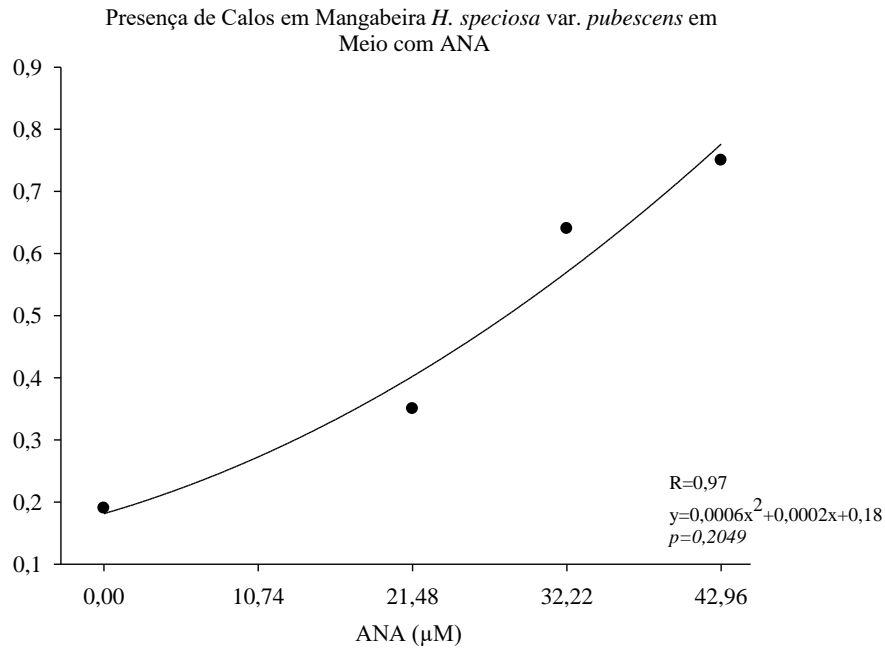


Figura 5.19. Regressão quadrática da probabilidade de ocorrência de calos em microestacas de mangabeira *H. speciosa* var. *pubescens* sob efeitos de ANA.

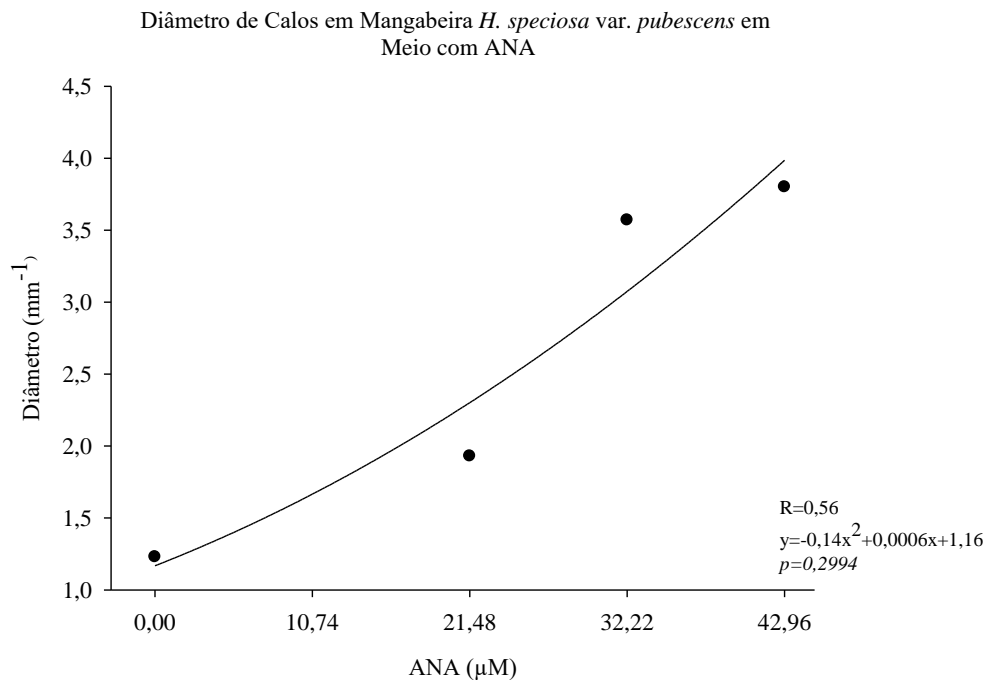


Figura 5.20. Regressão quadrática do diâmetro de calos em microestacas de mangabeira *H. speciosa* var. *pubescens* sob efeitos de ANA.

As plantas enraizadas e aclimatizadas tiveram respostas diferenciadas conforme os substratos formulados. A taxa de sobrevivência das plantas das variedades *gardneri* e

pubescens foi melhor em areia + vermiculita, logo a var. *cuyabensis* sobreviveu melhor em substrato composto (Figuras 5.21, 5.22, 5.23 e 5.24).

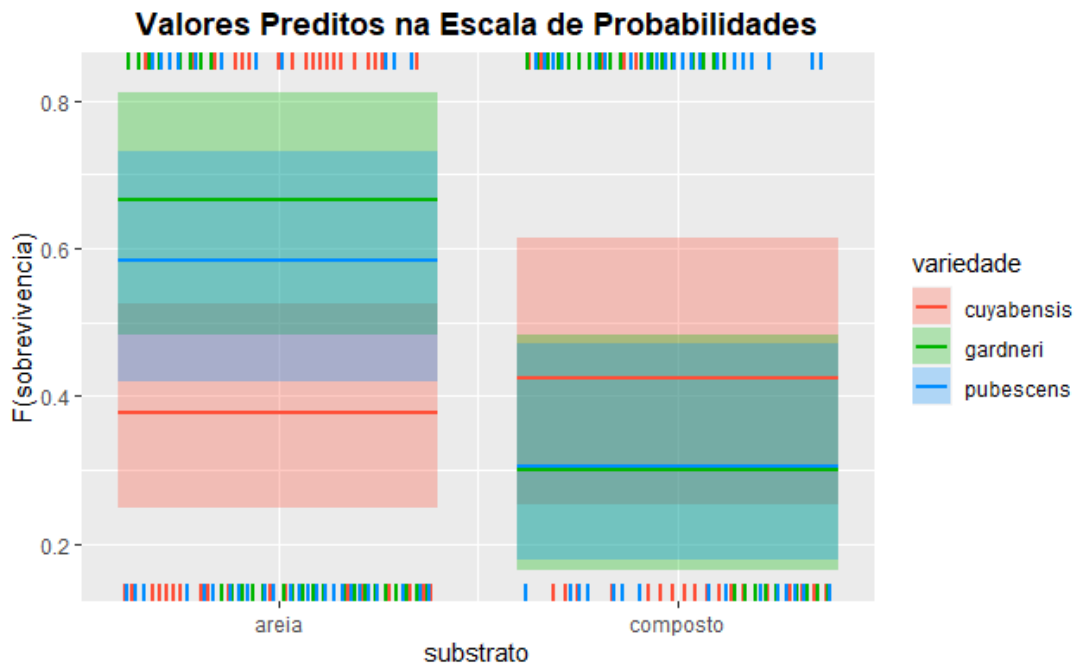


Figura 5.21. Probabilidades de sobrevivência de três variedades botânicas de mangabeira em aclimatizadas em dois tipos de substratos.



Figura 5.22. Aclimatização de plantas da variedade *pubescens* em substrato composto e em areia + vermiculita. Fonte: Belo, E.S.

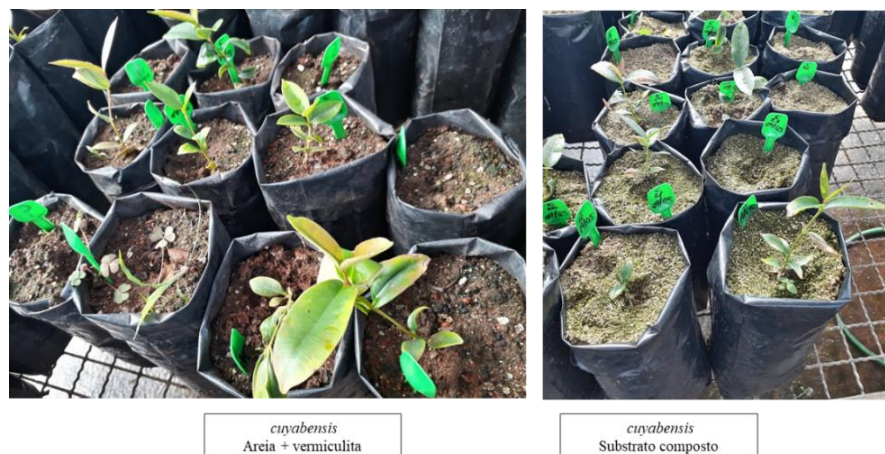


Figura 5.23. Aclimatização de plantas da variedade *cuyabensis* em substrato composto e em areia + vermiculita. Fonte: Belo, E.S.



Figura 5.24. Aclimatização de plantas da variedade *gardneri* em substrato composto e em areia + vermiculita. Fonte: Belo, E.S.

5.6 DISCUSSÃO

Embora as variedades botânicas tenham apresentado respostas positivas com uso de auxinas para o enraizamento, houve maior ocorrência de raízes no meio WPM completo, na ausência de auxinas. Para as variedades *gardneri* e *cuyabensis*, houve um discreto aumento na quantidade de raízes com aumento de AIB, mas o comprimento das raízes teve um efeito oposto, com menores comprimentos (Figuras 5.2, 5.3, 5.9 e 5.10). Isso corrobora com resultados de Oliveira et al. (2019) que mostraram que a rizogênese a partir de ápices caulinares e segmentos nodais não foi favorecida nas concentrações de AIB utilizadas.

Em propagação vegetativa por estaquia, o enraizamento da mangabeira não foi viável, mesmo com o uso de AIB (Soares et al., 2020). Todavia, a associação das auxinas não tem resolvido o problema de enraizamento de espécies nativas. Certas espécies,

principalmente as lenhosas, enraízam com dificuldade ou não enraízam, mesmo na presença de auxinas e algumas espécies até dispensam o uso de reguladores de crescimento no seu enraizamento (Rohr & Hanus, 1987).

Reis (2011) mostrou que o uso de AIB em microestacas de mangabeira *in vitro* induziu o enraizamento em 54,70% e as concentrações de AIB acima de 1,86 mg.L⁻¹ ocasionaram o efeito inibitório. Embora Soares et al. (2011) observarem maior capacidade de enraizamento das brotações de mangabeira oriundas de meio de cultura basal e com adição de Thidiazuron (TDZ). Bastos et al. (2007) obtiveram enraizamento adventício no uso de meio MS com 2,00 mg.L⁻¹ de BAP e 0,50 mg.L⁻¹ de AIA. Soares et al. (2007) também observaram o enraizamento de 20% das brotações apenas no uso de 3,00 mg.L⁻¹ de AIB e em uso de até 3,00 mg.L⁻¹ de ANA não houve enraizamento da mangabeira.

A associação de AIB com ANA evidenciou uma melhor resposta para a formação de raízes para as variedades *gardneri* no uso de 4 mg.L⁻¹ (AIB 9,84 µM + ANA 10,74 µM) e *pubescens* no uso de 8 mg.L⁻¹ (AIB 19,6 µM + ANA 21,4 µM) (Figuras 5.8 e 5.9). Embora tais respostas fossem favoráveis para o enraizamento, este foi muito variável, algumas parcelas com muitas raízes e bem formadas e outras com pouco ou nenhuma raiz dentro do mesmo tratamento. Isso também ocorreu no uso de ANA na var. *pubescens*, observou-se que houve formação de raízes curtas e grossas em uma massa calosa (Figura 5.17) e aumentos crescentes da massa de calos em concentrações crescentes.

No entanto, a calogênese foi a variável marcante para todas as variedades de mangabeira sob efeito das auxinas (Figuras 5.7 e 5.15). Os primeiros efeitos das auxinas observados nas microestacas foram o entumescimento da base e formação de calo, dos quais as raízes partiam. Contudo a maior frequência de rizogênese ocorreu no tratamento controle, sem auxinas, em que a ocorrência e o tamanho dos calos foram os menores para todas as variedades botânicas de mangabeira (Figuras 5.14 e 5.15). Desta forma, a rizogênese pode não estar correlacionada a formação de calos.

Um dos fatores que podem afetar o enraizamento é o número de subculturas, por aumentar a produção de compostos fenólicos, especialmente para espécies lenhosas (George et al., 2008), o que afeta negativamente o enraizamento (Campos et al., 2021). No estudo atual, foi feita uma subcultura para obtenção de brotos para o enraizamento, fato este que não parece ter influenciado a baixa taxa de enraizamento. Além disso, Soares et al. (2020) salientam que estrutura anatômica do caule não possui qualquer impedimento à emissão de

raízes para a mangabeira. Assim, o balanço endógeno e exógeno de auxinas deve ser o principal fator influenciador do enraizamento das variedades de mangabeira.

Para outras espécies lenhosas como ipê-roxo (*Handroanthus impetiginosus*) (Máximo et al. 2020), a taxa de enraizamento foi de 88% no uso de 9,00 μM de AIB e 75,96% na ausência de auxina. Para gabirobeira (*Campomanesia xanthocarpa*) uso de 4,50 μM de AIB promoveu 53% de enraizamento (Campos et al. 2021). Para mangabeira (*H. speciosa*), a combinação AIB 4,82 μM junto ANA 4,92 μM promoveu cerca de 80% de enraizamento (Prudente et al. 2016) enquanto Oliveira et al. (2019) evidenciaram que 3,00 mg.L^{-1} de AIB promoveu 90% de enraizamento em microestacas para mangabeira.

As auxinas sintéticas como o ácido indolacético (AIA), ácido indolbutírico (AIB) e ácido naftalenoacético (ANA) tem um grande efeito na promoção do enraizamento (Leopold & Kriedemann, 1975). As auxinas circulam nas plantas tanto na forma livre como conjugadas e transportadas de forma polar. As dificuldades de enraizamento in vitro podem ser devido à conjugação ou interferência de metabólitos secundários do explante, que por sua vez causam oxidação.

Os níveis endógenos de auxinas nos explantes podem facilmente depletar devido ao estresse causado pela excisão do tecido. Geralmente são necessários estudos com doses de auxinas para verificar a curva de resposta da planta. Para as variedades botânicas de mangabeira, não foi evidente respostas de enraizamento em função de acréscimos das doses de auxinas no meio. Porém, o enraizamento ocorrido no meio WPM sem auxinas pode ser evidencia que haja níveis endógenos que promovam o enraizamento, ainda que em baixas concentrações.

Vale ressaltar que a posição do tecido e as condições interferem nos níveis endógenos de auxinas. O tamanho do explante, oxidação tecidual, posição do explante no meio e fotoperiodismo podem influenciar os níveis endógenos e conjugação ou degradação. Além disso, outras moléculas presentes no meio podem induzir o tecido a produzir auxinas, uma maneira de bioestimulação. Isso foi observado em trabalhos com uso de aminoácidos como triptofano e asparagina, que induzem a biossíntese de auxinas nos tecidos. Os níveis de citocininas também podem interagir com auxinas e afetar a organogênese, como ocorreu em *Rosa centifolia* (Akhtar et al., 2016).

Para as variedades botânicas de mangabeira aclimatizadas, as diferenças observadas possivelmente advêm da porosidade do substrato. Conforme Freire et al. (2011), os substratos com areia e pó da casca de coco seco (1:1) e vermiculita e areia (1:1)

proporcionaram maior crescimento das plantas. Prudente et al. (2016) usaram o substrato Trosptrato® e tiveram 100% de sobrevivência das plantas.

A aclimatização é considerada a fase final da micropropagação e envolve a transferência de materiais vegetais cultivados *in vitro* para condições externas. Na transferência da plântula de uma condição *in vitro* para uma condição *ex vitro*, ela passa de uma situação heterotrófica, com alta disponibilidade de nutrientes e suprimento externo de energia (sacarose no meio), para uma situação que exige autossuficiência (Grattapaglia & Machado, 1998; Silveira et al., 2020).

O tratamento pré-aclimatização em estufas ou mesmo com cobertura parcial de plantas micropropagadas para manter a umidade alta favorece as trocas gasosas. Isso favorece a sobrevivência das plantas de cultura de tecidos pois, permite a formação gradual de estruturas como estômatos e cutículas, para resistir ao ambiente heterótrofo. Isso foi observado em plantas de *Corymbia* (Maravilha et al., 2023).

Para mangabeira, os relatos indicam substratos com características de maior porosidade e de capacidade de retenção hídrica. Conforme Oliveira et al. (2014) os substratos dotados de vermiculita e combinações, vermiculita + areia barrada, vermiculita + água e vermiculita + areia, exerceram influência positiva na emergência de *H. speciosa* Gomes. Para as variedades de mangabeira, o substrato composto apresentou baixa drenagem e porosidade, que favoreceu a fermentação e acúmulo de substâncias tóxicas, causando amarelecimento e morte das plantas. Todavia o substrato areia + vermiculita foi o melhor, embora tenha baixa característica nutricional, que foi restabelecida pela suplementação com solução nutritiva.

Os enraizamento e aclimatização das plantas são etapas importantes para o retorno ao ambiente natural. Poucos estudos recomendam condições para aclimatização da mangabeira pois a taxa de enraizamento é baixa. A adaptação das variedades botânicas é de importância para a formação de mudas a fim de garantir o estabelecimento de genótipos. É uma fase de gargalo para o sucesso da produção de plantas micropropagadas para as condições naturais.

5.7 CONCLUSÕES

As maiores taxas de enraizamento ocorrem para var. *cuyabensis* e var. *gardneri* sob uso de AIB. Em doses apenas de AIB e na sua associação com ANA há formação de

calos e favorece o enraizamento da var. *pubescens*. A aclimatização com areia e vermiculita 1:1 é indicada para maior sobrevivência das variedades *gardneri* e *pubescens*. Para a var. *cuyabensis* o substrato recomendado é o composto.

5.8 REFERÊNCIAS

AKHTAR, G.; JASKANI, M. J.; SAJJAD, Y.; AKRAM, A. Effect of antioxidants, amino acids and plant growth regulators on in vitro propagation of *Rosa centifolia*. **Iranian Journal of Biotechnology**, Tehran, v. 14, n. 1, 2016.

BARBOSA, A. M.; SANTOS, K. S.; BORGES, G. R.; MUNIZ, A.; MENDONCA, F. M. R.; PINHEIRO, M. S.; FRANCESCHI, E.; DARIVA, C.; PADILHA, F. F. Separation of antibacterial biocompounds from *Hancornia speciosa* leaves by a sequential process of pressurized liquid extraction. **Separation and Purification Technology**, Oxford, v. 222, p.390-395, 2019.

BASTOS, L. P.; DE CARVALHO COSTA, M. A. P.; DE SOUZA HANSEN, D.; MOREIRA, M. J. S.; DA ROCHA, M. A. C.; HANSEN, D. S.; SILVA, S. A.; DANTAS, A. C. V. L.; SOUSA, C. S. Cultivo in vitro de Mangabeira (*Hancornia speciosa*). **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 5. s. 2, p. 1122-1124, 2007.

CABRAL, J. S. R.; ALBERTO, P. E.; PEREIRA, F. D.; SOUCHIE, E. L.; SILVA, F. G. In vitro Cultivation of *Hancornia speciosa* Gomes: The Physical Constitution of the Culture Medium, Sucrose Concentrations and Growth Conditions. **Plant Tissue Culture and Biotechnology**, Elsevier, v. 23, n. 2, p. 177-187, 2013.

CAMPOS, N. A.; SILVA, G. J.; PAIVA, R. Rooting of the Endemic Brazilian Species *Campomanesia pubescens* using Biotechnological Techniques. **Plant Tissue Culture and Biotechnology**, Elsevier, v. 31, n. 2, p.173-177, 2021.

CHAVES, L. J. Conservação, Domesticação e Melhoramento de Espécies Nativas do Cerrado. In: AMABILE, R. F.; VILELA, M. S.; PEIXOTO, J. R. (Eds.). **Melhoramento de plantas: variabilidade genética, ferramentas e mercado**. Brasília, DF, Proimpress, Sociedade Brasileira de Melhoramento de Plantas, 2018, p. 93-108.

CHAVES, L. J.; GANGA, R. M. D.; GUIMARÃES, R. A.; CALDEIRA, A. J. R. Quantitative and molecular genetic variation among botanical varieties and subpopulations of *Hancornia speciosa* Gomes (Apocynaceae). **Tree Genetics and Genomes**, Springer Germany, v. 16, n. 4, p. 50, 2020.

COLLEVATTI, R. G.; OLIVATTI, A. M.; TELLES, M. P. C.; CHAVES, L. J. Gene flow among *Hancornia speciosa* (Apocynaceae) varieties and hybrid fitness. **Tree Genetics and Genomes**, Springer Nature, v. 12, p. 74-85, 2016.

COSTA, C. F.; COLLEVATTI, R. G.; CHAVES, L. J.; LIMA, J. S.; SOARES, T. N.; TELLES, M. P. C. Genetic diversity and fine-scale genetic structure in *Hancornia speciosa*

Gomes (Apocynaceae). **Biochemical Systematics and Ecology**, Elsevier, v. 72, p. 63-67, 2017.

DARRAULT, R. O.; SCHLINDWEIN, C. Limited fruit production in *Hancornia speciosa* (Apocynaceae) and pollination by nocturnal and diurnal insects. **Biotropica: The Journal of Biology and Conservation**, Elsevier, v. 37, n. 3, p. 381-388, 2005.

de MELLO MORAES, T.; RODRIGUES, C. M.; KUSHIMA, H.; BAUAB, T. M.; VILLEGAS, W.; PELLIZZON, C. H.; BRITO, A. R. M. S.; HIRUMA-LIMA, C. A. *Hancornia speciosa*: Indications of gastroprotective, healing and anti-*Helicobacter pylori* actions. **Journal of Ethnopharmacology**, County Clare, v. 120, n. 2, p. 161-168, 2008.

ENGELMANN, F. Use of biotechnologies for the conservation of plant biodiversity. In **Vitro Cellular and Developmental Biology Plant**, Springer, n. 47, p. 5-16, 2011.

FREIRE, K. C. S.; COELHO, G. G.; RUSSO, S. L.; SILVA, A. V. C.; LÉDO, A. S.; SÁ, A. J.; MACHADO, C. A. Germinação in vitro de embriões zigóticos e aclimação de plântulas de mangaba oriundas da cultura de embrião (*Hancornia speciosa* Gomes). **Scientia Plena**, Uberlândia, v. 7, n. 11, p. 1-7, 2011.

GEORGE, E. F.; HALL, M. A.; de KLERK, G. J. **Plant propagation by tissue culture – The background**. 3. Ed. Dordrecht, London, Springer, v. 1, 2008, 504p.

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. **Micropropagação**. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. (Eds.). *Cultura de tecidos e transformação genética de plantas*. Brasília, DF: Embrapa-SPI/Embrapa-CNPq, p. 183-260, 1998.

HOAGLAND, D. R.; ARNON, D. I. The water-culture method for growing plants without soil. Circular. **California Agricultural Experiment Station**, Davis, v. 347, n. 2, 1950.

KOCH, I., RAPINI, A., SIMÕES, A. O., KINOSHITA, L. S., SPINA, A. P., CASTELLO, A. C. D. 2015. *Apocynaceae* in **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB15558>. Acesso em 20/07/2023.

LEOPOLD, A. C.; KRIEDEMANN, P. E. **Plant growth and development**. 2ª Ed. McGraw-Hill, New York, 1975.

LLOYD, G.; McCOWN, B. Commercially-feasible micropropagation of Mountain laurel, *Kalmia latifolia*, by use of shoot tip culture. **International Plant Propagation Society Proceedings**, Carlisle, v. 30, n. 1, p. 421-427, 1980.

MARAVILHA, L. F.; TITON, M.; CANGUÇU, V. S.; ROCHA, F. M.; OLIVEIRA, M. L. R. Enraizamento in vitro e aclimação de plântulas de *Corymbia citriodora*. **Pesquisa Florestal Brasileira**, Colombo, v. 43, p.1-10, 2023.

MARINHO, D. G.; ALVIANO, D. S.; MATHEUS, M. E.; ALVIANO, C. S.; FERNANDES, P. D. The latex obtained from *Hancornia speciosa* Gomes possesses anti-inflammatory activity. **Journal of Ethnopharmacology**, County Clare, v. 135, n. 2, p. 530-537, 2011.

MARSHALL, C. A.; HAWTHORNE, W. D. Regeneration Ecology of the Useful Flora of the Putu Range Rainforest, Liberia. **Economy Botany**, New York, v. 66, n. 4. p. 398-412, 2012.

MÁXIMO, W. P. F.; SANTOS, B. R.; MARTINS, J. P. R.; BEIJO, L. A.; BARBOSA, S. Multiplicação e enraizamento *in vitro* de *Handroanthus impetiginosus* (Mart. Ex DC.) Mattos. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 30, n. 3, p. 658-668, 2020.

MÁXIMO, W. P. F.; SANTOS, B. R.; MARTINS, J. P. R.; BEIJO, L. A.; BARBOSA, S. Multiplication and *in vitro* rooting of *Handroanthus impetiginosus* (Mart. Ex DC.) Mattos. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 30, n. 3, p. 658–668, 2020.

MONACHINO, J. A. A revision of *Hancornia* (Apocynaceae). **Lilloa**, Tucumán, v. 1, p. 19-48, 1945.

MOREIRA, L. N.; SILVA, G. C.; CÂMARA, D. V.; PÁDUA, R. M.; LEMOS, V. S.; BRAGA, F. C.; CORTES, S. F. The Cyclitol L-(+)-bornesitol as an active marker for the cardiovascular activity of the brazilian medicinal plant *Hancornia speciosa*. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, Tokyo, v. 42, n. 12, p. 2076-2082, 2019.

NUNES, V. V.; SILVA-MANN, R.; SOUZA, J. L.; CALAZANS. Pharmaceutical, food potential, and molecular data of *Hancornia speciosa* Gomes: a systematic review. **Genetic Resource Crop Evolution**, v. 69, p. 525–543, 2022.

OLIVEIRA, K. S. D.; ALOUFA, M. A. I. Extrativismo e Geração de Renda da Mangaba (*Hancornia Speciosa* Gomes) em Região Litorânea do Rio Grande do Norte. **Revista Brasileira de Agroecologia**, Rio de Janeiro, v. 15, n. 5, p. 291-304, 2020.

OLIVEIRA, K. S.; FREIRE, F. A. M.; ALOUFA, M. A. I. Influência de Reguladores de Crescimento e do Tipo de Explante na Morfogênese *In Vitro* de *Hancornia Speciosa* Gomes. **Revista Desafios**, Palmas, v. 6, n. 4, p. 60–74, 2019.

OLIVEIRA, K. S.; OLIVEIRA, M. S.; PEREIRA, E. C.; LIMA, C.; ALOUFA, S. I.; AHMED, M. Efeito de Diferentes Meios de Cultura na Germinação *in vitro* de Sementes de Mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes). **Revista Árvore**, Viçosa, v. 38, n. 4, p. 601-607, 2014.

PEREIRA, A. C.; PEREIRA, A. B. D.; MOREIRA, C. C.; BOTION, L. M.; LEMOS, V. S.; BRAGA, F. C.; CORTES, S. F. *Hancornia speciosa* Gomes (Apocynaceae) as a potential anti-diabetic drug. **Journal of Ethnopharmacology**, County Clare, v. 161, 30-35, 2015.

PEREIRA, A. V.; PEREIRA, E. B. C.; SILVA JÚNIOR, J. F.; SILVA, D. B. da. ***Hancornia speciosa* (mangaba)**. In: Vieira, R. F., CAMILO, J., CORADIN, L. (Ed.). *Espécies Nativas da Flora Brasileira de Valor Econômico Atual ou Potencial – Plantas para o Futuro – Região Centro-Oeste*. Ministério do Meio Ambiente, Secretaria da Biodiversidade, 2016. Brasília, p. 237-246.

PRUDENTE, D. O.; PAIVA, R.; NERY, F. C.; MÁXIMO, W. P. F.; SILVA, L. C. Indirect *in vitro* organogenesis of *Hancornia speciosa* Gomes. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 32, n. 3, p. 721-729, 2016.

R CORE TEAM. R: A language and environment for statistical computing. **R Foundation for Statistical Computing**, Vienna, 2020.

REIS, L. L. **Propagação De *Hancornia Speciosa* Gomes – Apocynaceae, Por Alporquia E Micropropagação**. 2011, 106 f. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Agronomia) – Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira.

ROHR, R.; HANUS, D. Vegetative propagation of wavy grain sycamore maple. **Canadian Journal of Forest Research**, Ontario, v. 17, p. 418-420, 1987.

SANTOS, U. P.; TOLENTINO, G. S.; MORAIS, J. S.; SOUZA, K. P.; ESTEVINHO, L. M.; SANTOS, E. L. Physicochemical Characterization, Microbiological Quality and Safety, and Pharmacological Potential of *Hancornia speciosa* Gomes. **Hindawi Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, London, v. 2018, ID2976985, 2018.

SILVA, G. C.; BRAGA, F. C.; LEMOS, V. S.; CORTES, S. F. Potent anti-hypertensive effect of *Hancornia speciosa* leaves extract. **Phytomedicine**, Elsevier, v. 23, p. 214–219, 2016.

SILVA-JUNIOR, J. F.; MUNIZ, A. V. C. S.; FERREIRA, E. G.; MOTA, D. M.; ALVES, R. E.; LEMOS, E. E. P. *Hancornia speciosa* – Mangaba. In: **Espécies nativas da flora brasileira de valor econômico atual ou potencial: plantas para o futuro: região Nordeste**. In: CORADIN, L., CAMILLO, J., PAREYN, F. G. C. (Eds.). Ministério do Meio Ambiente, Secretaria de Biodiversidade, p. 177-192, 2018.

SILVEIRA, A. A. D.; LOPES, F. J. F.; SIBOV, S. T. Micropropagation of *Bambusa oldhamii* Munro in heterotrophic, mixotrophic and photomixotrophic systems. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Springer Nature, v. 141, p. 315–326, 2020.

SOARES, F. P.; PAIVA, R.; ALVARENGA, A. A. D.; NERY, F. C.; VARGAS, D. P.; SILVA, D. R. G. Taxa de multiplicação e efeito residual de diferentes fontes de citocinina no cultivo in vitro de *Hancornia speciosa* Gomes. **Ciência e Agrotecnologia de Lavras**, Lavras, v. 35, p. 152-157, 2011.

SOARES, F. P.; PAIVA, R.; ALVARENGA, A. A. D.; NOGUEIRA, R. C.; EMRICH, E. B.; MARTINOTTO, C. Organogênese direta em explantes caulinares de mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes). **Ciência e Agrotecnologia de Lavras**, Lavras, v. 31, p. 1048-1053, 2007.

SOARES, F. S.; LUZ, P. B.; ROCHA, V. L. P.; SOBRINHO, S. P.; SILVA, I. V. Aspectos anatômicos de impedimentos ao enraizamento em estacas caulinares de mangabeira. **Acta Iguazu**, Cascavel, v. 9, n. 1, p. 82-89, 2020.

VIEIRA, M. C.; OLIVIERA, R. M.; FRANÇA, J. B. A.; OLIVEIRA, C. C. P.; SOUZA, E. R. B. In vitro morphogenesis of different mangabeira (*Hancornia speciosa* gomes) varieties from the savanna of the Goiás. **Scientific Electronic Archives**, Rondonópolis, v. 11, n. 5, 2018.

YOKOMIZO, G. KEN-ITI. **Mangabeira e os Principais Aspectos do seu Melhoramento Genético na Embrapa Amapá**. Macapá: Embrapa Amapá, 2015, 25 p.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Protocolos de germinação e multiplicação *in vitro* das variedades botânicas de mangabeira desempenham um importante papel na elucidação de problemas relacionados à micropropagação e regeneração pós-criopreservação. As técnicas desenvolvidas neste estudo representam um avanço significativo para a conservação e manejo sustentável das variedades botânicas da mangabeira, permitindo a produção em larga escala de plantas geneticamente idênticas e garantindo a preservação de genótipos superiores. Esse método é particularmente benéfico para a conservação *ex situ* de variedades ameaçadas, proporcionando uma alternativa viável à coleta de sementes, frequentemente limitada pela variabilidade sazonal e pela disponibilidade de frutos. Além disso, a micropropagação facilita o processo de domesticação e melhoramento genético, permitindo a produção de plantas uniformes e livres de patógenos, essenciais para programas de melhoramento. A uniformidade genética das plantas obtidas por micropropagação acelera a seleção e o desenvolvimento de novas variedades com características agronômicas desejáveis, como maior produtividade, resistência a doenças e adaptação a diferentes condições ambientais. Outro aspecto relevante abordado nesta tese é a contribuição da micropropagação para a redução do extrativismo predatório, que ameaça a espécie no seu habitat natural, como o Cerrado e a Caatinga. Ao fornecer uma fonte sustentável e controlada de plantas, a micropropagação reduz a pressão sobre as populações naturais, ajudando a preservar ecossistemas, essenciais pela sua biodiversidade e serviços ecossistêmicos. Além disso, as respostas diferenciadas das variedades de mangabeira *in vitro* revelam a diversidade da espécie, contribuindo para a discussão sobre a variação genética e morfológica encontrada na natureza. Em suma, a micropropagação oferece múltiplas vantagens para a conservação da espécie, o melhoramento genético e a sustentabilidade ambiental, promovendo práticas agrícolas e conservacionistas mais responsáveis e alinhadas com a preservação dos recursos naturais a longo prazo.