

COMUNICAÇÃO CIENTÍFICA

**AVALIAÇÃO DA APLICAÇÃO EXÓGENA DE POLIAMINAS
NO CRESCIMENTO DE CALOS DE MANGABEIRA
(*Hancornia speciosa* Gomes)¹**CHRYSYTIANE BORGES FRÁGUAS², FABIÓLA VILLA³, GIUSEPPINA PACE PEREIRA LIMA⁴

RESUMO - Este trabalho teve como objetivo estudar o efeito das poliaminas espermidina e espermina no crescimento de calos *Hancornia speciosa* Gomes. Calos com 0,5 cm de diâmetro foram inoculados em meio Murashige & Skoog (1962) (MS) a 50% + 100 mg L⁻¹ de caseína hidrolisada + 200 mg L⁻¹ de levedura de cerveja, variando os tratamentos: A: 1 mmol de espermina + 2 mg L⁻¹ de 2,4-D (ácido 2,4 diclorofenoxiacético) + 0,5 mg L⁻¹ de NAA (ácido naftalenoacético); B: 1 mmol de espermidina + 2 mg L⁻¹ de 2,4-D + 0,5 mg L⁻¹ de NAA; C: 2 mg L⁻¹ de 2,4-D + 0,5 mg L⁻¹ de NAA. Não houve influência das poliaminas no crescimento dos calos. Observou-se, nos calos tratados com espermidina, maior concentração celular de putrescina (582,37 µg g mf⁻¹) aos 60 dias, maior teor de espermidina (502,54 µg g mf⁻¹) e espermina (868,53 µg g mf⁻¹) aos 40 dias de cultivo, quando se aplicou a própria poliamina. Conclui-se que a aplicação exógena de poliaminas em *Hancornia speciosa* não proporciona aumento no crescimento de calos. A oxidação promovida por longos períodos de cultivo *in vitro* induz aumento nos níveis de putrescina.

Termos para indexação: cultura de tecidos, mangabeira, putrescina, espermina, espermidina.

**EVALUATION OF EXOGENOUS APPLICATION OF POLYAMINES
ON CALLUS GROWTH OF MANGABA TREE (*Hancornia speciosa* Gomes)**

ABSTRACT - The effect of polyamines spermine and spermidine in the calluses growth of *Hancornia speciosa* Gomes was studied. Calluses with 0.5 cm diameter were inoculated in Murashige & Skoog (1962) (MS) medium 50% + hidrolized casein 100 mg L⁻¹ + yeast 200 mg L⁻¹, according to the treatments: A: spermine 1 mmol + 2.4-D 2 mg L⁻¹ + NAA 0.5 mg L⁻¹, B: spermidine 1 mmol + 2.4-D 2 mg L⁻¹ + NAA 0.5 mg L⁻¹, C: 2.4-D 2 mg L⁻¹ + NAA 0.5 mg L⁻¹. There was not polyamine influence in the calluses growth. It was observed in the treated calluses with spermidine larger cellular putrescine concentration (582.37 µg g mf⁻¹) at 60 days, larger spermidine concentration (502.54 µg g mf⁻¹) and spermine (868.53 µg g mf⁻¹) at 40 days of cultivation, when the own polyamine was applied. It was concluded that the exogenous polyamine application in *Hancornia speciosa* does not provide an increase in the calluses growth. The oxidation promoted by long periods of *in vitro* cultivation induces an increase in the putrescine levels.

Index terms: tissue culture, mangaba tree, putrescine, spermine, spermidine.

A mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes) é uma planta originária do Brasil e apresenta ampla dispersão geográfica, ocorrendo em diversos ecossistemas, como Amazônico, Mata Atlântica e Cerrado (Donadio et al., 2002). Apesar do grande potencial apresentado pela mangabeira como planta frutífera e até mesmo como produtora de borracha, e face à inexistência de plantios racionais e tecnificados, o extrativismo apresenta-se, atualmente, como única forma de exploração, constituindo-se, assim, numa

grande barreira ao aproveitamento de todas as suas potencialidades.

A forma convencional de propagação desta planta é através de sementes, uma vez que a propagação por estaquia não fornece bons resultados (Espíndola et al., 1993; Vieira Neto, 1994). A utilização da cultura de tecidos para a propagação dessa espécie vem sendo estudada, porém poucos resultados satisfatórios foram relatados, devido às dificuldades intrínsecas da planta. Estudos visando

¹Trabalho 199-08). Recebido em: 28-07-2008. Aceito para publicação em: 21-08-2009.

²Eng. Agro. Doutora em Horticultura – UNESP – Dep. Química e Bioquímica – IB – 18618-000 CP. 510 Botucatu – SP e-mail: chrysbf@gmail.com. Apoio CNPq.

³Eng. Agro. Doutora em Fitotecnia – UFLA – Dep. Agricultura – Universidade Federal de Lavras – Lavras – MG e-mail: fvilla2003@libero.it

⁴Prof. Adjunto Instituto de Biociências – UNESP Dep. Química e Bioquímica – IB – 18618-000 CP. 510 Botucatu – SP e-mail: gpplma@ibb.unesp.br

a aumentar o número de brotações *in vitro* foram realizados por Ribeiro et al. (1998) e Pereira Netto et al. (2003), porém ainda há necessidade da otimização do protocolo para essa espécie.

As poliaminas representam importante papel no estudo da bioquímica e da fisiologia vegetal. Alguns de seus efeitos fisiológicos podem ser citados, tais como crescimento e divisão celular, embriogênese e calogênese, germinação e emergência de plantas, enraizamento e crescimento de plantas, florescimento, senescência, maturação e amadurecimento de frutos (Sena & Castro, 1996). Diversos trabalhos mostram que as poliaminas podem promover o crescimento de células e tecidos, tal como o trabalho de Rajesh et al. (2003), onde relataram que as poliaminas, quando aplicadas durante a indução de calos de *Elaeis guineensis*, aumentam a embriogênese somática. Tang et al. (2004) observaram que a aplicação isolada de espermidina incrementou a formação de brotações e de raízes a partir de calos em pinheirinho de natal e que esta poliamina, isolada ou combinada com putrescina, pode promover o crescimento de calos.

Lovaas (1996) relata a importância das poliaminas na proteção celular das plantas contra danos oxidativos, pois são geralmente induzidas em resposta à condições de estresse. Tang & Newton (2004) verificaram que o conteúdo de poliaminas, presente nos calos não oxidados de *Pinus virginiana*, manteve-se ao longo dos 35 dias de cultivo, o que não ocorreu nos calos oxidados, demonstrando que as poliaminas foram efetivas em proteger as células e tecidos da oxidação, como também relatado por Debiasi et al. (2007). As poliaminas atuam como colaboradoras na recuperação da oxidação, além de dar condições para melhorar o crescimento, a formação de brotos e o enraizamento em pínus (Tang et al., 2004). Assim, este trabalho teve como objetivo estudar o efeito das poliaminas espermidina e espermina no crescimento de calos *Hancornia speciosa* Gomes.

Calos com 0,5 cm de diâmetro foram retirados da base das plântulas (cultivadas em meio de cultura MS + 2 mg L⁻¹ de 6-benzilaminopurina (BAP) + 0,5 mg L⁻¹ de ácido naftalenoacético (NAA)) e inoculados em meio MS (Murashige & Skoog, 1962) a 50% + 100 mg L⁻¹ de caseína hidrolisada + 200 mg L⁻¹ de levedura de cerveja, variando os seguintes tratamentos: A: 1 mmol de espermina (SPM) + 2 mg L⁻¹ de 2,4-D + 0,5 mg L⁻¹ de NAA; B: 1 mmol de espermidina (SPD) + 2 mg L⁻¹ de 2,4-D + 0,5 mg L⁻¹ de NAA, e C: 2 mg L⁻¹ de ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D) + 0,5 mg L⁻¹ de NAA.

O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado, com 5 repetições e 5 calos por repetição. A análise estatística foi realizada pelo programa

Sisvar (Ferreira, 2000) através do teste de média Skott-Knott. Foram realizadas três avaliações de crescimento (diâmetro), usando um paquímetro digital, a cada 20 dias e, aos 40 e 60 dias de cultivo, foram quantificadas as poliaminas presentes nos calos (putrescina = PUT, espermina = SPM e espermidina = SPD) de acordo com o método proposto por Flores & Galston (1982), modificado por Lima et al. (2006).

A formação dos calos na base dos explantes, cultivados em meio MS + 2 mg L⁻¹ de BAP + 0,5 mg L⁻¹ de NAA, iniciou-se aos 15 dias. Quando esses calos atingiram 0,5 cm de diâmetro (aos 30 dias), foram destacados da base das plântulas e inoculados em meio MS (Murashige & Skoog, 1962) a 50% + 100 mg L⁻¹ de caseína hidrolisada + 200 mg L⁻¹ de levedura de cerveja, variando os diferentes tratamentos. Em todos os tratamentos, os calos apresentavam uma parte oxidada (20%) (dados não apresentados).

Para o crescimento dos calos (Tabela 1), nota-se que não houve diferença estatística nem entre os tratamentos, nem durante o período experimental; entretanto, os melhores resultados foram observados nos tratamentos com espermina. Mesmo não ocorrendo diferença significativa, a maior média para diâmetro dos calos (1,366 cm) foi verificada no tratamento com espermina, e a menor (1,132 cm) quando se utilizou espermidina. A diferença entre a aplicação das poliaminas e 2,4-D foi diminuindo ao longo do tempo, como se observou aos 60 dias, quando essa diferença estava em apenas 0,02 cm. Isso, provavelmente, foi devido à possível interação das poliaminas com o 2,4-D, favorecendo o desenvolvimento celular. Galston & Kaur-Sawhney (1990) citam que as poliaminas têm papel vital na mediação da ação de reguladores e divisão celular, entre outras funções.

Bagni et al. (1980) verificaram que os níveis endógenos de poliaminas, em tubérculos dormentes de *Helianthus tuberosus*, limitavam o crescimento enquanto a aplicação de 2,4-D ativou a biosíntese de poliaminas, síntese de macromoléculas e o crescimento, demonstrando que as poliaminas exógenas podem ser substituídas pela auxina, para esta resposta. Esse crescimento dos calos, promovido pela presença de poliaminas, mesmo em calos oxidados, pode ser atribuído ao efeito protetor das poliaminas quando adicionadas exogenamente, agindo contra o estresse oxidativo (Tang et al., 2004).

O alto valor encontrado para espermina (Tabela 2), aos 40 dias, pode ter sido provavelmente devido à própria poliamina aplicada exogenamente. Nota-se que a aplicação de auxinas (2,4 D + NAA) induziu a aumento no teor dessa poliamina, aos 60 dias, se comparado com os dados obtidos aos 40

dias. O teor observado aos 40 dias (868,53 $\mu\text{g g mf}^{-1}$) no tratamento em que se aplicou espermina, pode ser atribuído ao aumento de células, devido ao próprio crescimento, pois tanto espermina como espermidina são substâncias relacionadas diretamente com a divisão celular por estarem envolvidas com o DNA (Flores & Galston, 1982). A diminuição do teor de espermina aos 60 dias, no tratamento com espermina, pode ser devido à conversão dessa poliamina em espermidina ou espermina, já que alguns trabalhos mostram que essa conversão é possível, principalmente em situações de longos cultivos, o que ocasiona um estresse, promovendo geralmente um aumento de putrescina (Agazio et al., 1995).

Verificou-se maior teor de espermidina nos calos (502,54 $\mu\text{g g mf}^{-1}$) aos 40 dias de cultivo, quando se aplicou a própria poliamina, semelhante ao encontrado para espermina, diferenciando-se dos demais tratamentos nessa mesma época. Porém, quando comparado com os teores obtidos aos 60 dias, não se constatou diferença estatística entre os tratamentos com espermidina (495,38 $\mu\text{g g mf}^{-1}$) e 2,4 D +NAA (484,97 $\mu\text{g g mf}^{-1}$). Martin-Tanguy et al. (1988) relatam que a aplicação de 2,4 D e BA em tecidos de *Nicotiana tabacum* aceleraram o crescimento e ativaram a biossíntese de poliaminas, fato que ocorreu também neste trabalho com a aplicação de 2,4 D + NAA. As enzimas que participam do metabolismo das poliaminas, tais como espermidina sintetase e espermina sintetase, podem ser reguladas pela aplicação exógena de reguladores, tais como auxinas ou cinetinas (Liu et al., 1997). NAA ou cinetina poderiam regular as enzimas do metabolismo de poliaminas através da ativação de genes que codificam essas enzimas (McClure & Guilfoyle, 1989).

Aumentos no conteúdo de poliaminas podem ser correlacionados com o crescimento rápido das células (fase log) (Evans & Malmberg, 1989). Neste trabalho, nota-se, pelo comportamento dos calos, que a aplicação de 2,4 D e NAA induziram maiores aumentos no crescimento, quando comparados com as poliaminas aos 60 dias. Assim, pode-se correlacionar o aumento promovido pelas auxinas ao maior teor de espermidina observado, já que esta poliamina está relacionada diretamente com o crescimento, divisão celular e DNA (Bouchereau et al., 1999).

Maior concentração celular de putrescina (582,37 $\mu\text{g g mf}^{-1}$) foi observada aos 60 dias de cultivo *in vitro*, no tratamento com espermidina (Tabela 2), diferindo significativamente do tratamento aos 40 e 60 dias. Esses calos estavam escurecidos, apresentando sinais de oxidação. Esse efeito

observado pode ser devido, possivelmente, à época de análise, pois os calos permaneceram no mesmo meio de cultura por dois meses, sem troca, o que pode ter induzido um estresse, causando dessa forma aumento desta diamina. Esse aumento pode ter ocorrido também como uma proteção da planta contra o estresse oxidativo observado nos calos através do escurecimento das células.

Nota-se uma participação das poliaminas usadas no comportamento *in vitro* de mangaba, já que essas substâncias parecem atuar nos padrões oxidativos de cultura de células e tecidos (Debiasi et al., 2007). A oxidação dos tecidos é uma característica típica em cultura de calos derivados de explantes maduros, na maioria das plantas lenhosas. Esse processo reduz o crescimento de calos e inibe a formação de brotações adventícias (Laukkanen, 1999 e 2000). De forma semelhante, Tang & Newton (2004) observaram que a oxidação reduziu o crescimento dos calos, a formação de brotações e raízes adventícias em *Pinus virginiana*. Além disso, a aplicação de espermina e espermidina pode ter alterado a rota ABAL (σ -amino butiraldeído), promovendo aumento nos teores de putrescina, como descrito por Agazio et al. (1995), demonstrando que espermidina pode ser convertida a putrescina, e a espermina também pode entrar na rota de interconversão, e as poliaminas não somente atuam como colaboradoras na recuperação da oxidação, mas também no crescimento, formação de brotos e enraizamento (Tang et al., 2004; Debiasi et al., 2007).

A conversão de espermidina ou espermina para putrescina não tem sido bem demonstrada em plantas (Caffaro et al., 1993; Bouchereau et al., 1999), porém em células animais, fungos e vermes, esta conversão ocorre via acetilespermidina ou acetilespermina, as quais são degradadas por poliaminas oxidases (PAO), que em plantas parece não mostrar atividade para converter espermina e espermidina e seus acetilderivados em espermidina e putrescina, respectivamente (Kobayashi et al., 1983; Wittich et al., 1987; Seiler, 1988; Tiburcio et al., 1997). Esse processo poderia ser relevante na regulação de poliaminas endógenas e, como consequência, em processos fisiológicos envolvendo poliaminas.

A aplicação exógena de poliaminas em *Hancornia speciosa* não proporciona aumento no crescimento de calos. A oxidação promovida por longos períodos de cultivo *in vitro* induz aumento nos níveis de putrescina.

TABELA 1 - Influência da aplicação exógena de espermidina e espermina no crescimento dos calos (diâmetro, cm) de mangabeira (*Hancornia speciosa*).

DIAS	Espermina	Espermidina	2,4 D + NAA
20	1,366 a A	1,132 a A	1,239 a A
40	1,446 a A	1,239 a A	1,353 a A
60	1,459 a A	1,412 a A	1,479 a A

Médias seguidas por mesma letra minúscula, nas colunas, e maiúscula, nas linhas, não diferem significativamente entre si, pelo teste de Scott-Knott, ao nível de 5% de probabilidade.

TABELA 2 - Teor de poliaminas endógenas de calos de mangabeira (*Hancornia speciosa*).

		SPM ($\mu\text{g g}^{-1}$)	SPD ($\mu\text{g g}^{-1}$)	PUT ($\mu\text{g g}^{-1}$)
40 DIAS	SPM	868,53 a	168,18 b	198,21 a
	SPD	141,66 b	502,54 a	307,44 a
	2,4 D + NAA	57,19 b	127,17 b	133,83 a
60 DIAS	SPM	488,49 a	135,27 b	201,91 b
	SPD	266,48 a	495,39 a	582,37 a
	2,4 D + NAA	317,35 a	484,97 a	211,08 b

Médias seguidas por mesma letra minúscula, na coluna, nos períodos avaliados, para cada tratamento entre 40 e 60 dias, não diferem significativamente entre si, pelo teste de Scott-Knott, ao nível de 5% de probabilidade.

REFERÊNCIAS

- AGAZIO, M.; ZACCHINI, M.; FEDERICO, R.; GREGO, S. Putrescine accumulation in maize roots treated with spermidina: evidence for spermidina to putrescina conversion. **Plant Science**, Shannon, v.11, p.181-185, 1995.
- BAGNI, N.; MALUCELLI, B.; TORRIGIANI, P. Polyamines, storage substances and abscisic acid-like inhibitors during dormancy and very early activation of *Helianthus tuberosus* tuber tissues. **Physiologia Plantarum**, Dordrecht, v.49, p.341-345, 1980.
- BOUCHEREAU, A.; AZIZ, A.; LARHER, F.; TANGUY, J.M. Polyamines and environmental challenges: recent development. **Plant Science**, Shannon, v.140, p.103-125, 1999.
- CAFFARO, S.; SCARAMAGLI, S.; ANTOGNONI, F.; BAGNI, N. Polyamine content and translocation in soybean plants. **Journal Plant Physiology**, Stuttgart, v.141, p. 563-568, 1993.
- DEBIASI, C.; FRÁGUAS, C.B.; LIMA, G.P.P. Estudo das poliaminas na morfogênese *in vitro* de *Hemerocallis* sp. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.37, n.4, p.1014-1020, 2007.
- DONADIO, L.C.; MÔRO, F.V.; SERVIDONE, A.A. **Frutas brasileiras**. Jaboticabal: Editora Novos Tempos, 2002. 288 p.
- ESPÍNDOLA, A.C. de M.; FRANÇA, E.A.; NASCIMENTO JÚNIOR, N.A. Efeito da profundidade de plantio e misturas de substratos na germinação e vigor das mudas de mangabeira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.14, n.3, p.165-168, 1993.
- EVANS, P.T.; MALMBERG, R.L. Do polyamines have roles in plant development? **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v. 40, p. 235-242, 1989.
- FERREIRA, D. F. Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4. 0. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45. , 2000, São Carlos. **Anais. . .** São Carlos: UFSCar, 2000. p. 255-258.
- FLORES, H.E.; GALSTON, A.W. Analysis of polyamines in higher plant by high performance liquid chromatography. **Plant Physiology**, Bethesda, v.69, n.3, p.701-706, 1982.
- GALSTON, A.W.; KAUR-SAWHNEY, R. Polyamines in plant physiology. **Plant Physiology**, Bethesda, v.94, p.406-410, 1990.
- KOBAYASHI, Y.; HIGASHI, O.; MACHIBA, M.; IWASAKI, S.; MORIKOSHI, K. Oxidation of acetyl-polyamines by extracellular polyamine oxidase produced by *Penicillium*. **Biochimica et Biophysica Acta**, Amsterdam, v.743, p.431-436, 1983.

- LAUKKANEN, H.; HAGGMAN, H.; KONTUNEN-SOPPELA, S.; HOHTOLA, A. Tissue browning of *in vitro* cultures of Scots pine: role of peroxidase and polyphenol oxidase, **Plant Physiology**, Bethesda, v.106, p.337–343, 1999.
- LAUKKANEN, H.; RAUTIAINEN, L.; TAULAVUORI, E.; HOHTOLA, A. Changes in cellular structures and enzymatic activities during browning of Scots pine callus derived from mature buds. **Tree Physiology**, Victoria, v.20, p.467–475, 2000.
- LIMA, G.P.P.; ROCHA, S.A.; TAKAKI, M.; RAMOS, P.R.R. Polyamines contents in some foods from Brazilian population basic diet. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.36, p.1294-1298, 2006.
- LIU, Z.; WANG, W.; YAN, S. Effect of hormone treatment on callus formation and endogenous indoleacetic acid and polyamine contents of soybean hypocotyl cultivated *in vitro*. **Botanical Bulletin Academic Sinica**, Taipei, v.38, p.171–176, 1997
- LOVAAS, E. Antioxidant and metal-chelating effects of polyamines. In: SIES, H. (Ed.). **Advances in pharmacology: antioxidants in disease mechanisms and therapy**. New York: Academic Press, 1996. v. 38, p.119–149.
- MCCLURE, B.A.; GUILFOYLE, T. Rapid redistribution of auxin-regulated RNAs during gravitropism. **Science**, Washington, v.243, n. 4887, p. 91-93, 1989.
- MARTIN-TANGUY, J.; MARTIN, C.; PAYNOT, M.; ROSSIN, N. Effect of hormone treatment on growth bud formation and free amine and hydroxycinnamoyl putrescine levels in leaf explant of *Nicotiana tabacum* cultivated *in vitro*. **Plant Physiology**, Bethesda, v.88, p.600-604, 1988.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 15, n. 3, p. 473-497, 1962.
- PEREIRA-NETTO, A.B.; McCOWN, B.H.; PHARIS, R.P. Inhibition of growth of microcultured *Hancornia speciosa* shoots by 3 β -hydroxylated gibberellins and one of their C-3 deoxy precursors. **Plant Cell Reports**, Berlin, v.21, p.491-496, 2003.
- RAJESH, M.K.; RADHA, E.; KARUN, A.; PARTHASARATHY, V.A. Plant regeneration from embryo-derived callus of oil palm – the effect of exogenous polyamines. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Dordrecht, v.75, n.1, p.41-47, 2003.
- RIBEIRO, D.G.; AMARAL, do. L.I.V.; CALDAS, L.S.; GRIGOLETTO, E.R. Efeito do carvão ativo no desenvolvimento de explantes de mangaba em meio de multiplicação. In: CONGRESSO NACIONAL DE BOTÂNICA, 49., 1998, Salvador. **Anais...** Salvador: SBB, 1998. p.174.
- SENA, J.O.A.; CASTRO, P.R.C. **Poliaminas: aspectos fisiológicos e importância para as plantas**. 1996, 41p. (Apontamentos, 46)
- SEILER, N. Potential roles of polyamine interconversion in the mammalian organism. In: ZAPPIA, V.; PEGG, A. (Eds.). **Progress in polyamine research**. New York: Plenum Press, 1988. p.127-145.
- TANG, W.; NEWTON, R.J. Increase of polyphenol oxidase and decrease of polyamines correlate with tissue browning in Virginia pine (*Pinus virginiana* Mill.). **Plant Science**, Shannon, v.167 p.621–628, 2004.
- TANG, W.; NEWYON, R.J.; OUTHAVONG, V. Exogenously added polyamines recover browning tissues into normal callus cultures and improve plant regeneration in pine. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.122, p.386-95, 2004
- TIBURCIO, A.F.; ALTABELA, T.; BORREL, A.; MASGRAU, C. Polyamine metabolism and its regulation. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.100, p.664-674, 1997.
- VIEIRA NETO, R.D. **Cultura da mangabeira**. Aracaju: Embrapa – CPATC, 1994. 16p. (Circular Técnica, 2)
- WITTICH, R.M.; KILIAN, H.D.; WALTER, R.D. Polyamine metabolism in filarial worms. **Molecular and Biochemical Parasitology**, Amsterdam, v.24, p.155-162, 1987