

Efeito do tipo de ramo e do regime de luz fornecido à planta matriz no estabelecimento *in vitro* de araçazeiro cv. "Irapuã"

Effect of the branch type and light regimen provided to the donors-plant in the *in vitro* establishment of araçazeiro cv. Irapuã

Joseane Almeida de Souza^{1*} Márcia Wulff Schuch² Luciane Couto da Silva¹

- NOTA -

RESUMO

Este trabalho objetivou avaliar o efeito do regime de luz submetido à planta matriz e do tipo de ramo utilizado no estabelecimento *in vitro* de araçá cultivar "Irapuã". O meio de cultura utilizado foi o MS acrescido de 5µM de BAP. Segmentos nodais retirados de ramos herbáceos e semilenhosos, contendo uma gema, de plantas mantidas no escuro durante 15 dias e de plantas mantidas sob luz, foram inoculados em tubo de ensaio contendo 10mL de meio. Após a inoculação, os explantes foram submetidos ao escuro sob temperatura de 25 ± 2°C por um período de 7 dias e, em seguida, transferidos para sala de crescimento com 16 horas de fotoperíodo, radiação de 27µmol m⁻² s⁻¹ e a mesma temperatura. Aos 7, 14 e 21 dias de cultivo, avaliou-se a percentagem de contaminação fúngica e bacteriana, além da percentagem de explantes oxidados. Aos 30 e 45 dias de cultivo, além das variáveis analisadas anteriormente, foram avaliados a sobrevivência e o estabelecimento dos explantes. Os resultados permitiram concluir que o ramo herbáceo apresentou menores taxas de contaminações fúngica e bacteriana, apresentando maiores percentagens de sobrevivência dos explantes quando as plantas matrizes foram mantidas no escuro.

Palavras-chave: *Mirtáceae*, *Psidium*, micropropagação, estiolamento.

ABSTRACT

The objective of this research was to evaluate the effect of the light regimen submitted to the donors-plant and the branch type used in the *in vitro* establishment of the araçazeiro, cultivar Irapuã. The culture medium used was MS added of 5µM of BAP. Nodal segments removed from herbaceous and semi-woody branches containing one bud of plants maintained in the darkness during 15 days and plants

maintained in light were inoculated in test tube containing 10mL of culture medium. After inoculation, the explants were subjected to the dark room for seven days at temperature of 25 ± 2°C and then transferred to a growth room in a 16 - hour photoperiod, 27µmolm⁻²s⁻¹ radiation and at 25 ± 2°C. At the 7th, 14th and 21st days of cultivation, the fungal and bacterial contamination and explant oxidation percentages were evaluated. At the 30th and 45th days of cultivation, besides variables previously analyzed, the survival rate and establishment of explants were evaluated. In conclusion, herbaceous branches present lower fungal and bacterial contamination rates and higher survival rates of explants when donors-plants were maintained in the dark.

Key words: *Myrtaceae*, *Psidium*, micropropagation, estiolation.

O araçá é uma fruteira nativa da América do Sul, pertencente à família Mirtácea, gênero *Psidium* (RASEIRA & RASEIRA, 1996). No Brasil, o araçazeiro é cultivado em área praticamente insignificante, mas, segundo FRANZON (2004), está entre as espécies nativas do Sul do País que, em curto prazo, têm maior potencial para exploração econômica devido à possibilidade de os frutos serem comercializados na forma *in natura* ou para industrialização.

O araçazeiro é considerado de difícil propagação vegetativa e, por este motivo, o método de propagação mais utilizado é via sementes (DONADIO et al., 2002). Porém, a cultura de tecidos, mediante a micropropagação, pode ser uma alternativa

¹Programa de Pós-graduação em Agronomia, área de concentração em Fruticultura de Clima Temperado, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel (FAEM), Universidade Federal de Pelotas (UFPEL), CP 354, 96010-900, Pelotas, RS, Brasil. *E-mail: joseas@ufpel.tche.br Autor para correspondência.

²Departamento de Fitotecnia, FAEM/UFPEL, CP 354, 96010-900, Pelotas, RS, Brasil. E-mail: marciaws@ufpel.tche.br.

viável na produção comercial de mudas, produzindo plantas com elevada qualidade sanitária durante todo o ano.

O estabelecimento *in vitro*, principalmente no caso de espécies lenhosas, como a maioria das plantas frutíferas, apresenta dois sérios problemas: a contaminação e a oxidação dos explantes. Um tratamento que pode ser dado à planta matriz é o estiolamento dos ramos, pois as plantas lenhosas, sendo mantidas à plena luz, estariam sintetizando maior quantidade de fenóis, os quais intoxicam os explantes ao se oxidarem *in vitro* (GRATTAPAGLIA & MACHADO, 1998).

O estado fisiológico da planta de onde são retirados os explantes também afeta o estabelecimento *in vitro*, e a sua retirada deve ser feita de preferência a partir de brotações novas, que são formadas durante a fase ativa de crescimento de plantas bem nutridas (GRATTAPAGLIA & MACHADO, 1998). Segundo FACHINELLO et al. (1995), estacas herbáceas apresentam alta atividade meristemática e baixo grau de lignificação, enquanto as semilenhosas são mais lignificadas. Quanto mais lignificadas, maior a dificuldade de enraizamento na propagação convencional por estaquia, também influenciando no estabelecimento *in vitro* de segmentos nodais.

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do regime de luz submetido à planta matriz e do tipo de ramo utilizado no estabelecimento *in vitro* de araquá cultivar "Irapuã".

O trabalho foi realizado no Laboratório de Micropropagação de Plantas Frutíferas, Departamento de Fitotecnia da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, da Universidade Federal de Pelotas, RS. O material vegetal utilizado foram mudas de araquá cultivar "Irapuã", cedidas pela Embrapa Clima Temperado.

Os tratamentos constituíram-se de dois regimes de luz aplicados às plantas matrizes na casa de vegetação (escuro, durante 15 dias, e sob luz) e dois tipos de ramos doadores de explantes (semilenhoso e herbáceo). Utilizou-se o delineamento experimental inteiramente casualizado em esquema fatorial (2 x 2), totalizando quatro tratamentos, com quatro repetições de cinco explantes.

Os explantes constituíram-se de segmentos nodais extraídos de material cultivado em casa de vegetação. Visando a diminuir a contaminação *in vitro*, as mudas foram pulverizadas em intervalo de sete dias por duas semanas consecutivas, com o antibiótico Agrimicina (Estreptomycina) e o fungicida Cercobin, nas doses de 2,4 e 0,7g L⁻¹, respectivamente.

Na coleta do material, os ramos foram cortados com comprimento de aproximadamente 30cm

e levados no escuro até o laboratório, onde permaneceram por cerca de três minutos em água corrente. Logo após isso, foi feita a toailete, segmentando-se os ramos e eliminando-se as folhas na altura do pecíolo. Em seguida, segmentos de 10cm foram desinfestados em câmara de fluxo laminar, em álcool 70%, por 10 segundos. Após isso foram imersos em uma solução de hipoclorito de sódio (concentração de 2,5% de cloro ativo), adicionada de duas gotas de Tween 20®, pelo período de 10 minutos, e, em seguida, lavados por três vezes em água destilada e autoclavada.

O meio de cultura utilizado foi o MS (MURASHIGE & SKOOG, 1962), acrescido de 5µM de BAP, sendo o pH ajustado para 5,8 antes da inclusão do ágar na concentração de 6g L⁻¹ e, posteriormente, autoclavado a 121°C e 1,5atm por 20 minutos. Foram utilizados tubos de ensaio com 10mL de meio de cultura.

Após a inoculação, os explantes permaneceram no escuro por um período de sete dias, visando a diminuir a oxidação fenólica. Em seguida, foram transferidos para sala de crescimento com fotoperíodo de 16 horas, temperatura de 25 ± 2°C e densidade de fluxo de fótons do período de luz de 27µmol m⁻² s⁻¹.

Aos 7, 14 e 21 dias de cultivo, foram avaliados as percentagens de contaminações fúngica e bacteriana, além da percentagem de explantes oxidados. Aos 30 e 45 dias de cultivo, além das variáveis analisadas anteriormente, foram avaliadas as percentagens de sobrevivência e de estabelecimento dos explantes. A sobrevivência foi indicada pela coloração verde do explante e o estabelecimento determinado pelo desenvolvimento dos primórdios foliares no explante.

Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias dos tratamentos comparadas estatisticamente pelo teste de Duncan. Os dados foram transformados em arco seno da raiz quadrada de x/100, onde x é o percentual obtido.

A análise da variância permitiu verificar que, para as percentagens de contaminação fúngica e de oxidação, o tipo de ramo mostrou resultados altamente significativos (α=0,01), sendo que o ramo herbáceo apresentou menor contaminação e maior oxidação que o semilenhoso (Tabela 1). Pode-se destacar, com este resultado, que a utilização de segmentos nodais obtidos de ramos em crescimento ativo é preferível para o estabelecimento *in vitro*, visto que os explantes apresentam menor contaminação fúngica, crescimento mais rápido e maior taxa de sobrevivência. A oxidação e contaminação são problemas no estabelecimento *in vitro* de espécies nativas, em função de suas características peculiares (SATO et al., 2001). JOSHEE

Tabela 1 - Percentagens de contaminações fúngica e bacteriana, de oxidação, de sobrevivência e de estabelecimento observadas em explantes de araquá "Irapuã" após 45 dias de cultivo *in vitro*. UFPel, Pelotas, RS. 2005.

Variável	Regime de luz		Tipo de ramo	
	Com luz	Escuro por 15 dias	Semi-lenhoso	Herbáceo
Contaminação fúngica	-	-	72,83a	20,88b
Contaminação bacteriana	97,50a*	84,80b	99,00a	80,37b
Oxidação	-	-	0,02b	2,82a
Sobrevivência	1,34b	11,44a	0,34b	15,38a
Estabelecimento	8,01a	0,75b	0,00b	13,35a

*Médias não seguidas de letras iguais na horizontal, dentro de cada tratamento, diferem pelo teste de Duncan em nível de 5% de probabilidade de erro.

et al. (2004) não observaram exudação fenólica em embriões de goiaba incubados no escuro a uma temperatura de 18-20°C durante 2-3 semanas.

Para percentagem de contaminação bacteriana, verificou-se que o fotoperíodo e o tipo de ramo utilizado apresentaram efeito altamente significativo. O desdobramento das médias pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade permitiu comprovar que os explantes coletados de plantas matrizes mantidas no escuro e de ramos herbáceos apresentaram menor contaminação bacteriana (Tabela 1).

Para a percentagem de sobrevivência e estabelecimento dos explantes, a análise da variância permitiu verificar que o regime de luz e o tipo de ramo utilizado foram altamente significativos ($\alpha=0,01$). O desdobramento das médias pelo teste de Duncan mostrou que explantes retirados de plantas matrizes que foram mantidas no escuro e explantes provenientes de ramos herbáceos apresentaram maiores percentagens de sobrevivência (Tabela 1). Resultados semelhantes foram encontrados por MEGHWAL et al. (2001), observando que o estiolamento parcial de dois genótipos de goiaba (*Psidium guajava* L.), antes da excisão do explante, resultou em brotação precoce e ocasionou um aumento significativo na sobrevivência do explante.

O tipo de ramo herbáceo apresentou menores contaminações fúngica e bacteriana, resultando num maior percentual de sobrevivência e estabelecimento das plantas. O escuro, por sua vez, possibilitou maior percentagem de sobrevivência dos explantes.

AGRADECIMENTOS

Ao Ministério da Ciência e Tecnologia-Conselho Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Rio Grande do Sul, pelo apoio financeiro.

REFERÊNCIAS

- DONADIO, L.C. et al. **Frutas brasileiras**. Jaboticabal: Novos Talentos, 2002. 288p.
- FACHINELLO, J.C. et al. **Propagação de plantas frutíferas de clima temperado**. 2.ed. Pelotas: UFPel, 1995. 179p.
- FRANZON, R.C. **Caracterização de mirtáceas nativas do sul do Brasil**. 2004. 114f. Dissertação (Mestrado em Fruticultura de Clima Temperado) – Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas.
- GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M.A. Micropropagação. In: TORRES, A.C. et al. **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: Embrapa-SPI/Embrapa-CNPq, 1998. p.183-260.
- JOSHEE, N. et al. *In vitro* shoot bud induction and plantlet regeneration in guava as influenced by genotype. **Acta Horticulturae**, Wageningen, v.632, p.279-285, 2004.
- MEGHWAL, P.R. et al. Effect of stock plant etiolation on *in vitro* phenol exudation during culture establishment of guava (*Psidium guajava* L.). **Indian Journal of Horticulture**, Índia, v.58, n.4, p.328-331, 2001.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and biosay with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Kobenhavn, v.15, p.473-497, 1962.
- RASEIRA, M.C.B.; RASEIRA, A. **Contribuição ao estudo do araçazeiro, *Psidium cattleianum***. Pelotas: Embrapa-CPACT, 1996. 95p.
- SATO, A.Y. et al. Micropropagação de *Celtis* sp: controle da contaminação e oxidação. **Cerne**, Lavras, v.7, n.2, p.117-123, 2001.