

## INFLUÊNCIA DO CARVÃO ATIVADO E DO AG<sub>3</sub> NO CRESCIMENTO *IN VITRO* DE AMEIXEIRA 'AMÉRICA'

**THUROW, Liane Bahr<sup>1</sup>\*; DE CONTI, Daniela<sup>1</sup>; BIANCHI, Valmor João<sup>1</sup>.**

*1-Laboratório de Cultura de Tecidos de Plantas, Departamento de Botânica – IB/UFPel, Campus Universitário, Caixa Postal 354, CEP 96010-900, \*(lianepel@yahoo.com.br)*

### 1- INTRODUÇÃO

A fruticultura de clima temperado apresenta grande importância no contexto da produção mundial de frutas. Dentre as principais espécies frutíferas de clima temperado exploradas no país destaca-se a ameixeira japonesa (*Prunus salicina* Lindl.). É uma das plantas frutíferas que mais se difundiu nos últimos anos, sendo cultivada em diferentes condições climáticas, devido às várias espécies existentes resultantes de hibridações ocorridas ao longo do desenvolvimento da cultura (CASTRO, 2003).

Esta espécie possui grande potencial para ampliação da área cultivada, tendo em vista que o volume produzido é insuficiente para atender a demanda do mercado consumidor que destina-se, na quase totalidade, ao consumo *in natura*, apresentando boas perspectivas de exportação. Os frutos prestam-se também ao aproveitamento industrial, em forma de passas, geléias, licores e destilados (CHAGAS et al., 2006).

Dentre as cultivares adaptadas a região sul do país, a cv. América é considerada uma das preferidas, devido às suas características organolépticas, porém, esta apresenta grande flutuação na produtividade por ser uma cultivar autoincompatível, pela susceptibilidade a bacterioses e baixa qualidade do material propagativo (RASEIRA, 2003).

A micropropagação permite a multiplicação clonal de plantas em larga escala, com alta qualidade genético-sanitária para a implantação de pomares, além de fornecer material para experimentos de regeneração, que é uma etapa crucial para o melhoramento via transformação genética, almejando selecionar novos genótipos com características de interesse (BANDEIRA, 2010).

Diversos estudos de propagação com ameixeira comprovaram que meios contendo citocinina e auxina induzem brotações muito pequenas, com aspecto de roseta, ocasionando baixo percentual de enraizamento quando transferidas para meio de enraizamento, originando mudas de baixa qualidade para a fase de aclimatização (SILVA, 2004). Entretanto, uma das formas de estimular o crescimento das brotações é através da adição do ácido giberélico (AG<sub>3</sub>) ao meio de cultura, o qual estimula a expansão e alongamento celular (MÉTRAUX, 1987), proporcionando o aumento do comprimento de entrenós de plantas e o alongamento de brotações (VIEIRA; MONTEIRO, 2002).

Além dos reguladores de crescimento, o carvão ativado (CA) é usado frequentemente em cultura de tecidos para melhorar o crescimento e desenvolvimento celular, pois tem uma rede muito fina de poros com grande superfície interna em que muitas substâncias podem ser absorvidas. Alguns pesquisadores acreditam que o CA pode liberar gradualmente certos produtos adsorvidos, tais como nutrientes e reguladores de crescimento, que se tornam disponíveis para as plantas (THOMAS, 2008).

Baseado no pressuposto, o presente trabalho teve por objetivo desenvolver um protocolo de micropropagação de *P. salicina* 'América', visando o alongamento das brotações pelo uso do  $AG_3$  e carvão ativado, para futuros trabalhos de regeneração de plantas para transformação genética.

## 2- MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi desenvolvido na Universidade Federal de Pelotas, no ano de 2011. Segmentos nodais de brotações da cultivar América, com aproximadamente 5 mm de comprimento, oriundos do cultivo *in vitro* foram inoculados em meio MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962) suplementado com  $AG_3$  nas concentrações de 1,0; 2,0 e 3,0 mg L<sup>-1</sup>, com e sem CA (1g L<sup>-1</sup>), formando um fatorial 3X2. O pH do meio foi ajustado para 5,8 e autoclavado a 121°C por 20 minutos. O material foi mantido em sala de crescimento com temperatura de 25 ± 2 °C, fotoperíodo de 16 horas de luz e densidade de fluxo de fótons de 48 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>.

Após 40 dias, foram avaliados os seguintes parâmetros: altura média das brotações (cm), número de gemas e brotos por explante, massa fresca e massa seca das brotações. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com seis tratamentos e quatro repetições, sendo cada repetição representada por um frasco contendo cinco explantes. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância através do software WinStat 2.0 (MACHADO; CONCEIÇÃO, 2003) e as médias comparadas pelo teste de Tukey com 5% de probabilidade de erro.

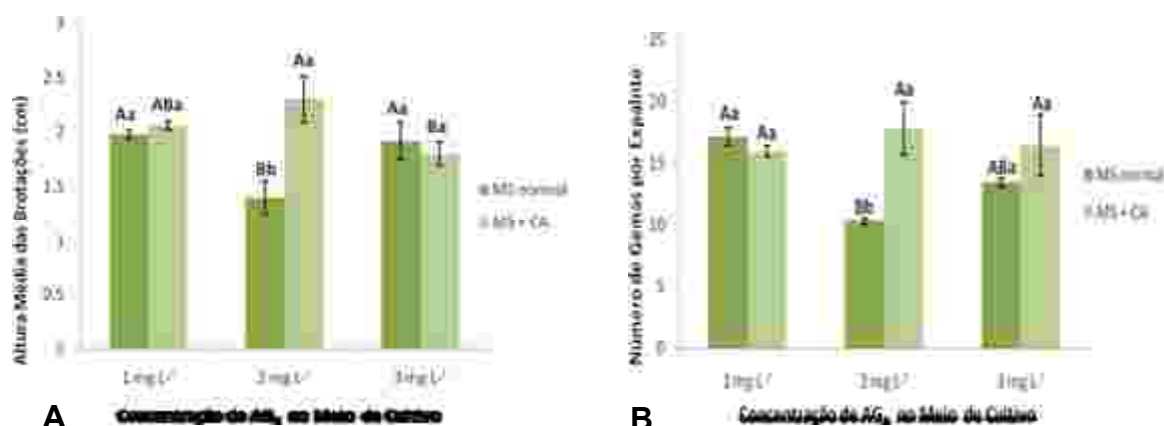
## 3 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com base na análise de variância, para a altura média das brotações, verificou-se interação entre os fatores estudados, sendo que as maiores médias foram obtidas em meios suplementados com CA e 2 mg L<sup>-1</sup> de  $AG_3$  (Figura 1A). Resultados semelhantes foram encontrados por Guerra et al. (2003), na multiplicação *in vitro* de *Prunus persica*, onde a adição de  $AG_3$  apresentou efeito positivo no crescimento das brotações. Corrêa et al. (1991), através de estudos com macieira, cultivar Fuji, também confirmaram que concentrações crescentes de  $AG_3$  em cultivo *in vitro* favoreceram a altura de plantas. Provavelmente esta resposta diferencial tenha ocorrido pelo fato do carvão vegetal funcionar como um adsorvedor dos produtos provenientes do metabolismo vegetal, bem como substâncias hormonais e vitaminas (TORRES et al., 2001). O carvão vegetal tem a capacidade de reter os nutrientes no meio de cultura, disponibilizando estes compostos de forma gradual para a absorção da brotação.

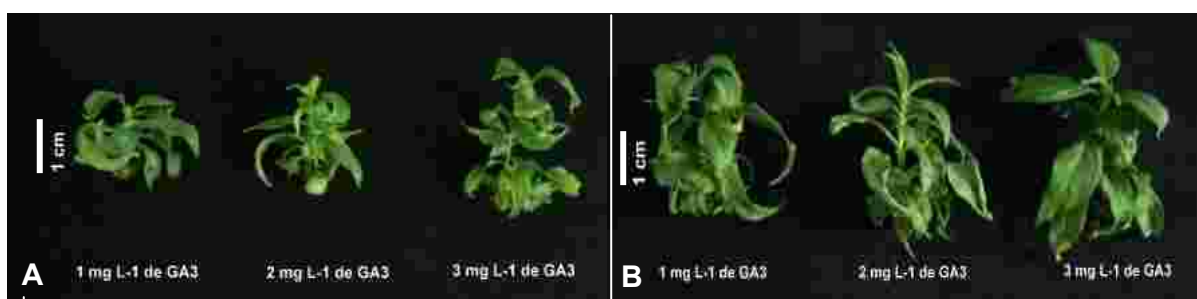
Para os parâmetros número de brotos e massa seca não houve interação entre os fatores, nem quando estes foram analisados isoladamente apresentando média de 1,08 brotos por explante e 0,153 g de massa seca das brotações.

O efeito da utilização do CA foi independente da adição de  $AG_3$  ao meio de cultivo quando analisada a variável massa fresca, obtendo-se maiores médias para as brotações em meio suplementado com CA com média de 0,96 g enquanto brotações obtidas no meio sem a suplementação de CA tiveram média de 0,73 g. Para a variável número de gemas por brotação houve correlação fisiológica em relação aos fatores analisados, apresentando maiores médias quando utilizado o CA e em concentrações de  $AG_3$  superiores a 2 mg L<sup>-1</sup> (Figura 1B).

A suplementação do meio de cultivo com as diferentes concentrações de AG<sub>3</sub> proporcionou melhorias apenas para a variável altura média das brotações, sendo indiferente para as demais variáveis analisadas. Verificou-se que brotações com entrenós mais alongados (Figura 2A e 2B) facilitaram o manejo da cultura para sua multiplicação, gerando maior número de explantes e enraizamento, além de permitir o uso do entrenó como explante para experimentos de regeneração para posterior transformação genética.



**Figura 1.** Altura das brotações (A) e número de gemas por brotação (B) de ameixeira (*P. salicina*), 'América', cultivada por 40 dias em meio de cultura MS suplementado com diferentes concentrações de AG<sub>3</sub>, sem a utilização de CA e com CA (1 g L<sup>-1</sup>). Letras minúsculas diferem quanto a concentração de AG<sub>3</sub> e letras maiúsculas quanto ao uso ou não de CA. As barras representam o erro padrão da média. UFPel, Pelotas, 2011.



**Figura 2:** Aspecto geral das plantas de ameixeira (*P. salicina*), 'América', cultivadas por 40 dias em meio MS suplementado com diferentes concentrações de AG<sub>3</sub>, sem adição de CA (A) e com adição de CA (1 g L<sup>-1</sup>) ao meio de cultivo (B), UFPel, Pelotas, 2011.

#### 4 - CONCLUSÃO

A concentração de 2,0 mg L<sup>-1</sup> de AG<sub>3</sub> em meio suplementado com 1 g L<sup>-1</sup> de carvão ativado é a mais adequada para obter alongamento das brotações durante o cultivo *in vitro* de *P. salicina*, cultivar América.

#### 5 - REFERÊNCIAS

BANDEIRA, J. M. **Compatibilidade reprodutiva e micropropagação de ameixeiras japonesas.** 2010. 120f. Tese (Doutorado em Agronomia, área de

concentração em Fruticultura de Clima Temperado), Agronomia, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS, 2010.

CASTRO, L. A. S. **Ameixa produção**. Pelotas: Embrapa - SPI, 2003. 115p. (Frutas do Brasil; 43)

CHAGAS, E. A.; PIO, R.; BARBOSA, W.; DALL'ORTO, F. A. C.. **Aspectos técnicos do cultivo da ameixeira**. 2006. Artigo em Hypertexto. Disponível em: <[http://www.infobibos.com/Artigos/2006\\_3/ameixeira/index.htm](http://www.infobibos.com/Artigos/2006_3/ameixeira/index.htm)>. Acesso em: 5/8/2011

CORRÊA, D. M.; PASQUAL, M.; YUI, E. Concentrações de ácido giberélico e de ácido naftaleno acético na propagação *in vitro* da macieira 'Fuji'. **Ciência e Prática**, Lavras, v. 15, n. 1, p. 26-31, 1991.

GUERRA, M. P.; ROGALSKI, M. e SILVA, A. L. Embryo culture and *in vitro* clonal Multiplication of *Prunus* 'Capdeboscq' rootstock. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**. v. 3, n. 2, p. 141-148, 2003.

MACHADO, A. A.; CONCEIÇÃO, A. R. **Sistema de análise estatística para Windows**. Winstat. Versão 2.0. UFPel, 2003.

MÉTRAUX, J. P. Gibberellins and plant cell elongation. In: DAVIES, P. J. (Ed). **Plant hormones and their role in plant growth and development**. Dordrecht: Martinus Nijhoff Publishers, p. 296-317, 1987.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 15, p. 473-497, 1962.

RASEIRA, M. C. B. Polinização. In: CASTRO, L. A. S. Ameixa/Produção, EMBRAPA Clima Temperado (Pelotas, RS) – Brasília: EMBRAPA **Informação Tecnológica**, p. 30-33, 2003.

THOMAS, T.D. The role of activated charcoal in plant tissue culture. **Biotechnology Advances**, v.26, p.618–631, 2008.

TORRES, A. C.; BARBOSA, N. V. dos R.; WILLADINO, L.; GUERRA, M. G.; FERREIRA, C. F.; PAIVA, S. A. V. Meios e condições de incubação para a cultura de tecidos de plantas: Formulações de meios para a cultura de tecidos de plantas. **Circular Técnica nº24**, EMBRAPA. ISSN 1415-3033. Dezembro 2001.

VIEIRA, E. L.; MONTEIRO, C. A. Hormônios Vegetais In: CAMARGO E CASTRO, P. R.; ALVES DE SENA, J. O.; KLUGE, R. A. **Introdução a fisiologia do desenvolvimento vegetal**. Maringá: Ed. Eduem. p. 79-104. 2002.