

NITRATO DE PRATA E DIFERENTES TIPOS DE VEDAÇÃO NA MULTIPLICAÇÃO *IN VITRO* DE OLIVEIRA 'ARBEQUINA'

DONINI, Lorena Pastorini¹; SCHUCH, Márcia Wulff²

¹Embrapa Clima Temperado – lorenadonini@yahoo.com.br

²UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS – marciaws@hotmail.com

1. INTRODUÇÃO

O Brasil é um dos maiores importadores de produtos de oliveira da América do Sul, sendo a Argentina um dos maiores fornecedores, além da Espanha e Portugal (PIO et al., 2005; OLIVEIRA et al., 2001a). Esta espécie normalmente é propagada por estacas, no entanto, ainda não há um protocolo de propagação por estaquia definido (OLIVEIRA et al., 2009; OLIVEIRA et al., 2001b). Um aspecto fundamental para realizar a micropropagação de uma planta frutífera é o domínio da tecnologia de propagação em laboratório, o qual é o resultado de estudos realizados com os fatores que afetam o crescimento e o desenvolvimento das plantas *in vitro* (SCHUCH; ERIG, 2005; SOUZA et al., 2008).

O microambiente dentro dos frascos de cultura parece ser um ambiente homogêneo, mas na verdade é um dos responsáveis pela variabilidade no comportamento das culturas, uma vez que os fatores determinantes para a qualidade do microambiente são os tipos de frasco, tipo de tampa e quantidade de meio presente (SOUZA et al., 2007).

O etileno é um gás regulador de crescimento produzido pelos vegetais que produz efeitos importantes e é de grande aplicação comercial, mas no cultivo *in vitro*, a produção e ação desse gás afetam diretamente na resposta do explante, sendo ela positiva ou negativa (PASQUAL et al., 2002). O ambiente fechado, no qual os explantes são submetidos, proporciona, de modo geral, o acúmulo de etileno, que mesmo em pequenas concentrações pode ser fisiologicamente ativo e desencadear vários processos, dentre estes a abscisão foliar (NEPOMUCENO et al., 2007).

Devido à ação negativa do etileno nas culturas *in vitro*, há estudos sobre os inibidores de etileno (PASQUAL et al., 2002). Um deles é o nitrato de prata (AgNO_3) que age inibindo a ação do etileno (AL-KHAYRI; AL-BAHRANY, 2001; OZDEN-TOKATLI et al., 2005). De acordo com GIRIDHAR et al. (2001), o uso de nitrato de prata tem efeito positivo nos estudos de multiplicação e enraizamento *in vitro*. Devido à falta de informações sobre a utilização do nitrato de prata na multiplicação *in vitro* da oliveira, este trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar diferentes tipos de vedação e a adição de nitrato de prata na multiplicação *in vitro* de oliveira 'Arbequina'.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Para a realização deste trabalho foram utilizados segmentos caulinares com duas gemas, sem ápice, com aproximadamente 1cm de comprimento, obtidos de brotações de plantas de oliveira 'Arbequina' cultivadas *in vitro*. O meio de cultura utilizado foi constituído pelos sais e vitaminas do meio de oliveira, MO (RUGINI, 1984), + 100mg L⁻¹ de inositol + 30g L⁻¹ de sacarose + 2,19g L⁻¹ de

glutamina, adicionados de 10mg L⁻¹ de nitrato de prata de acordo com o tratamento (com ou sem nitrato de prata). O pH (5,8) foi ajustado antes da inclusão do ágar (0,8%) e o meio foi autoclavado a 121°C e 1,5atm por 20 minutos. Foram utilizados frascos contendo 30mL de meio de cultura. Após a inoculação, os explantes foram mantidos em sala de crescimento a 25±2°C, fotoperíodo de 16 horas e densidade de fluxo de fótons de 27μmol m⁻² s⁻¹.

Os tratamentos constituíram-se de três tipos de vedação (tampa de alumínio, papel alumínio e filme plástico) e nitrato de prata (presença ou ausência), num fatorial 3x2, totalizando seis tratamentos. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado com quatro repetições por tratamento, onde cada repetição constituiu-se de um frasco contendo quatro explantes cada. Aos 60 dias de cultivo, o material foi avaliado quanto ao número médio de brotações, comprimento médio das brotações e número de folhas/brotação. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias dos tratamentos comparadas estatisticamente pelo teste de Duncan através do programa estatístico SANEST (ZONTA; MACHADO, 1987).

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

O desdobramento das médias pelo teste de Duncan mostrou que para número de brotações quando a tampa de metal ou tampa de papel alumínio foram utilizadas proporcionaram maior número de brotações (1,86 brotações), não diferindo entre si. Para número de folhas, a utilização de tampa de papel alumínio como vedação proporcionou maiores médias (8,57 folhas) (Tabela 1). Para comprimento médio de brotação, a utilização de nitrato de prata e a vedação com tampa de papel alumínio proporcionaram brotações de maior tamanho (1,32cm), sendo superior aos demais tratamentos (Tabela 1).

Tabela 1 - Número médio de brotações, folhas por brotação e comprimento médio das brotações (cm) de explantes multiplicados de oliveira (*Olea europaea* L.) 'Arbequina' em meio de cultura com presença ou ausência de nitrato de prata e diferentes tipos de vedação

Vedação	Número de brotações	Número de folhas
Tampa	1,86 a	5,76 b
Alumínio	1,86 a	8,57 a
Filme plástico	0,09 b	0,28 c

Vedação	Comprimento das brotações (cm)	
	Com nitrato	Sem nitrato
Tampa	0,64 b A	0,53 a A
Alumínio	1,32 a A	0,74 a B
Filme plástico	0,00 c A	0,12 b A

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna e maiúsculas nas linhas, não diferem entre si pelo teste de Duncan em nível de 5% de probabilidade de erro.

Observou-se que os explantes cultivados em frascos com vedação com tampa de filme plástico secaram e conseqüentemente morreram. Isso se deve ao fato de o meio de cultura ter secado, independente da adição ou não do nitrato de prata. No material mantido em frasco com tampa de metal, também foi observado que o meio de cultura secou, no entanto, os explantes sobreviveram. O único tratamento com tampa que não provocou a desidratação do meio de cultura foi o com a tampa de papel alumínio.

Na multiplicação *in vitro* de framboeseira e amoreira, LEITZKE (2007) observou que a utilização de papel alumínio proporcionou maior número de brotações para amoreira, não apresentando diferenças com a utilização de papel alumínio e filme plástico. No presente trabalho, o papel alumínio também proporcionou bons resultados, mas a utilização do filme plástico propiciou os piores resultados. CUZZOL et al. (1996) observaram ótima sobrevivência de plantas aclimatizadas de *Dianthus caryophyllus*, onde estes autores atribuem o sucesso da aclimatização à condição de baixa umidade durante o cultivo *in vitro* oferecida pela vedação do tipo tampas de algodão.

No presente trabalho, pode-se observar que mesmo não havendo diferenças para número de brotações e para número de folhas, a adição de nitrato de prata (10mg L^{-1}) associado à vedação com papel alumínio proporcionou maior comprimento das brotações. Resultados semelhantes foram obtidos por NEPOMUCENO et al. (2007) ao avaliarem dois tipos de inibidores de etileno na cultivo *in vitro* de angico. Esses autores observaram que quando utilizaram $5\mu\text{M}$ de nitrato de prata no meio de cultura, este promoveu maior número de gemas e maior número de brotações. Já quando utilizaram concentração maior, de $10\mu\text{M}$ houve maior número de folhas.

Na multiplicação *in vitro* de *Vanilla planifolia*, GIRIDHAR et al. (2001) observaram efeito positivo da adição de $20\mu\text{M}$ de nitrato de prata ao meio de cultura, promovendo maior número de brotações (5,6 brotações) e aumento no tamanho das brotações. GOH et al. (1997), durante a micropropagação de *Garcinia mangostana* observaram que a adição de nitrato de prata nas concentrações de 10 e $20\mu\text{M}$ promoveu aumento significativo no número de brotos regenerados. Em trabalho realizado com pistache, OZDEN-TOKATLI et al. (2005) observaram que a adição de $48\mu\text{M}$ de nitrato de prata proporcionou aumento da frequência de formação de brotações, quando comparado ao tratamento controle.

A utilização de nitrato de prata como inibidor da ação do etileno pode ter uma resposta variada no cultivo *in vitro*, em algumas espécies pode estimular a proliferação de calos, regeneração de brotos, e a embriogênese somática, porém, em outras espécies, pode inibir (AL-KHAYRI; AL-BAHRANY, 2001).

4. CONCLUSÕES

De acordo com os resultados obtidos na presente pesquisa, pode-se concluir que a utilização de papel alumínio como vedação e a adição de 10mg L^{-1} de nitrato de prata ao meio de cultura MO apresentam melhores resultados na multiplicação *in vitro* de oliveira cultivar Arbequina.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AL-KHAYRI, J.M.; AL-BAHRANY, A.M. Silver nitrate and 2-isopentyladenine promote somatic embryogenesis in date palm (*Phoenix dactylifera* L.). **Scientia Horticulturae**, v.89, p.291-298, 2001.
- CUZZOL, G.R.F. et al. Enraizamento de cravo (*Dianthus caryophyllus* L.) *in vitro* e *ex vitro*. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v.53, n.1, p.60-66, 1996
- GIRIDHAR, P. et al. Silver nitrate influences *in vitro* shoot multiplication and root formation in *Vanilla planifolia* Andr. **Current Science**, v.81, n.9, p.1166-1170, 2001.
- GOH, C.J. et al. The role of ethylene on direct shoot bud regeneration from magosteen (*Garcinia mangostana* L.) leaves cultured *in vitro*. **Plant Science**, v.124, p.193-202, 1997.
- LEITZKE, L.N. **Micropropagação fotoautotrófica de pequenas frutas com a utilização de luz natural**. 2007. 88f. Dissertação (Mestrado em Agronomia)-Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS.
- NEPOMUCENO, C.F. et al. Controle da abscisão foliar e morfogênese *in vitro* em culturas de *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan var. *cebil* (Griseb) Altschul. **Revista Árvore**, v.31, n.5, p.967-975, 2007.
- OLIVEIRA, M.C. et al. Enraizamento de estacas de duas cultivares de oliveira submetidas à aplicação de diferentes fertilizantes. **Bragantia**, v.69, n. 1, p.99-103, 2001a.
- OLIVEIRA, M.C. et al. Enraizamento de estacas de oliveira submetidas a aplicação de fertilizantes orgânicos e AIB. **Ciência e Agrotecnologia**, v.34, n.2, p.337-344, 2001b.
- OLIVEIRA, A.F. et al. Estaquia de oliveira em diferentes épocas, substratos e doses de AIB diluído em NaOH e álcool. **Ciência e Agrotecnologia**, v.33, n.1, p.79-85, 2009.
- OZDEN-TOKATLI, Y. et al. *In vitro* response of pistachio nodal explants to silver nitrate. **Scientia Horticulturae**, v.106, p.415-426, 2005.
- PASQUAL, M. et al. Indução de calos em anteras de café (*Coffea arabica* L.) cultivadas *in vitro*. **Ciência Agrotecnológica**, v.26, n.1, p.71-76, 2002.
- PIO, R. et al. Enraizamento de diferentes tipos de estacas de oliveira (*Olea europaea* L.) utilizando ácido indolbutírico. **Ciência Agrotecnológica**, v.29, n.3, p.562-567, 2005.
- RUGINI, E. *In vitro* propagation of some olive (*Olea europaea sativa* L.) cultivars with different root-ability, and medium development using analytical data from developing shoots and embryos. **Scientia Horticulturae**, v.24, n.2, p.123-134, 1984.
- SCHUCH, M.W; ERIG. A.C. Micropropagação de plantas frutíferas. In: FACHINELLO, J.C. et al. (Eds.). **Propagação de plantas frutíferas**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2005. p.155-173.
- SOUZA, J.A. et al. Enraizamento *in vitro* do porta-enxerto de macieira M-9 em função da vedação, sacarose e material de suporte do meio de cultura. **Scientia Agraria**, v.8, n.2, p.161-164, 2007.
- SOUZA, J.A. et al. Tipos e concentrações de citocinina na multiplicação *in vitro* de pitangueira. **Ciência Rural**, v.38, n.7, p.2046-2048, 2008.
- ZONTA, E.P.; MACHADO, A.A. **SANEST – Sistema de análise estatística para microcomputadores**. Pelotas: DMEC/IFM/UFPel, 1987. 138p.