

Modalidade do trabalho: Relatório técnico-científico
Evento: XX Jornada de Pesquisa

MULTIPLICAÇÃO IN VITRO DE ARAÇÁ-VERMELHO (PSIDIUM CATTLEIANUM SABINE VAR. HUMILE) – MYRTACEAE¹

**Marcelo Vielmo Afonso², Katieli Bernardy³, Daniele Bernardy⁴, Aline Soares Pereira⁵,
Athos Odin Severo Dorneles⁶.**

¹ Projeto de Pesquisa UNICRUZ/UFSM com apoio FAPERGS

² Biólogo, Mestrando em Agrobiologia - UFSM, marcelovielmo@yahoo.com.br

³ Bióloga, Msc em Agrobiologia

⁴ Acadêmica de Engenharia Florestal - UFSM

⁵ Bióloga, Mestranda em Agrobiologia, UFSM

⁶ Biólogo, Msc em Agrobiologia

INTRODUÇÃO

O araçá-vermelho (*Psidium cattleianum* Sabine var. *humile*) possui diversas características de interesse, no qual destaca-se o seu potencial na fruticultura. Os frutos da espécie podem ser utilizados desde o consumo in natura até em diferentes formas processadas. Além de possuírem um elevado valor nutricional devido ao seu baixo teor de açúcar, seus frutos apresentam grande riqueza em nutrientes, presença de vitamina C e compostos fenólicos (CORRÊA, 2009; SANTOS et al., 2007).

Essa espécie apresenta um grande potencial econômico, pois é uma frutífera de alta produtividade, de baixo custo de manutenção e pouca necessidade de utilização de agrotóxicos. Além disso, pode representar uma alternativa dentro da agricultura familiar como opção para o cultivo orgânico, em virtude das características do seu fruto e da boa aceitação para consumo (CORRÊA, 2009).

O araçazeiro é considerado uma espécie de difícil propagação vegetativa, sendo assim o método de propagação mais utilizado é o seminal (DONADIO et al., 2002). No entanto, esse método apresenta dificuldades devido às sementes recalcitrantes da espécie, que não mantêm a viabilidade germinativa por muito tempo após a coleta e o armazenamento. Contudo, para contornar esta problemática, muitos estudos com espécies florestais lenhosas demonstram resultados positivos com a propagação por meio de técnicas de cultura de tecidos (SOUZA et al., 2006; XAVIER et al., 2007).

A micropropagação in vitro pode ser uma alternativa viável na produção comercial de mudas, produzindo-as durante todo o ano e obtendo plantas com elevada qualidade sanitária (SOUZA et al., 2006). Neste sentido, o presente trabalho visou obter protocolos para a multiplicação in vitro de araçá-vermelho através da utilização de segmentos cotiledonares de plantas germinadas previamente in vitro, visando contornar a dificuldade para obtenção de mudas da espécie.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi conduzido no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais “in vitro” da Unicruz. Para a realização dos experimentos foram utilizados segmentos cotiledonares de plantas germinadas

Modalidade do trabalho: Relatório técnico-científico
Evento: XX Jornada de Pesquisa

previamente in vitro. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, utilizando-se esquema bifatorial (2x4), onde foram utilizados dois níveis de ácido 2,5-dinitro-1-naftalenoacético (ANA) (0 e 2,5 mg/L) e quatro níveis de 6-benzilaminopurina (BAP) (0, 10, 20 e 30 mg/L). O experimento teve um total de 8 tratamentos com cinco repetições, sendo a unidade experimental composta por um frasco de vidro com capacidade para 200 mL, contendo 30 mL de meio MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962) e cinco nós cotiledonares, totalizando 40 unidades experimentais e 200 explantes inoculados. O meio nutritivo utilizado foi acrescido de 30 g L⁻¹ de sacarose, 100 mg L⁻¹ de mio-inositol, 7 g L⁻¹ de ágar e as doses combinadas entre ácido 2,5-dinitro-1-naftalenoacético e 6-benzilaminopurina. O pH foi ajustado em 5,8 e os meios foram esterilizados em autoclave a 121°C e 1,5 atm de pressão por 20 minutos. As parcelas foram mantidas em sala de cultivo com temperatura de 25±3°C, fotoperíodo de 16 horas e intensidade luminosa de 30 mol m⁻² s⁻¹.

Aos 60 dias foi avaliada a média de brotações por explante, o número total de brotações emitidas por explante, o comprimento do maior broto (cm) e a formação de calos. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas através do teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro utilizando o programa estatístico SISVAR (FERREIRA, 2000).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

No número médio e total de brotações por explante foi observada interação significativa entre os níveis de BAP isolados e na presença de níveis de ANA e BAP, houve aumento crescente das brotações para as plantas cultivadas com BAP e ausência de ANA (Tabela 1), quando acrescido 2,5 mg/L de ANA na presença de níveis de BAP houve uma redução no número de brotações, sendo que para os níveis mais elevados de BAP (20 e 30 mg/L) não foi observado brotações (Tabela 1).

Para a obtenção de um maior número de brotações durante a multiplicação o nível 30 mg/L de BAP isolado se mostrou eficiente (Tabela 1). Em pesquisas com abacaxizeiro ornamental Santos et al. (2008) ressaltaram que o meio nutritivo sem BAP foi considerado ineficiente para a multiplicação, pela formação de baixo número de brotações por explante. Nogueira (2007) resalta que as citocininas são indispensáveis na fase de multiplicação e proliferação de gemas axilares, o BAP tem sido muito eficaz em diversas espécies e parece ser a citocinina, por excelência, para multiplicação de partes aéreas e indução de gemas, além de seu custo ser menor, sendo utilizado em aproximadamente 60% dos meios de cultura de tecidos (GRATTAPAGLIA; MACHADO, 2006).

Modalidade do trabalho: Relatório técnico-científico
Evento: XX Jornada de Pesquisa

Média de brotações por explante				
ANA (μM)	BAP (μM)			
	0	10	20	30
0	0,32 Ac	1,84 Ab	2,48 Ac	3,56 Aa
2,5	0,12 Aa	0,16 Ba	0,00 Ba	0,00 Ba

Número total de brotações				
ANA (μM)	BAP (μM)			
	0	10	20	30
0	1,80 Ac	9,20 Ab	12,40 Ab	17,8 Aa
2,5	0,60 Aa	0,80 Ba	0,00 Ba	0,00 Ba

Formação de calos				
ANA (μM)	BAP (μM)			
	0	10	20	30
0	0,00 Ba	0,00 Ba	0,00 Ba	0,00 Ba
2,5	4,80 Aa	3,40 Ab	4,40 Aab	4,00 Aab

Comprimento das maiores brotações (cm)				
ANA (μM)	BAP (μM)			
	0	10	20	30
0	0,26 Ab	0,84 Aa	0,78 Aa	0,78 Aa
2,5	0,14 Aa	0,08 Ba	0,00 Ba	0,00 Ba

Tabela 1. Efeito de níveis de ANA e BAP sobre a média de brotações por explante, número total de brotações, formação de calos e comprimento das maiores brotações. Os dados representam a média \pm S.D. de cinco repetições. As letras maiúsculas indicam diferenças significativas ($P < 0,05$) entre a presença ou ausência de ANA e as letras minúsculas indicam diferenças significativas entre os tratamentos contendo BAP.

Combinações de citocinina e auxina são utilizadas em algumas espécies para indução de brotações, usando em geral, níveis relativamente baixos de auxina e alto nível de citocinina no meio de crescimento (NOGUEIRA, 2007). Estudos com videira, realizados por Peixoto (1990), evidenciaram que o aumento da concentração de ANA reduz o número de brotações. Novak e Juvova (1983) verificaram efeitos prejudiciais da adição do ANA em meio de cultura para regeneração de segmentos nodais de videira.

No comprimento médio das maiores brotações foi observada interação significativa entre os níveis de ANA e BAP. Na ausência de BAP não houve diferenças significativas em relação à presença ou ausência de ANA, apenas uma tendência de diminuição com a presença de ANA (Tabela 1). Os maiores comprimentos das brotações foram observados na ausência de ANA e com a presença de BAP, sendo os valores semelhantes entre os níveis de BAP testados (Tabela 1). As citocininas são conhecidas por regular a divisão celular das partes aéreas nos vegetais e promover o crescimento de gemas laterais (TAIZ; ZEIGER, 2006) e entre elas é o BAP, que em geral, apresenta melhores resultados, podendo variar bastante suas concentrações em função da espécie e do tipo de explante (GRATTAPAGLIA; MACHADO, 2006). Santana (2003) relata que o sinergismo entre auxinas e citocininas é crítico para o controle da morfogênese in vitro e que concentrações mais elevadas de

Modalidade do trabalho: Relatório técnico-científico
Evento: XX Jornada de Pesquisa

citocininas em relação às auxinas ou a ausência desta induzem, predominantemente, a formação de gemas, o que foi confirmado por este trabalho.

A formação de calos nos explantes, na ausência de ANA não foi constatado independentemente do nível de BAP utilizado, diferindo das respostas observadas com a presença de 2,5 μM de ANA onde todos os tratamentos demonstraram formação de calos, sendo maior está formação no tratamento somente com presença de ANA (Tabela 1). Cordeiro et al. (2004), ressaltam que elevadas concentrações de citocinina parecem reagir com a quantidade de auxina, o que leva à formação de calos provocando certa inibição no surgimento dos brotos. Tavano et al. (2009) constatou que plântulas de *Matricaria recutita* L. apresentaram maior taxa de calos na presença de BAP em concentrações altas, quando está combinada com concentrações de ANA.

CONCLUSÃO

A utilização de BAP promoveu o processo de organogênese direta, onde as brotações foram formadas sem um prévio estágio de calo, sendo o oposto observado com a presença de ANA, onde houve a formação de calos.

Os maiores comprimentos das brotações foram observados sem a presença de ANA, apenas com níveis de BAP.

PALAVRAS-CHAVE: Frutífera nativa, segmentos cotiledonares, Cultura de tecidos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CORDEIRO, I. M. C. C. et al. Efeito de BAP sobre a proliferação de brotos in vitro de *Schizolobium zonicum* Huber ex Ducke (Paricá). *Cerne*, Lavras, v. 10, n. 1, p. 118-124, 2004.

CORRÊA, L. C. Similaridade genética em acessos de goiabeiras e araçazeiros: análises químicas e bioquímicas dos frutos. 2009. 96p. Tese (Doutorado) – Instituto de Biociências de Botucatu, UNESP – Universidade Estadual Paulista.

DONADIO, L. C. et al. Frutas brasileiras. Jaboticabal: Novos Talentos, 2002. 288p. Espécies Florestais. In: BORÉM, A. (Ed.) Biotecnologia florestal. Viçosa: Ed. UFV, p. 55 -74. 2007.

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 (RBRAS), 45., 2000, São Carlos, SP. Anais... São Carlos: UFSCar, 2000. p. 255-258.

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A.C.; CALDAS, L.S. Técnicas e aplicações de cultura de tecidos de plantas. Brasília: Ministério da Agricultura, Cap.9, p.99-170. 2006.

Modalidade do trabalho: Relatório técnico-científico

Evento: XX Jornada de Pesquisa

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

NOGUEIRA, G. F. Aspectos do cultivo in vitro de Barbatimão. 2007. 42p. Monografia (Bacharel em Ciências Biológicas) Universidade Federal de Lavras- Lavras, MG.

NOVAK, F. J.; JUVOVA, Z. Clonal propagation of grapevine through in vitro axillary bud culture. *Scientia Horticulturae*, Amsterdam, v. 18, n. 3, p. 231-240, Jan. 1983.

PEIXOTO, P. H. Micropropagação e termoterapia “in vitro” do porta-enxerto de videira ‘1103 Paulsen’. 1990. 94 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.

SANTANA, J. R. F. Controle da morfogênese in vitro em algumas espécies de annonaceae. 2003. 237 p. Tese (Doutorado em Fisiologia Vegetal) – Universidade Federal de Lavras, Lavras-MG.

SANTOS, M. S. et al. Caracterização do suco de araçá vermelho. (*Psidium cattleianum* Sabine) extraído mecanicamente e tratado enzimaticamente. *Acta Scientiarum Agronomy*. Maringá, v. 29, p. 617-621, 2007.

SANTOS, M. D. M; RIBEIRO, D. G.; TORRES, A. C. Brotações adventícias de abacaxizeiro ornamental sob o efeito de benzilaminopurina, ácido naftalenoacético e períodos de subcultivo. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v. 43, n. 9, p. 1115-1120, Set. 2008.

SOUZA, J. A.; SCHUCH, M. W.; SILVA, L. C. Efeito do tipo de ramo e do regime de luz fornecido à planta matriz no estabelecimento in vitro de araçazeiro cv. “Irapuã”. *Ciência Rural*, Santa Maria, v.36, n.6, p.1920-1922, 2006.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. *Fisiologia Vegetal*. 3ª edição. Porto Alegre: Artmed. 820p. 2006.

TAVANO, E.C. Conteúdos de compostos fenólicos e flavonóides em plantas de camomila (*Matricaria recutita* L. Asteraceae) cultivadas in vivo e in vitro. *Naturalia*, v.32, p.67-77, 2009.

XAVIER, A., OTONI, W. C., PENCHEL, R. M. 2007. Micropropagação e enxertia in vitro de espécies florestais, pp. 55-74. In: A. BORÉM (ed). *Biotecnologia Florestal*. Viçosa: [s.n.].