

MALHAS DE SOMBREAMENTO EM PLANTAS MATRIZES DE OLIVEIRA 'ARBEQUINA' PARA ESTABELECIMENTO *IN VITRO*

ROSEANE MAIDANA MOREIRA¹; CARI REJANE FISS TIMM²; JOSIANE VERGARA CASARIN²; CÍNTIA DE MORAES FAGUNDES²; MICHELE CARLA NADAL²; MÁRCIA WULFF SCHUCH³

¹Universidade Federal de Pelotas – roseane_moreira@hotmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – fcari@yahoo.com.br; josiane.casarin@hotmail.com; cintiafagundes_15@hotmail.com; michecn@gmail.com

³Universidade Federal de Pelotas – marciaws@ufpel.tche.br

1. INTRODUÇÃO

A oliveira, cujo nome científico é *Olea europaea* L., pertence à família Oleaceae sendo a única espécie desta família com fruto comestível. O consumo de azeitona, bem como a utilização do azeite de oliva, vem sendo muito explorado nos últimos anos, devido as suas propriedades medicinais. Segundo CRUZ et al. (2012), 95% da área mundial cultivada encontram-se na Bacia Mediterrânea. No entanto, já é notável a expansão da olivicultura em muitos estados do Brasil, especialmente no Rio Grande do Sul.

A obtenção de mudas de boa qualidade é fundamental para o sucesso na produtividade, sendo assim, a propagação vegetativa a mais recomendada. O mercado brasileiro de mudas micropropagadas tem crescido, embora estas sejam mais caras, por serem mais vigorosas e produtivas (LEMOS, 2013).

Espécies lenhosas tendem a apresentar problemas de oxidação quando estabelecidas *in vitro*, devido à grande concentração de compostos fenólicos, fator que ocasiona morte do material vegetal (KERBAUY, 2004). Diversos métodos vêm sendo testados, a fim de reduzir a oxidação dos explantes, como por exemplo, a adição de antioxidantes em meio de cultura, incubação dos explantes no escuro e regime de luz fornecido a planta matriz.

De acordo com VENÂNCIO et al. (2012), as respostas das plantas a diferentes ambientes de luz vêm sendo objeto de estudo, ressaltando a importância da qualidade espectral sobre os aspectos fisiológicos da fotossíntese. Sendo assim, a utilização de malhas de sombreamento pode ser uma alternativa para a redução de luz fornecida a planta matriz, pois segundo GRATTAPAGLIA; MACHADO, (1998), plantas sob a luz produzem maior quantidade de fenóis. Dessa forma, objetivou-se avaliar o efeito de malhas de sombreamento em plantas matrizes de oliveira 'Arbequina' visando à redução da oxidação *in vitro*.

2. METODOLOGIA

O experimento foi realizado no Laboratório de Propagação de Plantas Frutíferas, da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, da Universidade Federal de Pelotas (FAEM/UFPel).

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado e os tratamentos abrangeram malhas de sombreamento (sem malha, malha preta, malha vermelha e malha azul) e a cultivar Arbequina, sendo um fatorial 4 x 1, com quatro repetições, com vinte e cinco explantes cada.

Plantas matrizes de oliveira 'Arbequina' mantidas em vasos, foram cobertas com malhas de sombreamento, utilizou-se cinco plantas para cada tratamento

(sem malha, preta, vermelha e azul) durante o período de vinte dias. Após, esse período realizou-se a coleta de segmentos nodais que foram desinfestados em câmara de fluxo laminar, onde foram imersos em álcool 70%, sob agitação por 30 segundos, para posterior imersão em hipoclorito de sódio na concentração de 2,5% de cloro ativo com adição de duas gotas de Tween 20 e agitados durante 15 minutos. Na sequência, o material desinfestado passou por tríplice lavagem em água destilada e autoclavada.

Os segmentos nodais foram transferidos para o meio de cultura WPM - Wood Plant Media (LLOYD; McCOWN, 1980) acrescido de 100 mg.L^{-1} de mio-inositol e 30 g.L^{-1} de sacarose. O pH do meio foi ajustado para 6,5 antes da inclusão do ágar na concentração de $6,0 \text{ g.L}^{-1}$. E, posteriormente, realizou-se a autoclavagem dos meios de cultura a 121°C e 1,5 atm de pressão, por 20 minutos. Após a inoculação no meio de cultura, os explantes foram mantidos no escuro, por um período de sete dias, a fim de reduzir a oxidação fenólica. Posteriormente, foram expostos ao fotoperíodo de 16 horas, temperatura de $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ e intensidade luminosa de $27 \mu\text{mol.m}^{-2}\text{s}^{-1}$.

Realizou-se avaliações aos 7, 14 e 21 dias de cultivo, verificando-se à porcentagem de oxidação, contaminação bacteriana e fúngica dos explantes. Os frascos que apresentaram contaminação e/ou oxidação foram eliminados após registro. Aos 45 dias de cultivo o material foi avaliado quanto à porcentagem de sobrevivência, indicada pela coloração verde do segmento nodal e quanto à porcentagem de estabelecimento, que foi determinado pelo desenvolvimento de primórdios foliares e presença de brotações.

Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias dos tratamentos comparadas estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro, através do programa estatístico WINSTAT (MACHADO et al., 2007).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não houve interação entre as malhas de sombreamento e os dias de cultivo, para as variáveis analisadas.

A maior porcentagem de oxidação foi verificada em explantes oriundos de plantas matrizes sem malha, aos 7, 14 e 21 dias de cultivo *in vitro* (Tabela 1), entretanto, as variáveis contaminação bacteriana e fúngica não diferiram estatisticamente entre as malhas de sombreamento aos 7 dias de cultivo. Segundo GRATAPAGLIA; MACHADO (1998), plantas submetidas à luz, especialmente as lenhosas, sintetizam maior quantidade de fenóis, os quais intoxicam os explantes ao se oxidarem *in vitro*.

Para a porcentagem de contaminação bacteriana, não houve diferença significativa entre as malhas testadas aos 14 e 21 dias. ROSA et al. (2009), não verificaram relação quanto às contaminações fúngicas e bacterianas com o período em que os explantes permaneceram sob o escuro, não obtendo influência no resultado total de contaminação.

Tabela 1. Porcentagem de oxidação, contaminação bacteriana e contaminação fúngica de explantes de oliveira 'Arbequina' aos 7, 14 e 21 dias de cultivo *in vitro*, após diferentes condições de sombreamento da planta matriz. Pelotas-RS, 2015.

7 DIAS				
	Sem malha	Malha preta	Malha azul	Malha vermelha
Oxidação	21 A*	0 B	4 B	7 B
Contaminação bacteriana	2 A	4 A	6 A	4 A
Contaminação fúngica	5 A	5 A	15 A	19 A
14 DIAS				
Oxidação	59 A	2 C	17 B	13 BC
Contaminação bacteriana	9 A	11 A	16 A	14 A
Contaminação fúngica	6 B	5 B	21 A	21 A
21 DIAS				
Oxidação	71 A	5 C	23 B	22 B
Contaminação bacteriana	9 A	11 A	17 A	16 A
Contaminação fúngica	64 B	54 B	21 A	21 A

*Médias na linha seguidas por letras distintas diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade de erro.

De acordo com a Tabela 2, verifica-se que aos 45 dias de cultivo *in vitro*, a maior porcentagem de estabelecimento (56%) foi obtida em explantes oriundos de plantas matrizes com malha de sombreamento preta. Estes resultados corroboram com SOUZA et al. (2004), que obtiveram uma maior porcentagem de estabelecimento *in vitro* de araçazeiro (29,5%) quando as plantas matrizes foram submetidas a 15 dias de escuro. Os problemas relacionados à oxidação são reduzidos em explantes obtidos de plantas mantidas no escuro, ou em baixa intensidade luminosa no período que antecede o estabelecimento (DURAND-CRESSWWLL et al., 1982).

Para a variável sobrevivência, a malha de sombreamento preta também proporcionou a maior porcentagem (15%), no entanto, não diferiu significativamente da malha azul e da malha vermelha. Segundo YU; MEREDITH (1986), o sombreamento das plantas matrizes aumenta a porcentagem de sobrevivência dos explantes cultivados *in vitro*.

Tabela 2. Porcentagem de sobrevivência e estabelecimento de explantes de oliveira 'Arbequina' aos 45 dias de cultivo *in vitro*, após diferentes condições de sombreamento da planta matriz. Pelotas-RS, 2015.

45 DIAS				
	Sem malha	Malha preta	Malha azul	Malha vermelha
Sobrevivência	4 B*	15 A	7 AB	7 AB
Estabelecimento	2 C	56 A	25 B	19 B

*Médias na linha seguidas por letras distintas diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade de erro.

4. CONCLUSÕES

Malhas de sombreamento da cor preta reduzem a oxidação fenólica em explantes de oliveira 'Arbequina' favorecendo o estabelecimento *in vitro*.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CRUZ, M.C.M. do.; OLIVEIRA, D.L. de.; OLIVEIRA, A.F. de.; CHALFUN, N.N.J. Botânica, anatomia e ecofisiologia. In: OLIVEIRA, A.F. de. (Ed). **Oliveiras no Brasil tecnologias de produção**. Belo Horizonte: EPAMIG, p.119-158, 2012.

DURAND-CRESSWELL, R.; BOULAY, M.; FRANCLLET, A. Vegetative propagation of *Eucalyptus*. In: BONGA, J.M.; DURZAN, D.J. (Eds.). **Tissue culture in forestry**. Dondrecht: Martinus Nijhoff, p.150-180, 1982.

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M.A. Micropropagação. In: TORRES, A.C.; CALDAS, L.S; BUSO, J.A. **Cultura de Tecidos e Transformação Genética de Plantas**. Brasília: Serviço de Produção de Informação, 1998.

KERBAUY, G.B. **Fisiologia vegetal**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 452p. 2004.

LEMO, E.E.P de. Micropropagação de Plantas por Biorreatores in: **Aspectos práticos da Micropropagação de Plantas**. Brasília: Embrapa, p.95-131, 2013.

LLOYD, G.; MCCOWN, B. Commercially-feasible micropropagation of mountain laurel, *kalmia latifolia*, by use of shoot-tip culture. **Combined Proceedings International Plant Propagators Society**, v.30, p.421-427, 1980.

MACHADO, A.A.; CONCEIÇÃO, A.R. **Sistema de análise estatística para Windows**. Winstat. Versão 2.0. UFPel, 2007.

ROSA, L.P.P. da; ETCHEVERRIA, C.; DÁVILA, E. da S.; MARTINS, C.R. Efeito de antibiótico e do período de escuro no estabelecimento *in vitro* de mirtilo *Vaccinium* spp. **Revista da Faculdade de Zootecnia, Veterinária e Agronomia**, v.16, n.2, p.265-277, 2009.

SOUZA, J.A.; SCHUCH, M.W.; SILVA, L.C. et al. Estabelecimento *in vitro* de araçá, cv. Irapuã: **Efeito do tipo de ramo e do regime de luz submetido à planta matriz**. In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 13.; ENCONTRO DE PÓSGRADUAÇÃO, 7., 2004, Pelotas, **Anais...** Pelotas: UFPel, 2004.

VENÂNCIO, R.R.; SCHMIDT, D.; CARON, B.O.; BOSCAINI, R.; **Efeito de diferentes malhas de sombreamento na emergência e produção de mudas de rúcula**. **Enciclopédia biosfera**, Centro Científico Conhecer, Goiânia, v.8, n.15; p.757, 2012.

YU, D.; MEREDITH, C.P. The influence of explant origin on tissue browning and shoot production in shoot tip cultures of grapevine. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v.111, n.6, p.972-975, 1986.