

EFEITOS DA DOSE E FONTE DE CARBONO EM PARÂMETROS FISIOLÓGICOS E DE CRESCIMENTO IN VITRO DOS PORTA-ENXERTOS DE AMEIXEIRA 'MYROBALAN 29C' E 'MARIANNA 2624'

CAROLINE DA SILVA ABRAÃO¹; SIMONE RIBEIRO LUCHO², MEMOONA BIBI³, JONATAN EGEWARTH⁴; VALMOR JOÃO BIANCHI⁵

¹Universidade Federal de Pelotas – Campus Capão do Leão – carolinsabr@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – Campus Capão do Leão – simonibelmonte@gmail.com

³Universidade Federal de Pelotas – Campus Capão do Leão – moonafaiz5@gmail.com

⁴Universidade Federal de Pelotas, Campus Capão do Leão – egewarthjonatan@gmail.com

⁵Universidade Federal de Pelotas – Campus Capão do Leão – valmorjb@yahoo.com

1. INTRODUÇÃO

Devido a limitada ou ausente atividade fotossintética dos tecidos vegetais cultivados in vitro, o uso de diferentes doses e tipos de açúcares no meio de cultivo se faz necessário para otimizar o crescimento das culturas (AHMAD et al., 2007; YASEEN et al., 2023). Os açúcares são fonte de energia, atuam como moléculas sinalizadoras nas células e influenciam o potencial osmótico do meio de cultura. A sacarose é o açúcar mais utilizado na maioria dos meios de cultivo in vitro. Na família Rosaceae, da qual as diferentes espécies de *Prunus* fazem parte, o sorbitol é um açúcar-álcool predominante no floema das plantas. AHMAD et al. (2007) demonstraram que o porta-enxerto para pessegueiro GF677 apresentou as melhores respostas morfológicas em meio contendo sorbitol. LUCHO et al. (2023) demonstraram que o sorbitol proporciona maior crescimento dos explantes do porta-enxerto 'Myrobalan 29C', além de impactar positivamente na atividade enzimática envolvida no metabolismo de açúcares, entre a parte basal e apical dos explantes.

O uso de fontes e doses adequadas de açúcares pode favorecer o desempenho das culturas in vitro, entretanto, a maioria dos estudos adotam porcentagens ou medidas de massa como referência para as doses e fontes de açúcares adicionadas ao meio de cultura, sem considerar o efeito da variabilidade osmótica imposta por estes dois fatores, o que segundo NETO e OTONI (2003), resulta em respostas morfológicas indesejadas e interpretação equivocadas dos resultados. Para evitar tal problema, recomendam adotar concentrações molares como referência para as doses de açúcares, uma vez que a contribuição osmótica da fonte de carbono é inversamente proporcional à sua concentração no meio de cultivo.

Diferentes cultivares de *Prunus* apresentam seletividade genótipo-específica a doses e fontes de carbono, que atuam não só como fonte de energia e na sinalização celular, mas influenciando também o componente osmótico do meio e seus efeitos sobre a disponibilidade de nutrientes minerais para os explantes (AHMAD et al., 2007; LUCHO et al., 2023; NETO e OTONI, 2003). Nesse estudo, buscou-se testar a hipótese de que diferentes concentrações molares de sorbitol, adicionadas ao meio de cultura, induzem respostas morfológicas e fisiológicas diferenciadas no cultivo in vitro de dois porta-enxertos de ameixeira.

2. METODOLOGIA

O material vegetal utilizado foi proveniente de brotações dos porta-enxertos de ameixeira 'Marianna 2624' e 'Myrobalan 29C', previamente cultivados em meio DKW (DRIVER e KUNIYUKI, 1894) acrescido de 0,6 mg L⁻¹ de 6-benzilaminopurina (BAP) e pH 5,6. Todas as brotações foram inoculadas em um ângulo de 45° em relação a superfície do meio e padronizadas quanto ao seu comprimento (2,5 cm). O

meio de cultura utilizado foi o DKW acrescido de 0,5 mg L⁻¹ de BAP, 0,4 mg L⁻¹ de ácido giberélico, 0,015 mg L⁻¹ de ácido indolbutírico e pH 5,6. Os tratamentos consistiram em diferentes doses de carbono, visando estabelecer uma variação do potencial osmótico do meio, conforme segue: T1) controle - 30 g L⁻¹ de sacarose ($\Psi_s = -0,237$); T2) 11,65 g L⁻¹ de sorbitol ($\Psi_s = -0,158$); T3) 17,43 g L⁻¹ de sorbitol ($\Psi_s = -0,237$); e T4) 23,31 g L⁻¹ de sorbitol ($\Psi_s = -0,317$).

As variáveis analisadas foram o número médio de brotações, de entrenós e do comprimento das brotações. O acúmulo de açúcares solúveis totais (AST), amido, sacarose e polissacarídeos também foram mensurados. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, seguindo um fatorial 2x4 (2 porta-enxertos x 4 suplementações de carbono), com quatro repetições por tratamento, cada uma representada por um frasco contendo quatro explantes. Os dados foram testados quanto a normalidade usando o teste Shapiro-Wilk, seguido da análise de variância. Quando os dados foram significativos, aplicou-se o teste de Tukey utilizando o software Sisvar 5.6 (FERREIRA, 2019).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Baseado no resultado da análise de variância, as variáveis de comprimento médio das brotações e o número médio de nós por brotação não apresentaram interação significativa nem efeito isolado de cada um dos fatores analisados, cujas medias foram de 1,22 e 5,74, respectivamente. Entretanto, verificou-se interação significativa entre os fatores para o número médio de brotações por explante, concentração de sacarose, de amido e de polissacarídeos solúveis em água (Tabela 1).

Para o número médio de brotações por explante, não houve efeito significativo do fator dose de açúcar para o porta-enxerto 'Marianna 2624', com média de 2,81 novas brotações por explante (Tabela 1). Entretanto, observou-se uma tendência de superioridade no tratamento onde se utilizou sacarose como fonte de carbono. Por sua vez, 'Myrobalan 29C' apresentou uma resposta diferenciada, onde o cultivo na maior dose de sorbitol proporcionou um maior número de brotações por explante (4,93), sendo superior as demais tratamentos (Tabela 1).

'Myrobalan 29C' apresentou maior número médio de brotações por explante nas três maiores doses de açúcar utilizadas, as quais proporcionam um potencial osmótico mais negativo no meio (sacarose 30 g L⁻¹, sorbitol 17,43 e 23,31 g L⁻¹), similar ao resultado obtido por LUCHO et al. (2023), em que de 30 g L⁻¹ de sorbitol induziu o maior número de brotações em Myrobalan 29C (7,9), enquanto que 30 g L⁻¹ de sacarose o valor foi de 4,25 brotações por explante. Este efeito positivo do sorbitol está relacionado a capacidade de translocação e a maior atividade das enzimas que hidrolisam este açúcar nos tecidos dreno de 'Myrobalan 29C' (AHMAD et al., 2007; LUCHO et al., 2023), uma vez que a maior dose de sorbitol proporcionou um número médio de novas brotações na ordem de 45,6% maior comparado a 'Marianna 2624'. Por outro lado, na menor dose de sorbitol, que corresponde ao potencial osmótico menos negativo no meio, 'Marianna 2624' produziu o maior número de brotações por explante, sendo 38,4% superior em relação a 'Myrobalan 29C'. Tal resultado comprova o efeito genótipo específico da dose e tipo de açúcar, adicionado no meio de cultura, sobre os parâmetros de crescimento in vitro destes dois porta-enxertos de *Prunus*.

As maiores concentrações de sacarose foram registradas nos explantes de 'Marianna 2624' e 'Myrobalan 29C' cultivados em meio contendo sacarose, porém 'Marianna 2624' apresentou teores 43,2% superiores em relação a 'Myrobalan 29C' (Tabela 1). Comparando cada porta-enxerto em relação as doses de açúcares no meio, 'Myrobalan 29C' apresentou a maior concentração de polissacarídeos

solúveis em água na menor dose de sorbitol, porém sendo superior ao uso de sacarose no meio. Por sua vez, em 'Marianna 2624' a maior concentração foi registrada nos explantes cultivados em meio contendo sacarose, que foi 51,9% superior a 'Myrobalan 29C' cultivado dentro da mesma fonte e dose de açúcar. A maior concentração de amido foi detectada nos explantes de 'Myrobalan 29C' cultivada na menor dose de sorbitol. Nesta mesma dose de açúcar, também foi superior em 28% comparado a 'Marianna 2624' (Tabela 1).

Tabela 1. Efeito da fonte/dose de açúcar sobre os parâmetros de crescimento e acúmulo de açúcares em porta-enxertos 'Myrobalan 29C' (Myr-29C) e 'Marianna 2624' (M-2624) cultivados in vitro

Genótipos	Fontes e dose de açúcar			
	Sacarose 30 g L ⁻¹ ($\Psi_s = -0,237$)	Sorbitol 11,65 g L ⁻¹ ($\Psi_s = -0,158$)	Sorbitol 17,43 g L ⁻¹ ($\Psi_s = -0,237$)	Sorbitol 23,31 g L ⁻¹ ($\Psi_s = -0,317$)
	Número médio de brotações por explante			
'Myr-29C'	4,40 ± 0,41 aB	1,18 ± 0,31 bC	3,50 ± 0,31 aBC	4,93 ± 0,47 aA
'M-2624'	3,12 ± 0,22 bA	2,94 ± 0,12 aA	2,50 ± 0,32 bA	2,68 ± 0,28 bA
CV (%)	19,93			
	Concentração de sacarose			
'Myr-29C'	206,17 ± 1,88 Ab	77,91 ± 10,70 Cb	90,74 ± 7,17 BCb	139,69 ± 19,84 Ba
'M-2624'	363,17 ± 10,18 Aa	172,11 ± 28,58 Ba	143,52 ± 15,40 Ba	130,29 ± 13,76 Ba
CV (%)	18,68			
	Polissacarídeos solúveis em água			
'Myr-29C'	29,47 ± 2,68 Bb	41,37 ± 0,58 Aa	37,58 ± 0,96 ABa	39,82 ± 2,26 ABa
'M-2624'	61,36 ± 6,76 Aa	36,13 ± 1,61 BCa	44,00 ± 1,13 Ba	29,97 ± 2,84 Cb
CV (%)	14,93			
	Concentração de amido			
'Myr-29C'	31,51 ± 1,70 Ba	42,34 ± 5,11 Aa	29,50 ± 0,71 Ba	35,44 ± 4,27 ABa
'M-2624'	31,71 ± 0,64 Aa	30,48 ± 2,10 Ab	29,89 ± 1,56 Aa	25,55 ± 1,21 Ab
CV (%)	16,58			

Médias seguidas de letras diferentes, maiúsculas na linha e minúsculas na coluna, diferem entre si pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade ($P \leq 0,05$); \pm o erro padrão ($n=4$); CV (%) – Coeficiente de Variação.

Para a concentração de açúcares solúveis totais somente verificou-se efeito significativo de cada fator isolado (Tabela 2). 'Mariana 2624' apresentou valores 12,4% maiores em relação a 'Myrobalan 29C'. Por outro lado, os explantes cultivados em sacarose apresentaram os maiores valores 66,7% maior em relação à média dos tratamentos onde foi utilizado sorbitol como fonte de açúcar, independente da dose.

Para o perfil de carboidratos, verificou-se que 30 g L⁻¹ de sacarose favoreceu o acúmulo de açúcares solúveis totais, sacarose, polissacarídeos solúveis em água, para ambos porta-enxertos, porém em maior intensidade em 'Marianna 2624' que parece se beneficiar mais da sacarose em relação à 'Myrobalan 29C'. Tais respostas reforçam a hipótese proposta por LUCHO et al. (2023) de que o uso de sorbitol, ao invés de sacarose, pode ser benéfico no cultivo in vitro dos explantes apenas por um certo tempo, havendo necessidade de retornar os explantes para o meio contendo sacarose para obter melhor desempenho fisiológico e bioquímico dos explantes. Por outro lado, o maior acúmulo de amido registrado em 'Myrobalan 29C', na menor dose de sorbitol, pode ter relação com deficiência energética nos

explantes, comprometendo a absorção principalmente de fósforo, conduzindo a uma menor disponibilidade deste nutriente no citosol das células. Tal deficiência limita o intercâmbio de trioses fosfatadas com o cloroplasto, que passa a acumular amido, em detrimento a outros processos que levam ao crescimento dos explantes.

Tabela 2. Concentração de açúcares solúveis totais (AST) em explantes dos porta-enxertos 'Myrobalan 29C' (Myr-29C) e 'Marianna 2624' (M-2624) cultivados in vitro com diferentes fontes e doses açúcar

Cult.	Fontes de doses de açúcar				Média
	Sac. 30 g L ⁻¹ ($\Psi_s = -0,237$)	Sor. 11,65 g L ⁻¹ ($\Psi_s = -0,158$)	Sor. 17,43 g L ⁻¹ ($\Psi_s = -0,237$)	Sor. 23,31 g L ⁻¹ ($\Psi_s = -0,317$)	
'Myr-29C'	614,11 ± 51,53	218,46 ± 16,40	211,21 ± 27,83	211,24 ± 30,21	313,76 ± 47,29 b
'M-2624'	731,47 ± 33,83	252,94 ± 17,68	229,46 ± 9,38	219,48 ± 5,54	358,34 ± 56,41 a
Média	672,79 ± 36,14A	235,70 ± 12,93B	220,34 ± 14,03B	215,36 ± 14,30B	
CV (%)	16,55				

Médias seguidas de letras diferentes, maiúsculas na linha e minúsculas na coluna, diferem entre si pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade ($P \leq 0,05$); \pm o erro padrão (n=4); CV (%) – Coeficiente de Variação.

4. CONCLUSÕES

Doses altas de sorbitol induzem o maior número de brotações por explante em 'Myrobalan 29C', por outro lado, é a menor dose que promove o maior acúmulo de polissacarídeos e amido. Como esperado, as maiores concentrações de sacarose e de AST foram observadas em explantes suplementados com sacarose.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AHMAD, T.; ABBASI, N. A.; HAFIZ, I. A.; ALI, A. Comparison of sucrose and sorbitol as main carbon energy sources in micropropagation of peach rootstock GF-677. **Pakistan Journal of Botany**, n. 39, p. 1269-1275, 2007.
- DRIVER, J. A.; KUNIYUKI, A. H. In vitro propagation of Paradoz walnut rootstock. **HortScience**, v. 19, n. 4, p. 507-509, 1984.
- FERREIRA, D. F. SISVAR: A computer analysis system to fixed effects split plot type designs. **Brazilian Journal of Biometrics**, v. 37, n. 4, p. 529–535, 2019.
- LUCHO, S.R.; SILVA, V.R.; EGEWARTH, J.; LEIVAS, G.L.; SILVA, F.L.; VAZ, B.S.; BIANCHI, V.J. Exogenous sorbitol modifies sugar metabolism, transport and signalling in in vitro-vrown 'Myrobalan 29C' according to tissue. **Journal of Plant Growth Regulation**, v.42, p.5011–5028, 2023.
- NETO, V. B. P.; OTONI, W. C. Carbon sources and their osmotic potential in plant tissue culture: does it matter?. **Scientia Horticulturae**, v. 97, n. 3-4, p. 193-202, 2003.
- YASEEN, M. et al. Review: role of carbon sources for in vitro plant growth and development. **Molecular Biology Reports**, v. 40, n. 4, p. 2837-2849, 2013.