

ESTABELECIMENTO *IN VITRO* DE OLIVEIRA, CULTIVAR ARBEQUINA, SOB DIFERENTES PERÍODOS DE ESCURO E CONCENTRAÇÕES DE ÁCIDO CÍTRICO

ROSEANE MOREIRA¹; LUANA BORGES AFFONSO², LAURA SOMMER²,
SAMILA CAMARGO², THAIS LIMA²; MÁRCIA SCHUCH³

¹ Universidade Federal de Pelotas- RS, e-mail: roseane_moreira@hotmail.com

² Universidade Federal de Pelotas- RS, e-mail: luanaffonso@yahoo.com.br,
laurarsommer@hotmail.com, samilasc@yahoo.com.br, thaisagro2004@yahoo.com.br

³ Universidade Federal de Pelotas- RS, e-mail: marciaws@ufpel.edu.br

1. INTRODUÇÃO

Predominante da Europa Mediterrânea, a cultura da oliveira (*Olea europaea*) recebe destaque pela sua importância econômica, que está relacionada a extração de óleos ou azeites utilizados na culinária. No Brasil o cultivo é uma atividade recente e em expansão (OLIVEIRA et al., 2009).

Atualmente, existem áreas com plantios comerciais nos estados do Rio Grande do Sul (Bagé, Cachoeira do Sul, Caçapava do Sul, Dom Pedrito, Encruzilhada do Sul, Rio Grande, Santana do Livramento e Vacaria), Minas Gerais (Maria da Fé) e em Santa Catarina (EMBRAPA, 2009). O volume de azeitonas importado anualmente é de aproximadamente 214 mil toneladas, fator este, que gera um aumento na demanda por mudas para suprir o mercado, exigindo da pesquisa novas informações técnicas para a produção destas mudas (CONAB, 2009). A oliveira é propagada vegetativamente por enxertia e estaquia em nível comercial, no entanto a micropropagação pode proporcionar um fornecimento adequado de plantas em um curto espaço de tempo. Através desta técnica é possível a rápida produção de plantas geneticamente homogêneas, e para a maioria das cultivares de oliveiras vêm apresentando resultados convenientes (RUGINI et al. 2001).

Os explantes mais indicados para a propagação clonal *in vitro* são os ápices caulinares, gemas axilares e meristemas isolados, por apresentarem determinação para o crescimento vegetativo (GRATTAPAGLIA; MACHADO, 1998). A oxidação fenólica é um dos problemas enfrentados no estabelecimento inicial de algumas culturas, que ocorre devido ao dano causado nas células durante a excisão dos explantes. Para controlar a oxidação alguns autores indicam a adição de antioxidantes ao meio de cultura, como por exemplo ácido ascórbico, carvão ativado e incubação inicial dos explantes no escuro. Segundo GEORGE (1996) o ácido cítrico reage com os metais presentes no meio de cultura, evitando que os mesmos fiquem disponíveis para se oxidarem.

Objetivou-se com o presente trabalho avaliar diferentes concentrações de ácido cítrico e períodos de escuro no estabelecimento *in vitro* de oliveira cv. arbequina.

2. METODOLOGIA

O experimento foi conduzido no Laboratório de Propagação de Plantas Frutíferas, Departamento de Fitotecnia da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, da Universidade Federal de Pelotas, RS.

Foram utilizadas brotações herbáceas de oliveira cv. arbequina, de plantas matrizes mantidas em sistema semi-hidropônico, irrigadas com solução nutritiva formulada por Schuch e Peil (2012) de acordo com as necessidades da planta. As brotações foram desinfestadas utilizando álcool a 70%, permanecendo os explantes imersos sob agitação, durante 1 minuto. O componente a base de cloro, hipoclorito de sódio, foi utilizado na concentração de 2,5% de cloro ativo, adicionando-se duas gotas de Tween 20, durante 15 minutos em contato com os explantes, sob agitação. Na seqüência, o material desinfestado foi lavado três vezes com água destilada e esterilizada em câmara de fluxo laminar, e realizou-se o isolamento dos explantes.

Para diminuir a contaminação *in vitro*, as plantas matrizes foram pulverizadas a cada dois dias, por no mínimo três aplicações, com o fungicida Cercobin na dose de 0,7gL⁻¹.

Para o estabelecimento *in vitro* de oliveira, utilizou-se três concentrações de ácido cítrico (0, 50 e 100mg/L), para cada concentração foram testados três períodos de escuro (7, 14 e 21 dias) totalizando 9 tratamentos, constituídos dos sais e vitaminas do meio de cultura MO (RUGINI, 1984) adicionado de 2mg/L BAP. Acrescidos de 100mgL⁻¹ de mio-inositol, 30gL⁻¹ de sacarose, sendo o pH ajustado para 5,8 antes da inclusão do ágar na concentração de 6gL⁻¹ e, posteriormente, autoclavado a 121°C e 1,5 atm por 20 minutos. Foram utilizados tubos de ensaio (150x20mm) com 5mL de meio de cultura.

Em seguida, os explantes foram submetidos a diferentes períodos de escuro, sendo posteriormente transferidos para sala de crescimento com 16 horas de fotoperíodo com radiação de 27μmolesm⁻²s⁻¹, temperatura de 25 ± 2°C. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com cinco repetições por tratamento. Cada repetição foi constituída de 10 tubos com um explante.

Foram avaliadas as porcentagens de oxidação, contaminação bacteriana e contaminação fúngica no período de 7, 14 e 21 dias. Os frascos que apresentaram contaminação bacteriana e fúngica assim como oxidação, foram anotados e eliminados. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias dos tratamentos comparadas estatisticamente pelo teste de Tukey a 5 %, através do programa estatístico.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Verificou-se a interação entre os fatores estudados para as variáveis concentrações de ácidos e períodos de escuro. A maior oxidação observada, foi no período de 21 dias no escuro para todas as doses testadas (Tabela 1). Segundo Grattapaglia e Machado (1998), a oxidação ocorre no isolamento de explantes de espécies lenhosas, cujos tecidos são mais ricos em compostos fenólicos, precursores da síntese de lignina. A dose de 100 mg/L de ácido cítrico apresentou a menor porcentagem de oxidação nos períodos (7 e 14 dias). Estudos realizados por Albino *et al.* (2010) também mostraram ocorrência de oxidação para os explantes foliares de bacupari submetidos a tratamentos com ácido cítrico.

Tabela 1- Média em porcentagem de oxidação em explantes de oliveira (*Olea europaea*) "Arbequina" em diferentes doses de ácido cítrico e períodos de escuro. UFPel, Pelotas-RS, 2013.

Períodos	Doses (mg/L)					
	0		50		100	
7	20	Ab	10	ABb	4	Bb
14	10	Ab	0	Ab	16	Bb
21	72	Aa	48	Aa	56	Aa
CV (%)						31,5

Médias seguidas por letras distintas diferem entre si pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

Não foi observada diferença significativa para as variáveis contaminação fúngica e bacteriana nas diferentes doses (0, 50 e 100mg/L) de ácido cítrico e períodos testados (7, 14 e 21). Rosa et al. (2009), também não observaram relação quanto às contaminações fúngicas e bacterianas com o período em que os explantes de mirtilo permaneceram sob o escuro, não obtendo influência no resultado total de contaminação. Estes resultados, possivelmente se devem, as condições da planta matriz, mantidas em sistema semi-hidropônico e ambiente protegido (casa de vegetação), além de pulverizações semanais com fungicida e bactericida. A condição fitossanitária da planta matriz determina o grau de facilidade do processo de eliminação de microrganismos contaminantes existentes no explante, durante a sua introdução *in vitro* (MONTARROYOS, 2000).



Figura 1: Explantes de oliveira cv. arbequina em meio de cultura MO em diferentes concentrações de ácido cítrico.

4. CONCLUSÕES

A utilização de ácido cítrico nas doses testadas, bem como o período de escuro não promovem controle da oxidação de maneira significativa em explantes de oliveira.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBINO, B.E.S.; SANTOS, B.R.; BALIEIRO, F.P.; BARBOSA, S.; SANTOS, M.H.; FERREIRA, E.B. Controle da oxidação no estabelecimento *in vitro* de bacupari. In: **XIX CONGRESSO DE PÓS GRADUAÇÃO DA UFLA.**, Lavras, 2010

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Indicadores da agropecuária.** Brasília, 2009. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/conabweb/index.php?PAG=212>>. Acesso em: 14 set. 2009.

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Cultivo de Oliveira (Olea europaea L)** Disponível em: http://www.cpact.embrapa.br/publicacoes/catalogo/tipo/sistemas/sistema16_novo/11_mercados_e_comercializacao.htm. Acesso em: 01 de outubro de 2013.

GEORGE, E. F. Establishment. In: Plant propagation by tissue culture: Edington: **Exegetics**, P. 190-320. 1996.

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.

- MONTARROYOS, A.V.V. Contaminação *in vitro*. **ABCTP Notícias**, Brasília, n.36 e 37, p.5-10, 2000

OLIVEIRA, A. F.; VIEIRA NETO, J.; GONÇALVES, E. D.; MESQUITA, D. L. **Pioneirismo marca pesquisa sobre oliveira em Minas Gerais.** Informe Agropecuário, Belo Horizonte, v.30, p. 7-15, 2009b.

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.

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.

RUGINI E.; BIASI R et al L'organizzazione di un moderno vivaismo olivicolo alla base della produzione di piante certificate. **Frutticoltura** 5:11-24, 2001.

SCHUCH, M.W.; PEIL, R.M.N. Soilless cultivation systems: A new approach in fruit plants propagation in southern Brazil. **Acta Horticulturae**, v.952, p.877-883, 2012.