



GERMINAÇÃO *IN VITRO* DE ARAÇÁ-VERMELHO (*Psidium cattleianum* Sabine var. *humile*)- MYRTACEAE

BERNARDY, Katieli¹; FAGUNDES, Laidines Seibel¹;
KOEENDER, Jana²; KAIPER, Cristiane³, GOLLE, Diego Pascoal^{4,5}

Palavras-Chave: Frutífera nativa.Desinfestação.Cultura de Tecidos.

Introdução

O araçá-vermelho (*Psidium cattleianum* Sabine var.*humile*) possui diversas características de interesse, entretanto, pode-se destacar seu potencial na fruticultura. Seus frutos podem ser utilizados desde o consumo *in natura* até em diferentes formas processadas (doces, sorvetes, geleias e licores). Possuem, ainda, elevado valor nutricional devido ao seu baixo teor de açúcar, grande riqueza em nutrientes, presença de vitamina C e compostos fenólicos (CORRÊA, 2009; SANTOS et al., 2007).

Porém, existe uma grande dificuldade na propagação seminal desta espécie, pois suas sementes são recalcitrantes e, por isso, 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 vegetativa, especialmente por meio de técnicas de cultura de tecidos. (SOUZA et al., 2006; XAVIER et al., 2007). Neste sentido, o presente trabalho visou obter protocolos para a germinação asséptica *in vitro* de araçá-vermelho (*P. cattleianum* Sabine var. *humile*), visando permitir o uso futuro de segmentos cotiledonares na multiplicação *in vitro*.

Material e Métodos

As sementes utilizadas neste estudo são oriundas de frutos coletados de uma única planta matriz situada no Campus da Universidade de Cruz Alta. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, utilizando-se esquema trifatorial 2 x 2 x 5, onde os níveis do fator “A” corresponderam a dois meios de cultura – meio MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962) e WPM (LLOYD; McCOWN, 1981); os níveis do fator “B” corresponderam

¹Acadêmicas do curso de Ciências Biológicas da Universidade de Cruz Alta. E-mail: katibernardy@hotmail.com; laidines@ibest.com.br

²Professora, Dr^a, Universidade de Cruz Alta. E-mail: jkoefender@unicruz.edu.br

³Bióloga, Esp., Assistente de Laboratório, Universidade de Cruz Alta. E-mail: ckaiper@unicruz.edu.br

⁴Professor, Orientador, Dr., Universidade de Cruz Alta. E-mail: diego.golle@gmail.com

⁵Polo de Inovação Tecnológica do Alto Jacuí, Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais “in vitro”, Prédio 1, Sala 111, Campus, UNICRUZ, Cruz Alta, RS, Brasil. Cep: 98.020-290.



a diferentes agentes desinfestantes – hipoclorito de sódio (NaOCl) e hipoclorito de cálcio ($\text{Ca}(\text{ClO})_2$); e os níveis do fator “C” diferentes concentrações destes mesmos desinfestantes, a saber: 0, 1, 2, 3 e 4% (v/v para NaOCl e m/v para $\text{Ca}(\text{ClO})_2$). A desinfestação seguiu a sequência: imersão em etanol a70% (v/v) por 1 minuto; imersão em solução do agente desinfestante nas concentrações testadas e acrescido de duas gotas de Tween 20[®], por 15 minuto; triplo enxágue em água destilada estéril.

O experimento teve um total de 16 tratamentos (AxBxC) com cinco repetições, sendo a unidade experimental composta por um frasco de vidro com capacidade para 200 mL, contendo 30 mL de meio nutritivo e 10 sementes, totalizando 100 parcelas e 1000 sementes semeadas. Os meios de cultura foram acrescidos de 30 g L⁻¹ de sacarose, 100 mg L⁻¹ de mio-inositol e 7 g L⁻¹ de ágar. O pH foi ajustado em 5,8 e os meios foram esterilizados 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 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

Aos 30 dias, foram avaliadas as variáveis: contaminação fúngica (%), contaminação bacteriana (%) e germinação (%). Aos 60 dias, avaliou-se a sobrevivência (%) e o comprimento (cm) das plântulas. Os dados foram submetidos à análise de variância e, quando necessário, foi avaliada primeiramente a ocorrência ou não de interação para posteriormente proceder-se com o desdobramento das mesmas ou, se ocorreu efeito de fatores isoladamente, as análises complementares adequadas (análise de regressão polinomial para fatores quantitativos e teste de Tukey ($\alpha=0,05$) para fatores qualitativos).

Resultados e Discussão

Não se observou interação nem diferenças para os fatores isolados no que se refere a variável contaminação fúngica, a qual ocorreu em apenas 10,60% dos explantes, o que pode ser considerado baixo para uma espécie lenhosa. Segundo Erig e Schuch (2003), em micropropagação em plantas lenhosas a presença de contaminantes é frequente e geralmente em taxas elevadas nas etapas iniciais de estabelecimento *in vitro*.

Para a ocorrência de contaminações bacterianas, não se observou interação, sendo significativas apenas as diferenças entre os níveis testados de desinfestantes ($P= 0,0001$) independente de qual deles (FIGURA 1 A). No tratamento testemunha (0% de hipoclorito) houve 60% de contaminação bacteriana, sendo que nos demais, as contaminações reduziram e foi possível obter-se cultivos totalmente assépticos.

Para germinação, também não foi observada interação entre os fatores estudados, sendo significativa ($P= 0,0033$) apenas a concentração do agente desinfestante (FIGURA 1



B). O modelo da equação de regressão ajustou-se a uma função linear, onde se observou o aumento dos níveis de germinação com o aumento das concentrações do desinfestante, o que permite inferir que a redução nas contaminações favoreceu o processo germinativo. Esse resultado está de acordo com observações de Corder e Borges Júnior (1999) que, ao germinarem sementes de *Acacia mearnsii* em condições *in vitro*, observaram que a presença de fungos e bactérias nas sementes foi o fator principal da ausência de germinação.

Observou-se, para a variável sobrevivência, apenas efeito das diferentes concentrações ($P= 0,0001$) de desinfestante, as quais ajustaram-se a um modelo quadrático (FIGURA 1 C) de regressão polinomial. Os pontos máximos de sobrevivência com o uso de 2 e 3 % de desinfestante (90,50 e 91,00% respectivamente), entretanto, com o uso de 4%, inicia a redução da taxa de sobrevivência (86%) possivelmente por injúrias sofridas pelo excesso de desinfestante. De acordo com GEORGE (1993) a concentração e o tempo de exposição aos desinfetantes dependem do material vegetal e a resposta varia de acordo com a sensibilidade dos tecidos. Este mesmo comportamento foi observado para a variável comprimento ($P=0,0001$), onde os pontos máximos de comprimento foi com o uso de 3% de desinfestante (FIGURA 1 D). Não houve distinção entre o uso de meio MS e meio WPM para o cultivo *in vitro* de *C. guazumifolia*.

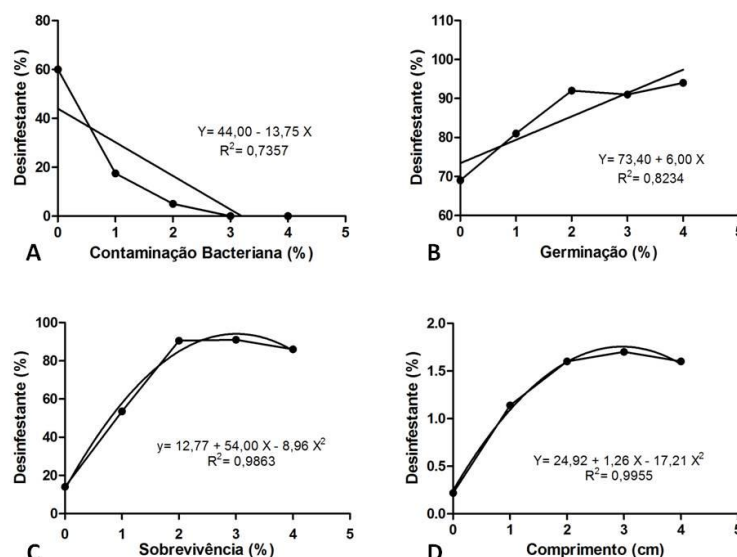


FIGURA 1 – Efeito de diferentes concentrações de agentes desinfestantes sobre a contaminação bacteriana(A), germinação (B), sobrevivência (C) e no comprimento (D) de plântulas de arará-vermelho cultivadas *in vitro*. Cruz Alta, RS, UNICRUZ, 2012.



Conclusão

A germinação *in vitro* de araçá-vermelho é um método promissor para a obtenção de fontes assépticas de explantes para o cultivo *in vitro*. O uso de meio MS ou WMP é indiferente, assim como o uso de hipoclorito de sódio ou de cálcio na desinfestação. Entretanto, as concentrações de desinfestantes devem ser entre 3 e 4% durante 15 minutos.

Referências

- CORDER, M. P. M.; BORGES JUNIOR, N. Desinfestação e quebra de dormência de sementes de *Acacia mearnsii* de Wil. **Ciência Florestal**, v. 9, n. 2, p. 1-7, 1999.
- 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.
- ERIG, A. C., SCHUCH, M. W. Tipo de explante e controle da contaminação e oxidação no estabelecimento *in vitro* de plantas de macieira (*Malus domestica* BORKH.) cvs. Galaxy, Maxigala e Mastergala. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 9, n. 3, p.221-227, 2003.
- FRANZON, R. C. Espécies de araçás nativos merecem maior atenção da pesquisa. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2009. Disponível em: <http://www.cpac.embrapa.br/noticias/artigosmidia/publicados/133/>. Acesso em: 22 mar. 2012.
- GEORGE, E.F. **Plant propagation by tissue culture: the technology**. Edington: Exegetics Limited, 1993. 574 p. (v.1).
- LLOYD, G.; McCOWN, B. Commercially feasible micropropagation of mountains laurel, *Kalmia latifolia* by use of shoot tip culture. **Combined Proceedings International Plant Propagators Society**, Washington, v. 30, p. 327 - 421, 1981.
- 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.
- SANTOS et al. Caracterização do suco de araçá vermelho. (*Psidium cattleianum* Sabine) extraído mecanicamente e tratado enzimaticamente. **Acta Scientiarum Agronomy**. Maringá, v. 29, supl., p. 617-621, 2007.
- 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.
- XAVIER, A.; OTONI, W.C.; PENCHEL, R.M. Micropropagação e enxertia *in vitro* de espécies florestais. In: BORÉM, A. (Ed.) **Biotecnologia florestal**. Viçosa: Ed. UFV, p. 55 - 74. 2007.