

# Micropropagação de Amoreira-preta 'Cherokee'

## III. Efeito de Cinetina e Meios de Cultura

---

*Leila Aparecida Salles Pio*

*Fabiola Villa*

*Leonardo Ferreira Dutra*

*Grazielle Sales Teodoro*

*Moacir Pasqual*

### Introdução

A multiplicação *in vitro* permite a obtenção de milhares de plantas isentas de vírus, geneticamente uniformes e em curto espaço de tempo (Pasqual et al., 1991). Embora alguns métodos tradicionais sejam comumente usados, a técnica de cultura de tecidos juntamente com o uso de reguladores de crescimento e meios adequados podem eventualmente tornar-se um método preferido de propagação (Caldwell, 1984).

Dentre os diversos reguladores de crescimento as citocininas desempenham papel importante, sendo o tipo e sua concentração os principais fatores que influenciam o sucesso da multiplicação *in vitro*. O BAP é a citocinina mais utilizada, entretanto, a cinetina tem apresentado resultados satisfatórios.

Os meios nutritivos utilizados na micropropagação fornecem as substâncias essenciais para o crescimento dos tecidos e controlam, em grande parte, o padrão de desenvolvimento *in vitro*. Embora o meio MS (1962) tenha favorecido o crescimento e desenvolvimento de várias espécies, a utilização de composições mais diluídas têm fornecido melhores respostas (Grattapaglia e Machado, 1998).

O presente trabalho teve como objetivo determinar a melhor concentração de cinetina e tipo de meio para a multiplicação *in vitro* de plântulas de amoreira-preta.

### Material e Métodos

Segmentos nodais de amoreira-preta, cultivar Cherokee, com cerca de 2 cm, foram excisados de plântulas preestabelecidas *in vitro*, em meio MS, sem reguladores de crescimento. Os explantes foram inoculados em tubo de ensaio contendo 15 ml dos meios Knudson (1946),  $\frac{1}{2}$  Knudson, B5 (Gamborg et al., 1968) e White (1963) combinados com cinco concentrações de cinetina (0; 0,5; 1,0; 2,0 e 4,0 mg L<sup>-1</sup>). Os meios tiveram o pH ajustado em 5,8 antes da autoclavagem e foram solidificados com 6 g L<sup>-1</sup> de ágar. Posteriormente os explantes foram transferidos para sala de crescimento a 27 ± 1 °C, irradiância de 35 mmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> e fotoperíodo de 16 horas, permanecendo nestas condições por 60 dias.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado com quatro repetições constituídas de quatro tubos contendo um explante cada. As variáveis analisadas foram número de folhas, número de brotos, comprimento e peso da parte aérea, presença de raízes e peso fresco de calos. Os resultados foram submetidos à análise de variância com o software SISVAR (Ferreira, 2000), sendo utilizado regressão polinomial para concentrações de cinetina e teste de Tukey para tipos de meio.

### Resultados e Discussões

Maior média de brotos foi verificada em meio B5, enquanto que, para comprimento dos brotos, os meios B5,  $\frac{1}{2}$  Knudson e Knudson não diferiram estatisticamente (Tabela 1). Com o aumento das concentrações de cinetina, o número de folhas aumentou, sendo o maior número de folhas (9,45) observado com 4,31 mg L<sup>-1</sup> do regulador de crescimento (Figura 1).

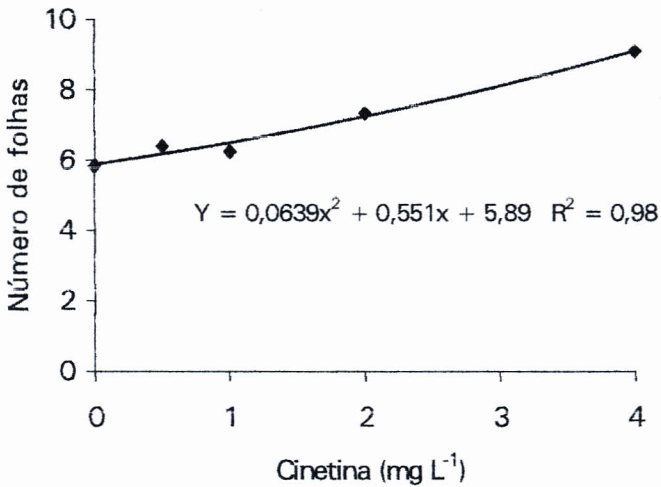
A multiplicação de brotos ocorreu apenas nos tratamentos que continham cinetina associada aos meios B5 e Knudson (Figura 2).

Houve pouca ou nenhuma formação do sistema radicular dos explantes inoculados no meio White. Maior número de brotos (1,75 e 1,44) foi observado com 4 mg L<sup>-1</sup> de cinetina nos meios B5 e ½ Knudson, respectivamente.

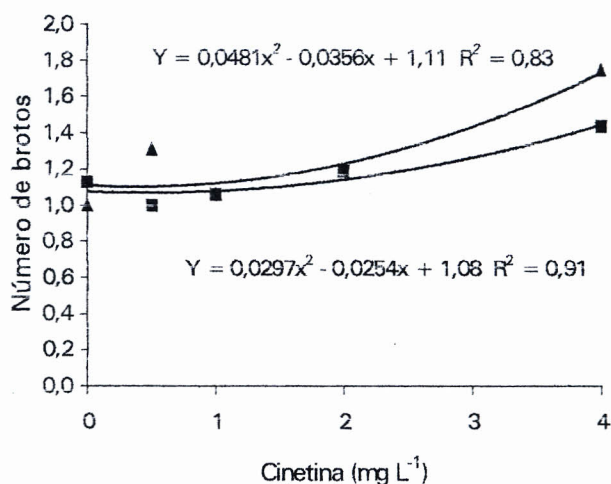
**Tabela 1.** Número de folhas, comprimento e peso fresco da parte aérea de plântulas de amoreira-preta Cherokee em diferentes tipos de meio. UFLA, Lavras, MG, 2004.

Meio	Número de folhas	Peso fresco da parte aérea (g)	Comprimento da parte aérea (cm)
B5	8,71 a	0,76 a	2,02 a
½ Knudson	7,66 b	0,75 b	1,99 a
Knudson	7,19 b	0,74 b	2,04 a
White	4,42 c	0,73 c	1,61 b

Maior peso fresco da parte aérea (0,752 g) foi obtido com 4 mg L<sup>-1</sup> de cinetina. Porém, com o aumento das concentrações desse regulador houve decréscimo no peso fresco da parte aérea. É possível que essa redução no tamanho dos brotos seja devido ao efeito tóxico causado pelo excesso de citocinina.



**Figura 1.** Número de folhas em plântulas de amoreira-preta, cultivar Cherokee, com diferentes concentrações de cinetina. UFLA, Lavras, MG, 2004.



**Figura 2.** Número de brotos em plântulas de amoreira-preta, cultivar Cherokee, com diferentes concentrações de cinetina e tipos de meio. UFLA, Lavras, MG, 2004.

A formação de calos ocorreu apenas em meio B5 nas diferentes concentrações de cinetina. Possivelmente, a concentração de nutrientes presente nesse meio associada à cinetina é suficiente para que o calo se desenvolva.

### Conclusões

Maior média de brotos foi verificada em meio de cultura B5. A multiplicação de brotos ocorreu apenas nos tratamentos que continham cinetina associada aos meios de cultura B5 e Knudson. Houve pouca ou nenhuma formação do sistema radicular nos tratamentos que continham o meio White.

## Referências Bibliográficas

- CALDWELL, J.D. Blackberry propagation. **HortScience**, Alexandria, 19(2), p. 13-15, 1984.
- 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, 45, 2000, São Carlos. **Anais...** São Carlos: UFSCar. 2000. p. 225-258.
- GAMBORG, O.L.; MILLER, R.A.; OJIMA, K. Nutrition requirements of suspension cultures of soybean root cells. **Experimental Cellular Research**, n.50, p.151-158, 1968.
- GRATTAPAGLIA, D.; ASSIS, T.F.; CALDAS, L.S. Efeito residual de BAP (6-benzilaminopurina) e NAA (ácido naftaleno acético) na multiplicação e enraizamento *in vitro* de Eucalyptus. In: SIMPÓSIO NACIONAL DE CULTURA DE TECIDOS VEGETAIS, 2., 1987, Brasília, DF. **Resumos...** Brasília, 1987, p.8.
- KNUDSON, L. A new nutrient solution for the germination of orchid seed. **American Orchid Society Buletim**, v. 14, p. 214- 217, 1946.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.15, n.3, p.473-497, 1962.
- PASQUAL, M.; PEIXOTO, P.H.P.; SANTOS, J.C. dos; PINTO, J.E.B.P. Propagação *in vitro* da amora-preta (*Rubus* sp.) cv. Ébano: uso de reguladores de crescimento. **Ciência e Prática**, Lavras, 15(3), p. 282-286, 1991.
- WHITE, P.R. **A handbook of plant tissue culture**. Lancaster, The Jacques Cattell Press. 1963.