



EFEITOS DO ÁCIDO NAFTALENOACÉTICO E BENZILAMINOPURINA NA CONSERVAÇÃO IN VITRO DE TANGERINEIRA ‘SUNKI MARAVILHA’

Resumo: O trabalho teve por objetivo avaliar o efeito do ácido naftalenoacético (ANA) e benzilaminopurina (BAP) no comportamento in vitro de tangerineira ‘Sunki Maravilha’. Para isso, microestacas de plantas da tangerineira ‘Sunki Maravilha’, cultivadas in vitro com aproximadamente 1 cm, foram inoculadas em meio WPM suplementado com concentrações de ANA e BAP. As microestacas foram cultivadas em sala de crescimento sob condições controladas durante 12 meses, avaliando-se as variáveis altura de planta (cm), número de folhas verdes, número de folhas mortas, número de brotos e peso de matéria seca da planta (g). Os resultados indicaram que a utilização do meio de cultura WPM na conservação in vitro da tangerineira ‘Sunki Maravilha’ não necessita da presença do regulador de crescimento ANA, sendo viável a adição de $0,73 \text{ mg.L}^{-1}$ e 1 mg.L^{-1} de BAP para retardar o crescimento das plantas, mantendo um número significativo de folhas verdes durante 12 meses.

Palavras-chave: citros, cultura de tecidos, reguladores de crescimento

Introdução

Na conservação in vitro de germoplasma alguns fatores são considerados importantes, entre eles o meio de cultura e os reguladores de crescimento, estes tendo como objetivo principal suprir as possíveis deficiências dos teores endógenos de hormônios nos explantes que se encontram isolados das regiões produtoras na planta-matriz (GRATTAPAGLIA e MACHADO, 2006). As auxinas e citocininas são as classes de reguladores mais utilizadas no cultivo in vitro (CALDAS et al., 2006), sendo o ácido naftalenoacético (ANA) a auxina mais empregada para estimular o crescimento das partes aéreas, o enraizamento do explante inicial e a manutenção de um caule único com dominância apical. As citocininas são conhecidas por regular a divisão celular das partes aéreas nos vegetais e promover o crescimento de gemas laterais (TAIZ e ZEIGER, 2006). Das citocininas comercialmente disponíveis, a 6-benzilaminopurina (BAP) é a que, em geral, apresenta melhores resultados, podendo variar bastante suas concentrações em função da espécie e do tipo de explante (GRATTAPAGLIA e MACHADO, 2006). Visto a necessidade do desenvolvimento de um protocolo para a conservação do germoplasma de citros, este trabalho teve por objetivo avaliar o efeito do ANA e BAP no comportamento in vitro de tangerineira ‘Sunki Maravilha’.



Material e Métodos

Utilizou-se microestacas de plantas da tangerineira ‘Sunki Maravilha’ previamente cultivadas in vitro, com aproximadamente 1 cm. Estas foram inoculadas em tubos de ensaio com 10 mL do meio WPM (LLOYD e MCCOWN, 1980) suplementado com concentrações de ANA (0; 0,02 e 0,04 mg.L⁻¹), BAP (0; 0,25; 0,50; 0,75 e 1 mg.L⁻¹), 25 g.L⁻¹ de sacarose, solidificado com 7 g.L⁻¹ de ágar e pH ajustado em 5,8 antes da autoclavagem, sendo mantidas sob condições controladas durante 1 ano.

O experimento foi instalado no delineamento inteiramente casualizado, com número de repetições variando entre 12 e 15, e cada parcela experimental foi constituída de um tubo de ensaio contendo uma microestaca, no esquema fatorial 3 (concentrações de ANA) x 5 (doses de BAP). Após 12 meses de cultivo in vitro foram avaliadas as variáveis altura de planta (cm) número de folhas verdes, número de folhas mortas, número de brotos e peso da matéria seca da planta (g). As variáveis número de folhas verdes, mortas e de brotos foram transformadas para $\sqrt{x+0,5}$. Os dados obtidos foram submetidos ao teste F da análise de variância. As médias das concentrações de ANA foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade e para as médias das concentrações de BAP foram ajustados modelos de regressão polinomial. As análises estatísticas foram realizadas pelo programa estatístico SAS – *Statistical Analysis System* (Sas Institute, 2004).

Resultados e Discussão

Na conservação de germoplasma in vitro procura-se cultivar plantas menores e com maior número de folhas verdes, o que vai aumentar o intervalo entre os subcultivos e reduzir os custos do processo, o risco de contaminações e surgimento de variação somaclonal devido a uma maior manipulação do tecido vegetal. Na Figura 1 observa-se através de um modelo quadrático que a dose ótima de BAP (0,73mg.L⁻¹) proporciona a obtenção de plantas com menor altura (1,70 cm).

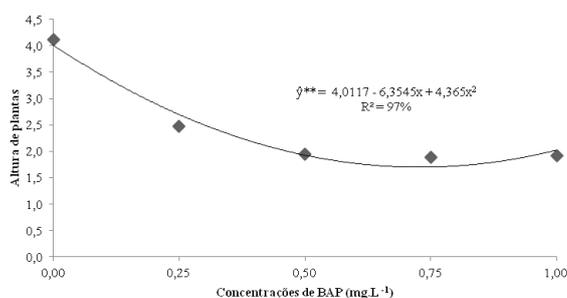


Figura 1. Altura de plantas (cm) em função das concentrações de BAP.



O maior número de folhas verdes foi obtido sem adição de ANA no meio de cultura (Tabela 1) e à medida que se aumentou a concentração de BAP (Figura 2), sendo que a utilização da concentração de 1 mg.L^{-1} desta citocinina proporcionou o número máximo de folhas verdes (12,71).

Tabela 1. Número de folhas verdes em função das concentrações de ANA (mg.L^{-1}).

Concentrações de ANA	Médias
0,00	12,5273 a
0,02	8,8594 b 9,2500 b

Médias seguidas das mesmas letras não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

O peso da matéria seca das plantas variou em função das concentrações de ANA e BAP, apresentando os melhores resultados nas concentrações de 0,02 e 0,04 mg.L^{-1} de ANA e com a adição de 0,25 mg.L^{-1} de BAP (Tabela 2). Não foi possível o ajuste de um modelo com significado biológico para analisar as concentrações de BAP. No entanto, na concentração de 0,02 mg.L^{-1} de ANA não é necessário a adição de BAP para se atingir o peso máximo da matéria seca da planta (0,09). Já na concentração de 0,04 mg.L^{-1} de ANA a dose ótima de BAP que proporcionou o maior peso de matéria seca (0,07) foi 0,25 mg.L^{-1} (Figura 3).

Tabela 2. Peso da matéria seca da planta (g) em função das concentrações de ANA (mg.L^{-1}) dentro de cada dose de BAP (mg.L^{-1}).

ANA	BAP				
	0,00	0,25	0,50	0,75	1,00
0,00	0,0564 b	0,0428 c	0,0629 a	0,0414 a	0,0447 a
0,02	0,1049 a	0,0799b	0,0340 b	0,0315 a	0,0359 a
0,04	0,0922 a	0,1008 a	0,0349 b	0,0359 a	0,0331 a

Médias seguidas das mesmas letras minúsculas nas colunas não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Os resultados indicam que a conservação in vitro da tangerineira ‘Sunki Maravilha’ é possível com a utilização do meio de cultura WPM sem adição do regulador de crescimento ANA e com a adição de 0,73 e 1 mg.L^{-1} de BAP para retardar o crescimento das plantas e manter um número de folhas verdes significativo. Lima et al. (2011) encontraram uma média de 3,05 folhas por broto em *Billbergia portearna* utilizando o meio MS acrescido de 2,5 μM BAP + 0,5 μM ANA, mas sem

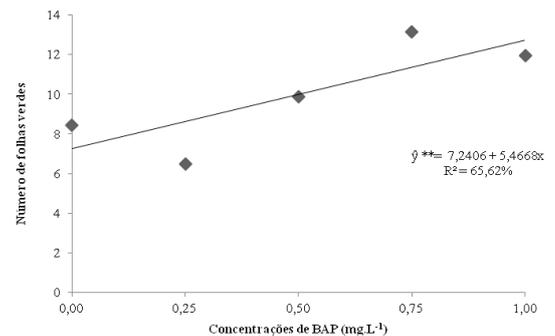


Figura 2. Número de folhas verdes em função das concentrações de BAP (mg.L^{-1}).

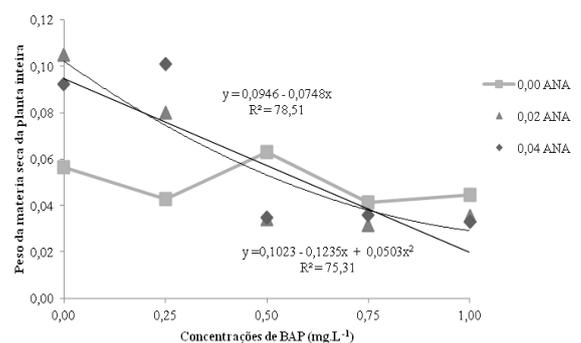


Figura 3. Peso da matéria seca da planta inteira (g) em função das concentrações de BAP (mg.L^{-1}) dentro de cada nível de ANA (mg.L^{-1}).



diferença estatística do controle (3,60). Este padrão de resposta também foi observado no mesmo trabalho, com a espécie *B. euphemiae*, onde o número médio de folhas não apresentou diferença significativa em relação ao controle.

Conclusão

A utilização do meio de cultura WPM na conservação in vitro da tangerineira ‘Sunki Maravilha’ não necessita da adição do regulador de crescimento ANA, sendo, entretanto, viável, a adição de BAP para retardar o crescimento das plantas.

Referências Bibliográficas

- CALDAS, L. S.; HARIDASAN, P.; FERREIRA, M. E. Meios nutritivos. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S. **Técnicas e aplicações de cultura de tecidos de plantas**. Brasília: Ministério da Agricultura, v. 1, p. 87-132. 2006.
- GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M.A. Micropropagação. In: TORRES, A.C.; CALDAS, L.S. **Técnicas e aplicações de cultura de tecidos de plantas**. Brasília: Ministério da Agricultura, Cap.9, p.99-170. 2006
- LIMA, M. A. DE; JÚNIOR, L. A. C.; SOUSA, K. C. I.; JÚNIOR, V. DE A. P.; CARNEIRO, M. DE F.; SIBOV, S. T. Germinação in vitro e avaliação do desenvolvimento de plântulas de 30 *Billbergia porteana* brong. Ex beer (Bromeliaceae). In: Reunião Anual da SBPC, 63., 2011, Goiania. **Anais...** Goiania: UFG. 2011.
- LLOYD, G.; McCOWN, B. Commercially-feasible micropropagation of mountain laurel, *Kalmia latifolia*, by use of shoot-tip culture. **International Plant Propagators Society Proceedings**, n. 30, p. 421-427, 1980.
- SAS INSTITUTE. **SAS user's guide**: statistic: version 9.1.3. Cary: SAS Institute, 2004. 846 p.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 3ª edição. Porto Alegre: Artmed. 820p. 2006.