



EFEITO DO CARVÃO ATIVADO E ÁCIDO GIBERÉLICO NA CONSERVAÇÃO IN VITRO DE TANGERINEIRA 'CLEÓPATRA' (*Citrus reshni hort. ex Tanaka*)

MARIANE DE JESUS DA SILVA DE CARVALHO¹; EMANUELA BARBOSA SANTOS²;
MARIA GEROLINA SILVA CARDOSO³; ANTÔNIO DA SILVA SOUZA⁴; FERNANDA
VIDIGAL DUARTE SOUZA⁴; CARLOS ALBERTO DA SILVA LEDO⁴; WALTER DOS
SANTOS SOARES FILHO⁴

INTRODUÇÃO

O sucesso para qualquer via de regeneração *in vitro* depende de vários fatores, onde os fitorreguladores se destacam como os principais controladores da morfogênese. O efeito da giberelina, fitorregulador utilizado em cultura de tecidos, pode ser observado no comprimento da parte aérea, onde participa de muitas atividades fisiológicas importantes, tendo efeito no crescimento, especialmente no alongamento caulinar (CROCOMO; CABRAL, 1988), além de atuar também no alongamento das brotações durante a multiplicação ou antes do enraizamento.

Outro componente utilizado que beneficia o desenvolvimento de plantas *in vitro* é o carvão ativado, que atua na captação de algum gás ou soluto presente na sua superfície, removendo os hidrocarbonetos do sistema, e com a capacidade de absorção de fenóis e fitorreguladores em excesso nos explantes conservados *in vitro*. Adsorve substâncias inibitórias do meio e produtos tóxicos liberados pelos explantes (com isso evita a oxidação destes), e promove o crescimento de embriões, podendo ser utilizado com sucesso por diferentes culturas entre 0,2% e 3% (PASQUAL et al., 2001). Em contrapartida, Tomaz et al. (2001) notaram que o carvão ativado influenciou negativamente a germinação de embriões zigóticos de *Citrus sinensis*, conferindo tal efeito à capacidade do carvão ativado em adsorver compostos essenciais para o processo de germinação, podendo até interferir na quantidade real de reguladores de crescimento disponíveis para os explantes. Em vista disso, o trabalho teve como objetivo avaliar o efeito do carvão ativado e ácido giberélico (AG₃) no desenvolvimento de plantas da tangerineira conservadas *in vitro*.

¹Eng. Agr., estudante de pós-graduação, Universidade Federal do Recôncavo da Bahia-BA, e-mail: marianejs@yahoo.com.br

²Estudante de Eng. Agr., bolsista FAPESB, Universidade Federal do Recôncavo da Bahia-BA, e-mail: emanuela_bs@hotmail.com

³Eng. Agr., Cruz das Almas-BA, e-mail: ninaconceicao@hotmail.com

⁴Eng. Agr., pesquisador Embrapa Mandioca e Fruticultura-BA, e-mail: assouza@cnpmf.embrapa.br; fernanda@cnpmf.embrapa.br; ledos@cnpmf.embrapa.br

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado no Laboratório de Cultura de Tecidos da Embrapa Mandioca e Fruticultura, Cruz das Almas, Bahia. Como material vegetal utilizou-se microestacas de plantas da tangerineira 'Cleópatra' previamente cultivadas in vitro, com aproximadamente 1 cm de tamanho. Estas foram inoculadas em tubos de ensaio com 10 mL do meio WPM (LLOYD; MCCOWN, 1980) suplementado com diferentes concentrações de carvão ativado (0; 0,5; 1; 1,5 e 2 mg.L⁻¹), ácido giberélico (0; 0,01; 0,1 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, e mantidas em sala de crescimento com temperatura de 27 ± 1 °C, densidade de fluxo de fótons de 30 μmol.m⁻² e fotoperíodo de 16h durante 360 dias.

O experimento foi instalado no delineamento inteiramente casualizado, com 10 repetições, e cada parcela experimental foi constituída de um tubo de ensaio contendo uma microestaca no esquema fatorial 4 (concentrações de carvão ativado) x 4 (concentrações de ácido giberélico). A avaliação foi realizada aos 12 meses de cultivo in vitro, levando-se em consideração, as variáveis altura de planta (AP, em cm), número de folhas verdes (NFV), número de folhas mortas (NFM), número de microestacas (NM) e peso de matéria seca da planta (PMSP, em g). As variáveis números de folhas verdes, de folhas mortas e de microestacas foram transformadas para $\sqrt{x + 0,5}$ visando o atendimento das pressuposições da análise de variância. Os dados obtidos foram submetidos ao teste F da análise de variância. Para as médias das concentrações de carvão ativado e ácido giberélico (AG₃) foram ajustados modelos de regressão polinomial. As análises estatísticas foram realizadas pelo programa estatístico SAS – *Statistical Analysis System* (Sas Institute, 2004).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A interação concentração de carvão ativado x AG₃ foi significativa apenas para número de folhas mortas (NFM). Houve efeito significativo do fator carvão ativado para número de folhas verdes (NFV), número de microestacas (NM) e peso de matéria seca da planta (PMSP). Para altura da planta (AP) não houve efeito significativo para nenhum dos fatores analisados.

Notam-se que à medida que se aumentam a concentração de carvão ativado reduziu-se o NFV, o que não é relevante para o objetivo deste experimento. Ao substituir na equação de regressão modelo linear, percebem-se que para o maior NFV (9,68) não se necessitam a adição de carvão ativado (Figura 1). Observou-se, através do gráfico de regressão de segundo grau, que há uma dose ótima de carvão ativado de 1,32 mg.L⁻¹ para obter-se o número máximo de microestacas (2,46) (Figura 2). Na Figura 3, é notório observar, ao substituir na equação de regressão de segundo grau, que o valor ótimo da concentração de carvão ativado de 1,52 mg.L⁻¹ proporciona o maior PMSP (0,07 g).

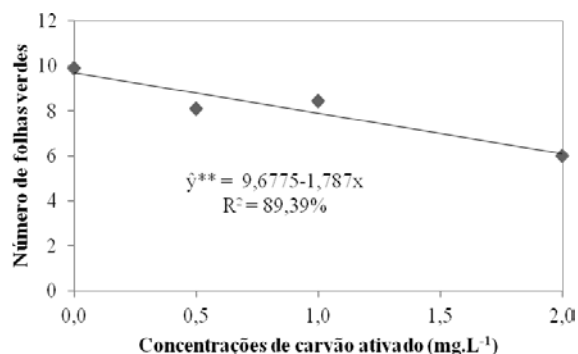


Figura 1 - Número de folhas verdes em função das concentrações de carvão ativado (mg.L⁻¹).

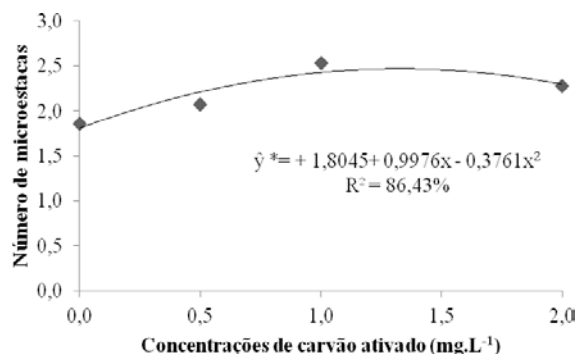


Figura 2 - Número de microestacas em função das concentrações de carvão ativado (mg.L⁻¹).

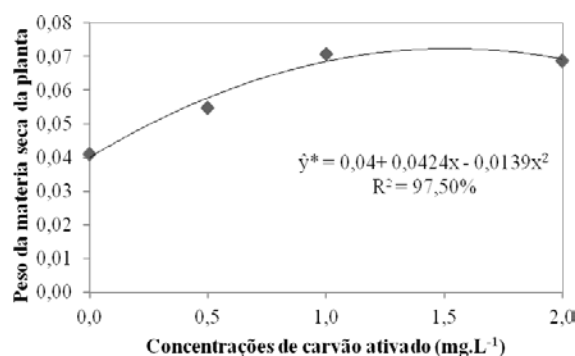


Figura 3 - Peso da matéria seca da planta em função das concentrações de carvão ativado (mg.L⁻¹).

De maneira geral, a conservação in vitro da tangerineira 'Cleópatra' em meio WPM não necessita de adição de carvão ativado e ácido giberélico. Schooler (1960), estudando o cultivo in vitro de embriões de cevada, também observou a necessidade de baixas concentrações de AG₃ para seu desenvolvimento. Nesse sentido, verificou-se ainda que a concentração de 0,1 mg/L de AG₃ associada às crescentes concentrações de carvão ativado causou a diminuição no percentual de sobrevivência dos embriões híbridos. Pasqual et al. (1990) afirmam que a ação do AG₃ a 0,1 mg/L em meios contendo carvão ativado induziu a uma menor taxa de crescimento radicular de embriões de laranjeira 'Natal' [*Citrus sinensis* (L). Osbeck). Nos tratamentos sem a adição AG₃ demonstrou-se a eficiência do carvão ativado quando o sistema radicular e a haste caulinar atingiram 4,5 cm e 2,1 cm de comprimento, nas concentrações de 0,5 e 2,0 g/L, respectivamente. Em contrapartida, Tomaz et al. (2001) notaram que o carvão ativado influenciou negativamente na germinação de embriões zigóticos de *Citrus sinensis*, conferindo tal efeito à capacidade do carvão ativado em adsorver compostos essenciais para o processo de germinação, podendo até interferir na quantidade

real de reguladores de crescimento disponíveis para os explantes. A incorporação de 1 mg/L de AG₃ aumentou o desenvolvimento de raízes em embriões de citros, plenamente ou parcialmente desenvolvidos (BUTTON; BORNMAN, 1971; KOCHBA et al., 1974).

CONCLUSÃO

Diante da metodologia empregada, conclui-se que o meio WPM mesmo sem a adição de carvão ativado e AG₃ é eficiente para a conservação in vitro da tangerineira 'Cleópatra'.

REFERÊNCIAS

BUTTON, J.; BORNMAN, C. H. Development of nucellar plants from unpollinated and unfertilised ovules of the Washington navel orange in vitro. **Journal of South African Botany**, v. 37, p. 127-134, 1971.

CROCOMO, O. J.; CABRAL, J. B. **A biotecnologia no melhoramento de plantas tropicais**. Brasília, DF: Associação Brasileira de Educação Agrícola Superior, 1988. 39 p. (Curso de Agricultura Tropical. Módulo I: O Ambiente e as Plantas Tropicais).

KOCHBA, J.; BUTTON, J.; SPIEGEL-ROY, P.; BORNMAN, C. H.; KOCHBA, M. Stimulation of rooting of citrus embryoids by gibberellic acid and adenine sulphate. **Annals of Botany**, v. 38, p. 795-802, 1974.

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.

PASQUAL, M.; RAMOS, J. D.; DUTRA, L. F. **Aplicações no melhoramento genético de plantas**. 2001. 79 p. Monografia (Especialização em Cultura de Tecidos Vegetais: tecnologia e aplicações) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2001.

PASQUAL, M.; RIBEIRO, V. G.; RAMOS, J. D. Influência do AG₃ e do carvão ativado sobre o enraizamento in vitro de embriões de laranja Natal. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 25, n. 10, p. 1477-1482, 1990.

SAS INSTITUTE. **SAS user's guide**: statistic: version 9.1.3. Cary: SAS Institute, 2004. 846 p.

SCHOOLER, A.B. The effect of gibberel and gibberellic acid (K salt) in embryo culture media for *Hordeum vulgare* L. **Agronomy Journal**, Madison, v.52, n.7, p.411, July 1960.

TOMAZ, M. L.; MENDES, B. M.; MOURÃO FILHO, F. A. A.; DEMÉTRIO, C. B.; JANSKUL, N.; RODRIGUEZ, A. P. M. Somatic embryogenesis in *Citrus* spp: carbohydrate stimulation and histodifferentiation. **In Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant**, v. 37, n. 4, p. 446-452, 2001.