

Efeito da luz, vedação e carvão ativado na micropropagação de cagaita.

Fernandes, Katryne R. G.¹; Ximenes, Francimar Alves²; Rubio Neto, Aurélio³; Rodrigues, Márcio Alexandre⁴; Silva, Fabiano Guimarães⁵; Santana, João Das Graças⁵.

¹Mestranda em Fisiologia Vegetal, Departamento de Fisiologia Vegetal - UFV; ²Biólogo, CEFETRV; ³Bolsista de IC do CNPq/CEFETRV, discente de graduação; ⁴Discente do Curso de Agronomia – FESURV; ⁵Prof. Ds. CEFETRV. - Laboratório de Cultura de Tecidos; Rod. Sul Goiana; Km 01, Cx Postal 66; CEP 75901-490; fone (64) 36205617; Rio Verde, Goiás E-mail: fabianocefetrv@yahoo.com.br

INTRODUÇÃO

A cagaita [*Eugenia dysenterica* (Mart. ex DC)] é uma espécie do cerrado da família Myrtaceae. De porte arbóreo, com altura variando de 6 a 8 m de altura e 6 a 8 m de diâmetro de copa, produz de 500 a 2000 frutos por planta, que apresentam de 1 a 3 sementes (Silva *et al.*, 2001).

A espécie é melífera, possui aplicação ornamental e fornece cortiça e madeira para a construção civil. O fruto pode ser consumido *in natura* ou empregado na fabricação de sucos, licores, geléias, doces e sorvetes. A ingestão exagerada dos frutos pode ter efeito laxante, enquanto a “garrafada” das folhas tem ação antidiarréica e é usada também contra problemas cardíacos (Silva *et al.*, 2001; Almeida *et al.*, 1998).

A produção de mudas em larga escala via métodos convencionais de clones selecionados é um grande entrave na implantação de pomares ou fornecimento para programas de reflorestamento. Neste sentido, a micropropagação é uma alternativa eficiente na produção de mudas.

O tipo de vedação afeta a tanto a composição gasosa como o ambiente luminoso nos recipientes, influenciando portanto a ocorrência de hiperidricidade e o crescimento das plantas (Kozai *et al.*, 1997). Na cultura de tecidos, gases como oxigênio, gás carbônico, etileno, aldeído e outros voláteis eventualmente acumulam-se nos frascos e conseqüentemente promovem alterações no desenvolvimento dos tecidos. O etileno pode acelerar os processos de senescência, abscisão foliar e amadurecimento. Já o dióxido de carbono em altas concentrações conduz à anaerobiose, fermentação e produção de álcoois (CARVALHO & VIDAL, 2005).

Outro fator que pode comprometer o crescimento e desenvolvimento *in vitro* é a produção e acúmulo de compostos fenólicos e outros metabólitos no meio de cultura, fato que justifica o emprego de antioxidantes e agentes adsorvedores. A suplementação do meio com carvão ativado pode ser benéfica ou adversa, dependendo de fatores como meio de cultura, tecido usado e os objetivos do pesquisador. Os efeitos deste composto englobam proteção de substâncias presentes no meio contra luz, adsorção de substâncias inibitórias e reguladores de crescimento; e liberação de compostos pelo próprio carvão ativado (PAN & STADEN, 1998).

As condições luminosas também possuem extrema importância no crescimento e desenvolvimento dos explantes. KOZAI *et al.* (1997) ressaltam que a luz é um dos principais fatores do ambiente de cultivo.

Este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito da luz, tipo de vedação e utilização de carvão ativado em meio de cultura no crescimento de segmentos nodais de cagaita durante o processo de micropropagação.

MATERIAL E MÉTODOS

Os segmentos nodais provieram de propágulos originados da germinação *in vitro* de sementes de cagaita [*Eugenia dysenterica* (Mart. ex DC)] conforme discutido por Fernandes *et al.* (2005).

Após a repicagem, segmentos constituídos por 2 a 3 gemas e desprovidos de folhas foram inoculados em frascos com capacidade de 268 mL, contendo 50 mL de meio MS (Murashige & Skoog, 1962), com 50% da concentração dos sais, 30 g.L⁻¹ de sacarose,

solidificado com 6 g.L⁻¹ de ágar, 100 mg.L⁻¹ de inositol e pH 5,7. Utilizou-se 2 g.L⁻¹ de carvão ativado ou não, de acordo com o tratamento. Quanto à vedação, avaliou-se parafilme e tampa plástica Biossama®. A incubação ocorreu em sala de crescimento à temperatura de 25 °C, e fotoperíodo de 16 horas, no caso dos tratamentos dispostos na luz. Já para os mantidos no escuro, os frascos foram cobertos com papel alumínio.

O experimento foi constituído por um fatorial 2x2x2, sendo 2 tipos de vedação, 2 concentrações de carvão ativado e 2 ambientes. O delineamento experimental foi em blocos ao acaso (DBC) com 6 repetições, perfazendo 288 unidades experimentais.

Aos 67 dias após a inoculação, o experimento foi avaliado aferindo-se comprimento dos propágulos, número de gemas/explante, número de brotações/explante, número de folhas/explante, número de folhas abscisadas/explante, fitomassa seca dos propágulos e conceito. Esta última característica baseou-se no aspecto visual dos explantes, levando em conta o desenvolvimento de gemas e brotos, além da manifestação de necrose nos mesmos. Os dados foram submetidos a ANOVA e as entre as médias dos tratamentos foram analisadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

O carvão ativado não exerceu influência sobre as características de folhas avaliadas. Porém, o emprego de carvão ativado exerceu influência positiva no comprimento, número de gemas e brotações por explantes, conceito, e, em menor escala, na fitomassa seca de propágulos (Tabela 1).

Tabela 1: Comprimento, número de gemas/explante, número de brotações/explante, número de folhas/explante, número de folhas abscisadas/explante, conceito e fitomassa seca em propágulos de cagaita [*Eugenia dysenterica* (Mart. ex DC)] nas condições testadas. CEFET – RV, Rio Verde – GO, 2005.

Parafilme		Tipo de vedação					
		Ambiente				Tampa plástica	
Escuro		Luz		Escuro		Luz	
Carvão ativado							
Meio I ¹	Meio II	Meio I	Meio II	Meio I	Meio II	Meio I	Meio II
Comprimento (cm)							
0,01Aa(a) ^z	0,19 Aa(a)	0,13 Aa(a)	0,33 Aa(a)	0,00 Ba(a)	0,31 Aa(a)	0,08 Ba(a)	0,45 Aa(a)
Número de gemas/explante							
0,95 Aa(a)	1,47 Aa(b)	1,33 Ba(a)	3,20 Aa(a)	1,06 Ba(a)	2,17 Aa(a)	1,87 Ba(a)	3,00 Aa(a)
Número de brotações/explante							
0,03 Aa(a)	0,17 Aa(b)	0,25 Aa(a)	0,47 Aa(a)	0,00 Ba(a)	0,25 Aa(a)	0,13 Ba(a)	0,42 Aa(a)
Número de folhas/explante							
0,00 Aa(a)	0,00 Aa(a)	0,00 Ab(a)	0,17 Ab(a)	0,00 Aa(b)	0,00 Aa(b)	0,57 Aa(a)	0,81 Aa(a)
Número de folhas abscisadas/explante							
0,00 Aa(a)	0,00 Aa(a)	0,00 Aa(a)	0,06 Aa(a)	0,00 Aa(a)	0,00 Aa(a)	0,07 Aa(a)	0,11 Aa(a)
Conceito							
0,47 Aa(a)	0,69 Ab(b)	0,31 Bb(a)	1,22 Aa(a)	0,45 Ba(b)	1,14 Aa(a)	0,93 Ba(a)	1,31 Aa(a)
Fitomassa seca (g)							
0,06 Aa(a)	0,08 Aa(a)	0,07 Aa(a)	0,11 Ab(a)	0,07 Aa(a)	0,08 Aa(b)	0,10 Ba(a)	0,15 Aa(a)

^z Médias seguidas pela mesma letra maiúscula entre carvão ativado, minúscula, entre vedação e entre parênteses, entre ambiente (luz), não diferem entre si pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade. ¹Meio I refere-se aos tratamentos com meio de cultivo sem carvão ativado. Meio II refere-se aos tratamentos com meio de cultivo suplementado com carvão ativado.

É amplamente aceito que o efeito benéfico do uso de carvão ativado pode ser atribuído à remoção de substâncias inibitórias do meio, produzidas no processo de autoclavagem deste ou liberadas pelo próprio tecido. Muitos estudos têm demonstrado que a adição de carvão ativado geralmente possui efeito promotor no crescimento e organogênese de espécies lenhosas (PAN & STADEN, 1998). A influência benéfica do carvão ativado foi mais visualizada quando os frascos foram vedados com tampa Biossama[®].

Quanto à vedação dos frascos, foi constatado que o parafilme exerceu influência negativa no número de folhas por explante, conceito e fitomassa, sendo mais pronunciado quando estes foram cultivados na luz.

O efeito de vedação hermética e não-hermética no crescimento *in vitro* de tomate foi estudado por CHANEMOUGASOUNDHARAM et al (2004). Plantas cultivadas em tubos vedados com folhas de alumínio e filme de polipropileno apresentaram maior massa fresca e comprimento, mas maior taxa de senescência e várias anormalidades morfológicas. Vedações não-herméticas como chumaços de algodão promoveram o crescimento de plântulas normais, as quais apresentaram baixa taxa de senescência e maiores níveis de conteúdo de clorofila. De acordo com RUBIN et al (2005), propágulos da espécie medicinal *Alternanthera dentata* obtidas em vedação com algodão apresentaram altura superior que as dos demais tipos de vedação testados. O número de folhas e de brotos, no entanto, foi maior nos frascos vedados com alumínio. As plantas tiveram melhor desenvolvimento na vedação com algodão, apresentando limbo foliar largo com coloração normal verde-escuro, possivelmente devido às maiores trocas gasosas.

O cultivo no escuro exerceu efeito negativo no número de gemas, brotações e folhas por explante, conceito e fitomassa seca. Tais diferenças foram dependentes do tipo de vedação. Esse resultado condiz com os encontrados por MOREIRA-DIAS et al (2000), os quais obtiveram um incremento na formação de ramos na luz em detrimento da incubação no escuro a partir de epicótilos do porta enxerto de laranja "Citrange Troyer *Poncirus trifoliata* Raf. X *Citrus sinensis* Osbeck". Esses resultados podem ser justificados pela importância da luz para o desenvolvimento e crescimento da planta como um todo, envolvendo mecanismos de sinalização e respostas dos tecidos meristemáticos, responsáveis pela multiplicação celular e formação de novos órgãos.

Vale ressaltar que não houve desenvolvimento visível do sistema radicular nos explantes em todos os tratamentos testados.

CONCLUSÕES

Observou-se que o emprego de carvão ativado tendeu ao favorecimento do desenvolvimento dos explantes de cagaita micropropagados, sobretudo nos tratamentos com tampa Biossama[®]. Diante dos resultados, conclui-se que o carvão ativado, a vedação do frasco e a luz exerceram influência no crescimento dos explantes, porém tais diferenças não são suficientes para inferir, entre os tratamentos testados, qual é o mais adequado para a micropropagação desta espécie. Portanto, novos estudos não necessários para estabelecer melhores para o crescimento *in vitro*, uma vez que o observado não foi satisfatório.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, S. P.; PROENÇA, C. E. B.; SANO, S. M.; RIBEIRO, J. F. **Cerrado: espécies vegetais úteis**. Planaltina, DF: EMBRAPA-CPAC, 1998. p. 182 – 186.

CARVALHO, J. M. F. & VIDAL, M. S.; Fatores físicos que influenciam o crescimento e desenvolvimento do cultivo *in vitro*. Campina Grande - PB: **Embrapa-Cnpa**, 2005. p. 19-19.(Embrapa-Cnpa. Documentos, 140).

CHANEMOUGASOUNDHARAM, A.; SARKAR, D.; PANDEY, S.K.; AL-BISKI, F.; HELALI, O.; MINHAS, J. S. Culture tube closure-type affects potato plantlets growth and chlorophyll contents. **Biologia Plantarum**, vol. 48, p. 7-11, 2004.

FERNANDES, K. R. G. ; VASCONCELOS FILHO, S. C. ; SALES, J. F.; XIMENES, F. A ; SILVA, F. G.; SANTANA, J. G. Efeito de diferentes concentrações de GA3 e sais MS na germinação in vitro de sementes de cagaita. **Horticultura Brasileira**, Botucatu - São Paulo, v. 23, 2005.

KOZAI, T.; KUBOTA, C.; JEONG, B. R. Environmental control for the large-scale production of plants through in vitro techniques. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, vol. 51, p. 49-56, 1997.

MOREIRA-DIAS J.M.; MOLINA, R. V.; BORDÓN, Y.; GUARDIOLA, J. L.; GARCÍA-LUIS, A. Direct and Indirect shoot organogenic pathways in epicotyl cuttings of Troyer Citrange differ in hormone requirements and in their response to light. **Annals of Botany**, vol. 85, p. 103-110, 2000.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and biossays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, v.15, p.473-493,1962.

PAN, M. J.; STADEN, J. VAN. The use of charcoal in *in vitro* culture – A review. **Plant Growth Regulation**, vol. 26, p.155-163, 1998.

SILVA *et al.*; **Frutas do Cerrado**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2001.p.74.

RUBIN, S.; BANDEIRA, J. de M.; FIGUEIREDO, P. M.; LIMA, C. M.; PETERS, J. A.; BRAGA, E. J. B.; Efeito do tipo de vedação dos frascos no cultivo in vitro de *Alternanthera dentata* (moench) Stuebel ex R.E. Fries. In. **XIV Congresso de Iniciação Científica**, 2005, Pelotas, disponível em http://www.ufpel.edu.br/xivcic/arquivos/indice_CB.html, acesso dia 12/06/2007.

PALAVRAS-CHAVES

Eugenia dysenterica, Myrtaceae, segmentos nodais, vedação, carvão ativado.