

MICROPROPAGAÇÃO DE UVAIEIRA (*Eugenia pyriformis* Cambess): EFEITOS DO BAP E AIB

Aline da Costa Nascimento

Bióloga, M. Sc. em Agronomia/Fisiologia Vegetal e Professora. Escola Estadual Gabriela Ribeiro Andrade (Juiz de Fora – MG) E-mail: aline_costabq@yahoo.com.br

Renato Paiva

Engenheiro Agrônomo, PhD, Professor Adjunto, Departamento de Biologia, Setor de Fisiologia Vegetal, Universidade Federal de Lavras, UFLA (Lavras – MG), bolsista Produtividade CNPq E-mail: renpaiva@ufla.br

Leticia Caravita Abbade

Engenheira Florestal, M. Sc. em Agronomia/Fisiologia Vegetal, bolsista FAPEMIG, Departamento de Biologia, Setor de Fisiologia Vegetal, Universidade Federal de Lavras, UFLA (Lavras – MG) E-mail: leticiabbade@yahoo.com.br

Daiane Peixoto Vargas

Bióloga, Doutoranda em Agronomia/Fisiologia Vegetal, bolsista do CNPq, Departamento de Biologia, Setor de Fisiologia Vegetal, UFLA (Lavras – MG) E-mail: dvbio@hotmail.com

Fernanda Pereira Soares

Engenheira Agrônoma, D. Sc. Fiscal Federal Agropecuário, Departamento de Fiscalização de Insumos Agrícolas, MAPA (Brasília – DF) E-mail: fernandapsoares@hotmail.com

RESUMO - A uvaieira (*Eugenia pyriformis*) é uma espécie arbórea nativa da Mata Atlântica pertencente à família Myrtaceae que apresenta grande dificuldade na produção de mudas pela carência de sementes. O presente trabalho teve como objetivo avaliar a influência dos reguladores de crescimento BAP e AIB na micropropagação de uvaieira. Para a indução de brotações, utilizou-se o meio WPM acrescido de diferentes concentrações de BAP (0; 1,0; 2,0; 3,0; 4,0 e 5,0 mg L⁻¹) em segmentos nodais. Após a avaliação aos 60 dias, as brotações obtidas *in vitro* foram transferidas para meio de cultura WPM, contendo 3% de sacarose, 0,5 g L⁻¹ de carvão ativado e diferentes concentrações de AIB (0; 1,0; 2,0; 3,0; 4,0 mg L⁻¹). Aos 40 dias, avaliou-se a porcentagem de enraizamento, o número e o comprimento da maior raiz. Para a aclimatização, as plantas foram transferidas diretamente ou após passarem por um período de sete dias de pré-aclimatização, para tubetes (volume de 250 mL) contendo Plantmax® e envoltas com saco plástico transparente para a manutenção da umidade. Estas de de polietileno foram sendo perfuradas até sua total remoção e, aos 31 dias, avaliou-se a taxa de sobrevivência das plântulas. A concentração de 1,0 mg L⁻¹ BAP proporcionou melhores resultados na fase de multiplicação (maior número de brotações, folhas e gemas por explante) e o AIB, na concentração de 1,0 mg L⁻¹, produziu a maior porcentagem de formação de raízes (60%) em brotações originadas *in vitro*. O período de pré-aclimatização em sala de crescimento aumentou a proporção de sobrevivência de plântulas e a abertura gradual do saco plástico envoltório dos tubetes caracterizou-se viável a aclimatização.

Palavras chaves: regulador de crescimento, brotações, enraizamento, aclimatização.

MICROPROPAGATION OF *Eugenia pyriformis* Cambess: EFFECTS OF BA AND IBA

ABSTRACT - The *Eugenia pyriformis* is a arboreal specie native from the atlantic forest, belonging to the Myrtaceae's family. This present work proposed to evaluate the influence of the growth regulator BA and IBA about the micropropagation of *Eugenia pyriformis*. For the induction of shoots, used different concentrations of BA (0; 1,0; 2,0; 3,0; 4,0 e 5,0 mg L⁻¹). After the evaluation to the 60 days, the obtained shoots *in vitro* had been transferred to WPM culture medium, contend 3% of sacarose, 0,5 g L⁻¹ of activated coal and different

Revista Verde (Mossoró – RN – Brasil) v.3, n.2, p20.-26 de abril/junho de 2008

<http://revista.gvaa.com.br>

concentrations of IBA (0; 1,0; 2,0; 3,0; 4,0 mg L⁻¹). After 40 days, the roots formation, the number and the length of the upper root (60%) was evaluated. To the acclimatization, plant had been transferred directly or after to pass for a period of seven days of daily pre-acclimatization, for tubets contend Plantmax® and involved with transparent plastic bag for the maintenance of the humidity. The polyethylene bags were opened until the total removal of same the e, to the 31 days, evaluated it tax of survival of plants. The concentration of 1,0 mg L⁻¹ BA provided best resulted in the multiplication phase (high number of shoots, leaves and buds) and the IBA, in the concentration of 1,0 mg L⁻¹, produced the biggest percentage of formation of root in originated shoots *in vitro*. The period of daily pre-acclimatization in growth room increases the ratio of survival of plants and the gradual opening of the plastic bag of tubets characterizes a viable acclimatization process.

Index terms: growth regulators, shoots, rooting, acclimatization.

INTRODUÇÃO

Eugenia pyriformis Cambess é uma espécie arbórea nativa da Mata Atlântica, popularmente conhecida como uvaieira, podendo ser encontrada desde o estado de Minas Gerais até o Rio Grande do Sul. Mattos (1956) cita que a uvaieira é uma espécie altamente valiosa pela sua madeira dura, resistente às doenças e, principalmente, por seus frutos comestíveis, importantes nutricionalmente e apreciados pelo homem e pela avifauna. Seu plantio também é recomendado em casos de reflorestamentos heterogêneos (LORENZI, 2000).

Há dificuldades na produção de mudas de *Eugenia pyriformis* pela carência de sementes. Na literatura só foram encontrados registros de pomares experimentais, mas nenhum implantado para produção de sementes ou para produção comercial de frutos (SILVA et al., 2003). Além disso, o número de sementes por fruto é pequeno (MATTOS, 1956) e a dificuldade na produção de mudas é maior pela ausência de tecnologia que permita a maximização do processo. Sementes de várias espécies de *Eugenia* apresentam baixa longevidade natural (VON BÜLOW et al., 1994; GENTIL & FERREIRA, 1999).

Por apresentar vasta utilidade econômica e importância ecológica no bioma da Mata Atlântica e ainda ter sua propagação sexuada dificultada, o desenvolvimento de vias alternativas de multiplicação de uvaieira é de grande importância. Neste sentido, a cultura de tecidos de plantas, mais precisamente a micropropagação, surge como técnica eficiente na propagação clonal *in vitro* da espécie.

Em vários tecidos cultivados tem apresenta importância fundamental para o estabelecimento da competência e determinação, imprescindíveis para a formação de meristemas caulinares e ou radiculares (KERBAUY, 1999). Os reguladores de crescimento exercem sua ação após o reconhecimento por receptores específicos, presentes em células

responsivas, traduzindo sinais hormonais em eventos bioquímicos e fisiológicos (GUERRA et al., 1999). As citocininas constituem a classe de reguladores de crescimento mais utilizada na fase de multiplicação da micropropagação, pelo seu efeito na quebra da dominância apical e na indução da proliferação de gemas axilares. Das citocininas comercialmente disponíveis, o BAP (6-benzilaminopurina) é a que, em geral, apresenta melhores resultados *in vitro* para promover a multiplicação de diversas espécies, sendo utilizada em aproximadamente 60% dos meios de cultivo (GRATTAPAGLIA & MACHADO, 1998). De acordo Assis & Teixeira, 1998 como na fase de enraizamento, a maioria dos trabalhos de indução de raízes adventícias em espécies lenhosas envolve tratamentos com auxinas exógenas, tais como o ácido indolbutírico (AIB) e o ácido naftalenoacético (ANA).

Objetivou-se com este trabalho avaliar a influência dos reguladores de crescimento BAP e AIB na micropropagação de uvaieira (*Eugenia pyriformis* Cambess).

MATERIAL E MÉTODOS

Segmentos nodais de uvaieira, contendo até duas gemas laterais, de aproximadamente 1,5 cm de comprimento, foram excitados de plântulas obtidas da germinação *in vitro* e inoculados em meio de cultura WPM (LLOYD & McCOWN, 1980), suplementado com BAP – benzil aminopurina (0,0; 1,0; 2,0; 3,0; 4,0 e 5,0 mg L⁻¹), 1,5 g L⁻¹ de carvão ativado, 30 g L⁻¹ de sacarose e solidificado com 7g L⁻¹ de ágar. O pH do meio de cultura foi ajustado para 5,7, antes da autoclavagem a 120°C, durante 20 minutos.

Após a inoculação, os segmentos foram transferidos para sala de crescimento sob irradiância de 36 µmol m⁻² s⁻¹, fotoperíodo de 16 horas e temperatura de 25±2°C, avaliou-se o número médio de brotos, folhas e gemas por explante e o

REVISTA VERDE DE AGROECOLOGIA E DESENVOLVIMENTO SUSTENTÁVEL
GRUPO VERDE DE AGRICULTURA ALTERNATIVA (GVAA)

comprimento da maior brotação, aos 60 dias de cultivo.

As brotações obtidas do cultivo *in vitro* foram transferidas para meio de cultura WPM isento de reguladores, contendo 30g L⁻¹ de sacarose, 0,5g L⁻¹ de carvão ativado e solidificado com 7g L⁻¹ de ágar. O pH foi ajustado para 5,7 antes da autoclavagem a 120°C, durante 20 minutos. Após a inoculação, os explantes foram mantidos em sala de crescimento a 25±2°C, sob fotoperíodo de 16 h., por 15 dias. Posteriormente, as brotações, com aproximadamente 1,5 cm, foram transferidas para meio WPM, contendo diferentes concentrações de AIB- ácido indol butírico (0,0; 1,0; 2,0; 3,0 e 4,0 mg L⁻¹); 30g L⁻¹ de sacarose; 7,0 g L⁻¹ de ágar e 0,5 g L⁻¹ de carvão ativado. Após 40 dias foram avaliados a porcentagem de enraizamento nos diferentes tratamentos, bem como o número de raízes e o comprimento da maior raiz.

As plântulas de uvaieira oriundas do enraizamento *in vitro*, com 40 dias de idade, foram transferidas diretamente, ou, após o período de 7 dias de pré-aclimatização (com abertura do recipiente de cultivo) para tubetes com volume de 250 mL contendo Plantmax®, e envoltas em saco plástico transparente para a manutenção da umidade relativa no ambiente. A bandeja com os tubetes foi mantida em sala de crescimento à temperatura controlada de 25±2°C e irradiância de fótons de 67 μmol m⁻² s⁻¹. Gradativamente, as sacolas de polietileno transparente foram sendo perfuradas até a total remoção das

mesmas aos 30 dias, após a sua transferência das plântulas, avaliou-se a porcentagem de sobrevivência das plantas.

O delineamento experimental utilizado para todos os experimentos foi o inteiramente casualizado, com 12 repetições por tratamento, sendo um explante por tubo. O volume do meio de cultura utilizado foi de 10 mL para cada tubo e fechados com tampas de polietileno. Os dados foram analisados a 5% pelo teste de F e por regressão polinomial.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não foram verificadas diferenças para o número médio de gemas formadas quando os explantes caulinares de uvaieira foram submetidos às diferentes concentrações de BAP testadas, porém houve formação de brotações em todos os tratamentos testados, mesmo na ausência do regulador de crescimento. No entanto, com relação ao maior número de folhas formadas observou-se que o tratamento com adição de 1,0 mg L⁻¹ de BAP foi o mais eficiente quando comparado aos demais. Portanto, recomenda-se o uso de 1,0 mg L⁻¹ de BAP na indução de brotações produzindo, em média, 13,5 folhas e o comprimento do maior brotação (1,15 cm) por explante (Tabela 1).

TABELA 1. Número médio de gemas, folhas e comprimento de brotos obtidos em diferentes concentrações de BAP em WPM.

Tratamentos BAP (mg L ⁻¹)	Nº Gemas	Nº Folhas	Comprimento brotos (cm)
0,0	5,5	10,4	0,95
1,0	7,9	13,8	1,15
2,0	5,0	9,0	0,95
3,0	5,5	9,8	0,85
4,0	6,0	11,0	0,90
5,0	5,0	10,0	0,80

Diferenças significativas também não foram observadas para número de gemas, comprimento de brotações e número de folhas. No entanto, a concentração de 1,0 mg L⁻¹ de BAP apresentou os

maiores valores, 7,0 gemas por explante, 1,14 cm de comprimento para a maior brotação e 13,7 folhas por explante, respectivamente (Figura 1).

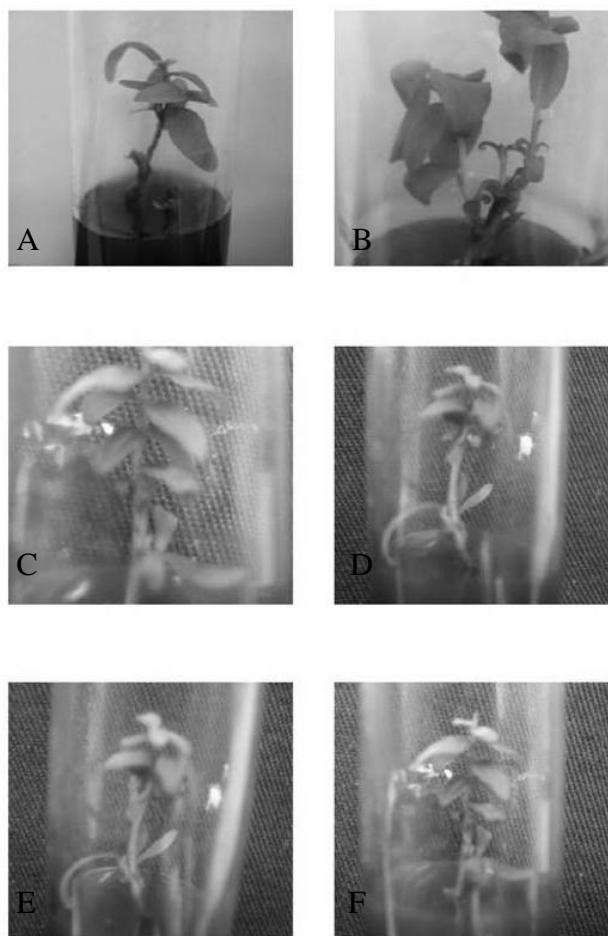


FIGURA 1. Aspecto visual de brotações de uvaieira obtidas de segmentos caulinares inoculados em meio WPM suplementado com 0 (A); 1,0 (B); 2,0 (C); 3,0 (D); 4,0 (E) e 5,0 (F) mg L^{-1} de BAP.

Oliveira et al. (2003) concluíram que a cinetina foi mais eficiente que o BAP na multiplicação *in vitro* de *Tabernaemontana fuchsiaefolia* L., enquanto que Carvalho et al. (2005) verificaram a melhor multiplicação *in vitro* de urucum (*Bixa orellana* L.) na presença de zeatina e ácido naftaleno-acético.

Para a multiplicação de guaco (*Mikania glomerata* Spreng) *in vitro*, a concentração de 1,0 mg L^{-1} de BAP, na ausência de AIA, é suficiente para a emissão de maior número médio de gemas por explante (DINIZ et al., 2006).

Foi observada formação de raízes em todas as concentrações testadas, mesmo na ausência do regulador de crescimento (10% de enraizamento). A maior porcentagem de enraizamento (60%) foi verificada no tratamento contendo 1,0 mg L^{-1} de AIB, seguido do tratamento contendo 2,0 mg L^{-1} de AIB (50%) e das concentrações de 3,0 e 4,0 mg L^{-1} de AIB

(30 e 20%, respectivamente). A análise estatística das diferentes concentrações de AIB testadas mostrou a não significância dos tratamentos para o número de raízes. As maiores médias observadas quanto à variável número de raízes foram observadas na presença de 2,5 mg L^{-1} de AIB, com aproximadamente 1 raiz (Figura 2).

Carvalho et al. (2005) também verificaram o enraizamento de urucum (*Bixa orellana* L.) com a utilização de AIB. Santos et al. (2006) observaram que o uso de AIB na concentração de 3,0 mg L^{-1} e carvão ativado, favoreceu a indução e o desenvolvimento de raízes em brotações de pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.).

A análise da variável comprimento da maior raiz formada também não foi significativa para os tratamentos realizados. Os resultados obtidos podem ser observados na Figura 3.

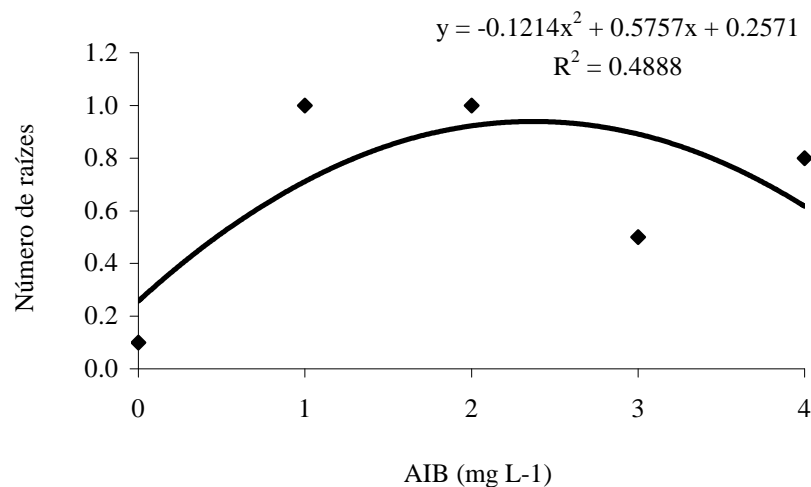


FIGURA 2. Número de raízes formadas em brotações de uvaieira inoculadas em meio de cultura WPM contendo diferentes concentrações de AIB.

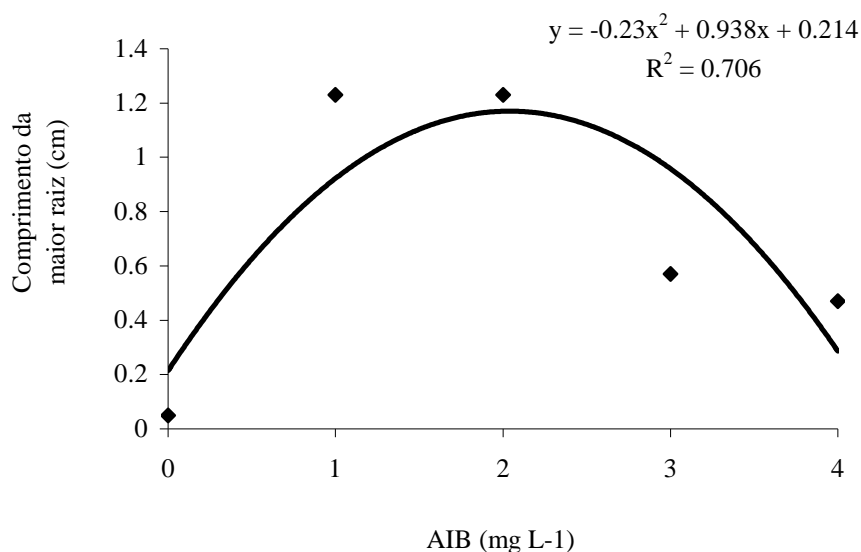


FIGURA 3. Comprimento da maior raiz formada em brotações de uvaieira inoculadas em meio de cultura WPM contendo diferentes concentrações de AIB.

Apesar da não significância dos tratamentos, os maiores comprimentos de raiz observados foram obtidos nos tratamentos contendo 2,0 mg L⁻¹ de AIB com 1,23 cm.

A proporção de plântulas de uvaieira na pré-aclimatização apresentou 85% de sobrevivência e a aclimatização direta, 69%. Não foram observadas diferenças significativas, considerando-se um nível de significância fixado em 5%.

A maior porcentagem de sobrevivência das plântulas pré-aclimatizadas em relação às diretamente submetidas à fase de aclimatização, pode ser justificada pelo maior tempo de adaptação às novas condições de cultivo que, provavelmente, conferiram a essas plântulas melhores condições de tolerar o estresse causado pela transferência para as novas condições. ZIV (1986) relata que, quando os recipientes que continham plântulas de craveiro foram abertos e a umidade relativa mantida a 50%-70%,

REVISTA VERDE DE AGROECOLOGIA E DESENVOLVIMENTO SUSTENTÁVEL
GRUPO VERDE DE AGRICULTURA ALTERNATIVA (GVAA)

houve aumento no desenvolvimento de cera epicuticular e, após nove dias de abertura dos recipientes, a taxa de sobrevivência aumentou de 75% para 90%. Segundo Díaz-pérez et al. (1995), durante o processo de aclimatização ocorre a conversão da condição heterotrófica para autotrófica e um gradual retorno às características naturais da planta. As novas folhas formadas durante este processo já apresentam características intermediárias entre aquelas apresentadas *in vitro* e *ex vitro*, com mudanças na morfologia, redução na condutância estomática, incremento no conteúdo de clorofila e maior eficiência na carboxilação.

A abertura parcial do saco plástico envoltório dos tubetes também demonstrou ser importante na aclimatização de plântulas de uvaieira, uma vez que também favoreceu a percentagem de sobrevivência.

CONCLUSÕES

- A concentração de 1,0 mg L⁻¹ BAP proporciona o maior de número médio de brotações, folhas e gemas por explante, além do maior comprimento da brotação;

- O AIB, na concentração de 2,5 mg L⁻¹, produz a maior porcentagem de formação de raízes em brotações de uvaieira (*Eugenia pyriformis*) originadas *in vitro* e;

- O período de pré-aclimatização em sala de crescimento aumenta a proporção de sobrevivência de plântulas de uvaieira.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ASSIS, T. F.; TEIXEIRA, S. L. Enraizamento de plantas lenhosas. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: EMBRAPA-SPI/EMBRAPA-CNPB, 1998. v. 1, p. 261-296.

CARVALHO, J. F. R. P. de; CARVALHO, C. R. de; OTONI, W. C.. Regeneração *in vitro* de urucum (*Bixa orellana* L.) a partir de diferentes tipos de explantes. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 29, n. 6, 2005. Disponível em: < http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-67622005000600007&lng=pt&nrm=iso >. Acesso em: 22 Abril 2008. Pré-publicação. doi: 10.1590/S0100-6762200500 060 0 0 07

DINIZ, J. D. N.; MAGALHÃES, J. R.; INNECCO, R.; ALMEIDA, PINHO, J. L.; NUNES, J. L. Multiplicação e enraizamento *in vitro* do guaco. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v.37, n.1, p.59-64, 2006.

GENTIL, D.F.O.; FERREIRA, S.A.N. Viabilidade e superação da dormência em sementes de araçá-boi (*Eugenia stipitata* ssp. *sororia*). **Acta Amazonica**, Manaus, 29:2131. 1999.

GUERRA, M. P.; TORRES, A. C.; TEIXEIRA, J. G. Embriogênese somática e sementes sintéticas. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. (Ed.). **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: EMBRAPA-SPI/EMBRAPA-CNPB, 1999. v. 2, p. 533-568.

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: EMBRAPA-SPI/EMBRAPA-CNPB, 1998. v. 1, p. 183-260.

KERBAUY, G. B. Competência e determinação celular em cultura de células e tecidos de plantas. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. (Ed.). **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: EMBRAPA-SPI/EMBRAPA-CNPB, 1999. v. 2, p. 519-531.

LLOYD, G.; McCOWN, B. Commercially – feasible micropropagation of mountain laurel, *Kalmia latifolia*, by use of shoot tip culture. **International Plant Propagators Society Proceedings**, Washington, v. 30, p. 421-427, 1980.

LORENZI, H. **Árvores Brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. Nova Odessa: Plantarum, 2000. v. 1, p. 78.

MATTOS, J. R. **Estudo pomológico dos frutos indígenas do Rio Grande do Sul**. Porto Alegre: SIPA, 1956. 882 p. (Fascículo, 2).

OLIVEIRA, A. J. B. et al. Multiplicação *in vitro* de *Tabernaemontana fuchsiaefolia* L. (Apocynaceae).

Revista Verde (Mossoró – RN – Brasil) v.3, n.2, p20.-26 de abril/junho de 2008

<http://revista.gvaa.com.br>

REVISTA VERDE DE AGROECOLOGIA E DESENVOLVIMENTO SUSTENTÁVEL
GRUPO VERDE DE AGRICULTURA ALTERNATIVA (GVAA)

Revista Árvore., Viçosa, v. 27, n. 4, 2003.
Disponível em: < http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-6762_003_000400001&lng=pt&nrm=iso >. Acesso em: 02 Mar 2007. Pré-publicação. doi: 10.1590/S0100-67622003000400001

SANTOS, B. R.; PAIVA, R.; NOGUEIRA, R. C.; OLIVEIRA, L. M. de; SILVA, D. P. C. da; MARTINOTTO, C.; SOARES, F. P.; PAIVA, P. D. de O.. MICROPROPAGAÇÃO DE PEQUIZEIRO (*Caryocar brasiliense* CAMB.). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Pelotas, v. 28, p. 293-296, 2006.

SILVA, C. V., BILIA, D. A.C., MALUF, A. M. et al. Seed germination of "uvaia" (*Eugenia pyriformis* Cambess. - Myrtaceae) after cutting. **Revista Brasileira Botânica** [online]. 2003, vol. 26, no. 2 [cited 2007-03-21], pp. 213-221. Disponível em: < http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-4042003000200009&lng=en&nrm=iso >. ISSN 0100-8404. doi: 10.1590/S0100-84042003000200009

VON BÜLOW, J.F.W., CARMONA, R.; VAZ PARENTE, T. **Armazenamento e tratamento de sementes de pitanga-vermelha-do-cerrado (*Eugenia calycina*)**. Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília, v. 29, p.961-970. 1994.

ZIV, M. *In vitro* hardening and acclimatization of tissue culture plants. In: WITHERS, L. A.; ALDERSON, P. G. (Ed.). **Plant Tissue Culture and its Agricultural Applications**. London: Butterworths, 1996. p. 187-196.