

COMUNICAÇÃO

MULTIPLICAÇÃO *IN VITRO* DE OLIVEIRA (*Olea europaea* L.)

Olive (*Olea europaea* L.) *in vitro* multiplication

Leonardo Ferreira Dutra¹, Adelson Francisco de Oliveira², Chrystiane Borges Fráguas³, Moacir Pasqual⁴

RESUMO

Com o objetivo de induzir a multiplicação em explantes de oliveira, segmentos nodais oriundos de plântulas mantidas *in vitro* foram excisados e inoculados em tubos de ensaio contendo meio de cultura MS suplementado com 2 g L⁻¹ de carvão ativado, BAP (0, 1, 2 e 4 mg L⁻¹) e ANA (0; 0,01; 0,1 e 1 mg L⁻¹), solidificado com 6 g L⁻¹ de ágar e pH ajustado para 5,8. Durante 100 dias, os explantes foram mantidos em sala de crescimento a 25±1°C, intensidade luminosa de 32 µmoles.m⁻².s⁻¹ e fotoperíodo de 16 horas. Não houve indução de brotações nos segmentos nodais. O maior comprimento da parte aérea foi obtido com 0,1 mg L⁻¹ de ANA na ausência de BAP. O meio de cultura sem BAP proporcionou maior peso de matéria fresca da parte aérea.

Termos para indexação: Cultivo *in vitro*, proliferação, segmentos nodais, BAP, ANA.

ABSTRACT

This work had the objective to induce olive multiplication. Nodal segments from *in vitro* plantlets were excised and inoculated in test tubes containing MS culture medium supplemented with activated charcoal (2 g L⁻¹), BAP (0, 1, 2 and 4 mg L⁻¹), NAA (0; 0.01; 0.1 and 1 mg L⁻¹), agar (6 g L⁻¹) and pH adjusted to 5.8. The explant were maintained in growth room to 25±1°C, 32 µmoles.m⁻².s⁻¹ light intensity and 16 hours photoperiod for 100 days. There was not shoots induction in the nodal segments. Larger length of aerial part were obtained with ANA 0.1 mg L⁻¹ in the BAP absence. Culture medium without BAP provides larger weight of fresh matter of the aerial part.

Index terms: *In vitro* culture, proliferation, nodal segment, BAP, NAA.

(Recebido para publicação em 31 de março de 2003 e aprovado em 15 de agosto de 2003)

A oliveira, em nível comercial, é propagada vegetativamente por enxertia e estaquia. A propagação por sementes não é aconselhável em função da variabilidade genética e longo período juvenil, além da baixa germinação em condições de campo, inviabilizando a propagação comercial. Entretanto, pode ser utilizada na produção de porta-enxertos de cultivares difíceis de enraizar por estacas e em programas de melhoramento genético (CAÑAS et al., 1992).

No Brasil, a propagação da oliveira por enxertia utilizando como porta-enxerto o ligustro (*Ligustrum* sp.) foi utilizada com frequência (FERNANDES, 1985). Entretanto, como pertencem a gêneros distintos, problemas de incompatibilidade entre enxertos e porta-enxertos são verificados. Hartmann et al. (1986) observaram incompatibilidade entre oliveira e diversos porta-enxertos e mesmo com porta-enxertos de outras espécies do gênero *Olea*.

Outra alternativa é a propagação por meio de estacas lenhosas, atualmente o método mais empregado. No entanto, a viabilidade da estaquia está condicionada a inúmeros fatores, que propiciam grande variabilidade no enraizamento (ABOUSALIM et al., 1993; RKHISS e TRIGUI, 1996).

Em vista disso, a cultura de tecidos pode ser uma prática viável para a propagação da oliveira. Diversos métodos e meios para obter plântulas de oliveira *in vitro*, oriundas de diferentes explantes, foram desenvolvidos com êxito (SEYHAN e OZZAMBAK, 1994a,b; MENCUCINI, 1995; LEITÃO et al., 1997; OLIVEIRA, 2001). Entretanto, tem sido relatado que a oliveira possui forte dominância apical. Standardi et al. (1998) afirmaram que a proliferação da oliveira se dá predominantemente por alongamento.

As citocininas e auxinas são os reguladores de crescimento mais importantes para a regulação do

1. Pós-Doutorando/CNPq, Universidade Federal de Lavras/UFLA, Caixa Postal 37 - 37200-000 - Lavras, MG. leodutra@ufla.br

2. EPAMIG - CTSM, Caixa Postal 176 - 37.200.000, Lavras, MG. adelson@epamig.ufla.br

3. Aluna do Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia da UFLA.

4. Professor Titular do Departamento de Agricultura/UFLA. mpasqual@ufla.br

crescimento e da morfogênese de tecidos e órgãos (PASQUAL, 2001). Citocininas induzem a quebra da dominância apical e proliferação de gemas axilares. Dessas, a benzilaminopurina (BAP) tem sido muito eficaz na multiplicação de explantes e indução de gemas adventícias, além de ser mais barata do que outras citocininas (GRATTAPAGLIA e MACHADO, 1998). As auxinas são muito utilizadas na micropropagação para promover a formação e o crescimento de calos, de órgãos e de células em suspensão, bem como regular a morfogênese, especialmente quando associada com citocininas. Um adequado balanço entre auxinas e citocininas estabelece um eficiente controle no crescimento e na diferenciação das culturas *in vitro* (PIERIK, 1990).

Objetivou-se com este trabalho avaliar o efeito de concentrações de BAP e ácido naftalenoacético (ANA) na indução de brotações laterais em microestacas de oliveira.

O trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais, do Departamento de Agricultura, Universidade Federal de Lavras (UFLA), em Lavras/MG.

Segmentos nodais de aproximadamente 2 cm, sem folhas, foram excisados de plântulas de oliveira 'Ascolano 315', oriundas de cultura de embriões, e inoculados assepticamente em meio MS (MURASHIGE e SKOOG, 1962), suplementado com 30 g L⁻¹ de sacarose, 2 g L⁻¹ de carvão ativado, solidificado com 6 g L⁻¹ de ágar e ajustado para pH 5,8 antes da autoclavagem. O meio de cultura foi autoclavado a 121°C e 1 atm durante 20 minutos.

Foram testadas as combinações dos reguladores BAP (0, 1, 2 e 4 mg L⁻¹) e ANA (0; 0,01; 0,1 e 1 mg L⁻¹), com 3 repetições constituídas por 4 frascos cada uma. Os explantes foram inoculados individualmente em tubos de ensaio e transferidos para sala de crescimento com temperatura de 25±1°C, intensidade luminosa de 32 µmol.m⁻².s⁻¹ e 16 horas de fotoperíodo. Após 100 dias nessas condições de cultivo, avaliaram-se o número e o comprimento de brotos e a matéria fresca da parte aérea. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial 4 x 4 (4 níveis de BAP e 4 níveis de ANA). Os

resultados foram submetidos à análise estatística e os tratamentos, comparados por regressão polinomial.

Não houve efeito dos reguladores de crescimento no número de brotos, observando-se somente a alteração no crescimento em altura do único broto desenvolvido, indicando a dificuldade em se induzir brotações em oliveira. Esse resultado corrobora as afirmações de Cañas et al. (1987) e Standardi et al. (1998), de que a oliveira possui forte dominância apical, proliferando predominantemente por alongamento.

Maior comprimento de brotos foi obtido com 0,1 mg L⁻¹ de ANA na ausência de BAP (Figura 1). À medida que se aumentou a concentração de BAP, houve redução nessa variável, provavelmente em função de desbalanço hormonal. Quando se adicionou 1 mg L⁻¹ de ANA combinado com 3,1 mg L⁻¹ de BAP, praticamente duplicou-se o comprimento de brotos. Nesse caso, estabeleceu-se um balanço entre auxina/citocinina mais adequado. Não houve significância das concentrações de 0 e 0,01 mg L⁻¹ de ANA.

Maior matéria fresca da parte aérea foi obtida na ausência de BAP (Figura 2), com subsequente redução à medida que se aumentou a concentração desse regulador de crescimento. Essa resposta provavelmente é devida a um desbalanço na relação auxina/citocinina.

A ausência de resposta dos reguladores de crescimento na indução de brotações corrobora resultados anteriores obtidos com cultivo *in vitro* de oliveira (CAÑAS et al., 1987; STANDARDI et al., 1998), verificando-se somente o crescimento em altura da brotação. Em vista disso, é necessário o estudo de alternativas, no intuito de induzir a proliferação de maior número de brotações em oliveira. Como o BAP não foi efetivo nas concentrações utilizadas, sugere-se a possibilidade da utilização de concentrações maiores. Outra possibilidade é o emprego de outras citocininas, a exemplo de zeatina, 2iP (2-isopentenil adenina) e TDZ (Thidiazuron), preferencialmente as duas últimas, em razão do elevado custo da zeatina.

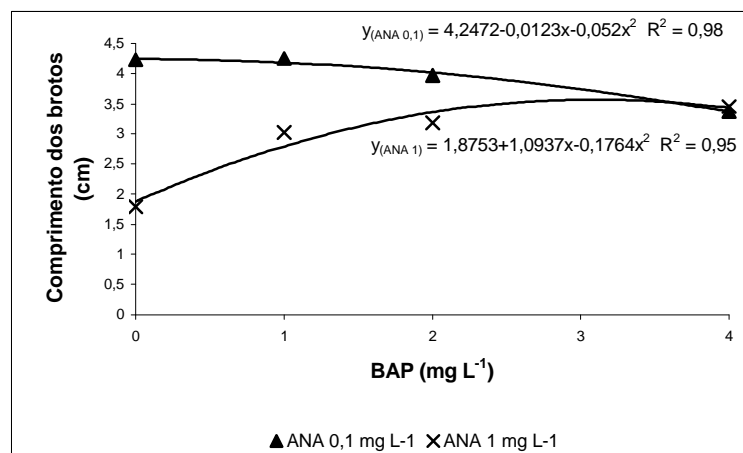


FIGURA 1 – Comprimento das brotações em segmentos nodais de oliveira cultivados em meio de cultura MS sob diferentes concentrações de BAP e ANA. UFLA, Lavras, 2002.

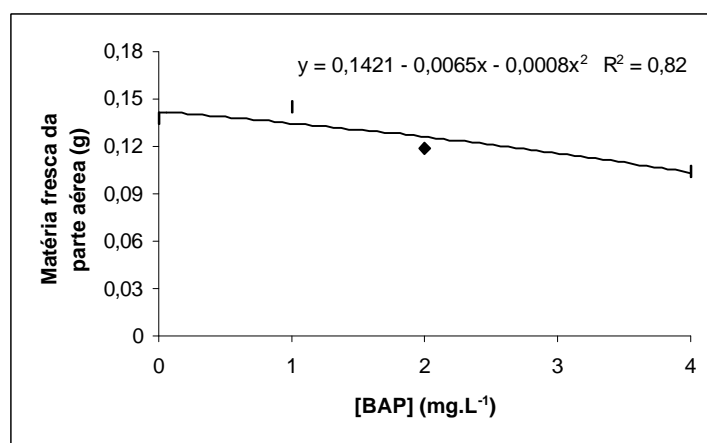


FIGURA 2 – Matéria fresca da parte aérea em segmentos nodais de oliveira cultivados em meio de cultura MS sob diferentes concentrações de BAP e ANA. UFLA, Lavras, 2002.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABOUSALIM, A.; WALALI, L. D. M.; SLAQUI, K. Efecto de la fase fenológica sobre el enraizamiento de las estaquillas semileñosas del olivo en tablillas termógenas. *Olivae*, Madrid, n. 46, p. 30-37, 1993.

CAÑAS, L. A.; AVILA, J.; VICENTE, M.; BENBADIS, A. Micropropagation of Olive (*Olea europaea* L.). In: BAJAJ, Y. P. S. (Ed.). **Biotechnology in agriculture and forestry: high-tech and**

micropropagation II. Berlin: Springer-Verlag, 1992. p. 493-505. v. 18.

CAÑAS, L. A.; CARRAMOLINO, L.; VICENTE, M. Vegetative propagation of the olive tree from *in vitro* cultured embryos. **Plant Science**, Limerick, v. 50, p. 85-90, 1987.

FERNANDES, E. D. **A enxertia da Oliveira (*Olea europaea* L.) sobre Ligustro (*Ligustrum ovaliform* Hassk)**. Porto Alegre: Secretaria da Indústria e Comércio, 1985. 17 p.

- 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: CBAB/EMBRAPA-CNPQ, 1998. p.183-260.
- HARTMANN, H. T.; OPITE, K. W.; BENTEL, J. A. La producción oleícola en california. **Olivae**, Madrid, v. 3, n. 11, p. 24-65, 1986.
- LEITÃO, L.; DUQUE, A. S.; FEVEREIRO, P. Cultivo *in vitro* de variedades portuguesas de *Olea europaea* L.: objetivos e resultados. **Olivae**, Madrid, v. 66, p. 54-55, 1997.
- MENCUCINI, M. Micropropagazione e miglioramento genetico *in vitro* dell'olivo: stato dell'arte e prospettive future. **Rivista di Frutticoltura**, Bolonha, n. 12, p. 73-82, 1995.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 15, n. 6, p. 473-479, 1962.
- OLIVEIRA, A. F de. **Enraizamento de estacas semi-lenhosas e cultura de embriões *in vitro* de oliveira (*Olea europaea* L.)**. 2001. 122 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2001.
- PASQUAL, M. **Meios de cultura: cultura de tecidos vegetais: tecnologia e aplicações**. Lavras: UFLA/FAEPE, 2001. 74 p.
- PIERIK, R. L. M. Preparación y composición de los medios nutritivos. In: _____. **Cultivo "in vitro" de las plantas superiores**. Madrid: Mundi Prensa, 1990. p. 49-84.
- RKHISS, A. C.; TRIGUI, A. El estaquillado semileñoso de la variedad Chemlali de Sfax: dificultades y posibilidades de mejora. **Olivae**, Madrid, n. 61, p. 46-52, 1996.
- SEYHAN, S.; OZZAMBAK, E. Cultivo de tejidos de dos variedades de olivo turcas. **Olivae**, Madrid, v. 52, p. 28-29, 1994a.
- SEYHAN, S.; OZZAMBAK, E. Shoot multiplication of some olive (*Olea europaea*) cultivars. **Acta Horticulturae**, Wageningen, n. 356, p. 35-38, 1994b.
- STANDARDI, A.; MICHELI, M.; PICCIONI, E. Propagazione "in vitro" dell'olivo: acquisizione e prospettive. **Rivista di Frutticoltura**, Bolonha, n. 7/8, p. 19-23, 1998.