

ESTUDOS PRELIMINARES PARA A REGENERAÇÃO IN VITRO DA OLIVEIRA, CULTIVAR 'GALEGA'

POR

JACOB A. P.¹

ABSTRACT

The Portuguese olive variety 'Galega' (*Olea europaea* L.), difficult to propagate by traditional methodology, is the main olive Portuguese variety and there aren't publications concerning in vitro propagation studies. We present the first results of in vitro establishment and development of adventitious buds. Studies were made about the culture medium (MS and OM); the carbon source (mannitol and sucrose); the gelling agent (agar and phytigel) and anti-vitrifying agent presence. The results showed a better adaptability and growing of 'Galega' buds in MS culture medium supplemented with mannitol, phytigel and without anti-vitrifying agent.

Key-words: Olive tree, 'Galega' variety; micropropagation.

INTRODUÇÃO

As técnicas de cultura de tecidos permitem a produção de plantas isentas de vírus, a aplicabilidade das novas técnicas biotecnológicas de melhoramento e constituem ainda metodologias alternativas na propagação de plantas. A regeneração in vitro, na oliveira, é dependente da variedade (Rugini e Fedeli, 1990; Revilla et al., 1996) e depende de numerosos outros factores tais como a composição mineral do meio de cultura (Bartolini et al., 1990; Garcia-Berenguer et al., 1990; Chaari-Rkhis., et al., 1999;), a fonte de carbono (Leva et al., 1994; Gruselle et al., 1995). O tipo de agente solidificante do meio de cultura é também considerado como um factor condicionante da regeneração e posterior crescimento in vitro em algumas espécies, tal como a nogueira (Cornu e Jay-Allemand, 1989).

Trabalhos anteriores realizados no nosso laboratório revelaram que a utilização do protocolo proposto por Rugini (1986) induzia, na regeneração de rebentos axilares de 'Galega', a formação de cloroses foliares e posterior queda das folhas, à semelhança do referido por Revilla et al. (1996), para a variedade espanhola 'Arbequina'. Desta forma, pretenderam-se estudar alguns factores com influência na regeneração, nomeadamente os dois tipos de meio de cultura usualmente utilizados na micropropagação da oliveira – MS (Murashige e Skoog, 1962, modificado por Fiorino e Leva, 1986) e o OM (Olive Medium, Rugini, 1986); a influência da substituição da sacarose por manitol, e o efeito da presença de agar e de gelrite. Verificou-se ainda o efeito da presença de um agente anti-vitrificante.

¹ - Escola Superior Agrária de Santarém
oliveirajacob@hotmail.com

MATERIAL E MÉTODOS

Recolheram-se estacas uninodais do terço médio da rebentação recente de oliveira jovem seleccionada (Viveiros Plansel) e mantida em condições ambientais controladas. Desinfectaram-se por imersão durante 10 minutos numa solução de HgCl₂ a 0,1% (p/v) e 0,01% tween (v/v). Os resíduos de desinfectante foram eliminados com a passagem sucessiva por água destilada esterilizada. Foram estabelecidas 16 modalidades de meio de cultura (Quadro 1). Os meios foram suplementados, de acordo com as modalidades, com 30 g l⁻¹ de sacarose e 30 g l⁻¹ de manitol, 10 g l⁻¹ de agar e 3 g l⁻¹ de gelrite (Phytigel, Sigma), sem reguladores de crescimento. Todos os factores estudados foram ainda suplementados, numa nova modalidade, com agente anti-vitrificante (A-0807, Sigma). Após acerto do pH a 5.6, distribuíram-se 6 ml de meio de cultura por tubos de ensaio de 25 cm³, autoclavando-se 15 minutos a 120 °C tendo sido realizadas 10 repetições por modalidade. As plantas foram mantidas em sala climatizada, a 25 °C /23 °C, com 16 horas de fotoperíodo e 45 mmol m⁻² s⁻¹ de intensidade luminosa. Contabilizaram-se o número de folhas e o comprimento destas. Os resultados foram submetidos a uma análise de variância pelo teste de Duncan para um nível de significância de 95%.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A metodologia de desinfeção foi eficiente, não tendo sido registadas quaisquer infecções na regeneração *in vitro*.

Da análise do número de folhas e do seu comprimento, nas várias modalidades, verificamos que existe interacção dos parâmetros estudados.

Assim, a presença do manitol induz a produção de um maior número de folhas, com comprimentos médios mais elevados, por comparação com os meios suplementados com sacarose (Quadro 1), sendo este efeito mais acentuado no meio de cultura OM. No meio MS essa diferença é atenuada. Em ambos os meios, o efeito do manitol é mais acentuado na presença da gelrite. Estes resultados confirmam os de Leva et al. (1994), que refere uma maior influência do manitol no crescimento, qualidade e uniformidade dos rebentos na cultivar 'Maurino'.

A presença da gelrite induz sempre valores mais elevados, na presença de qualquer uma das fontes de carbono em estudo e por comparação com o agar. Estas observações vêm confirmar os resultados de Cornu e Jay-Allemand (1989) em trabalhos com a noqueira.

A especificidade genotípica na oliveira relativa à composição mineral do meio de cultura está bem documentada na bibliografia (Bartolini et al., 1990; Leva et al., 1994; Revilla et al., 1996; Cozza et al., 1997; Chaari-Rkhis et al., 1999).

Quando se analisam os valores para apreciação do meio de cultura verifica-se que, para os parâmetros habituais de cultura, isto é, na presença de sacarose e agar, as melhores médias são para o meio MS. Quando se comparam as médias, tendo em consideração a presença de manitol e gelrite, verifica-se que os valores médios apresentados nos dois meios de cultura são praticamente idênticos. Se a este facto adicionarmos a melhor qualidade e uniformidade das folhas nos rebentos, a nossa opção recai no meio MS.

A presença de agente anti-vitrificante (resultados não mostrados) originou para todas as modalidades valores mais baixos nos parâmetros em estudo.

Os resultados obtidos mostram que a adaptabilidade e o crescimento *in vitro* da rebentação axilar da oliveira, variedade 'Galega' são maiores em meio de cultura MS suplementado com manitol e gelrite. Resultados semelhantes foram obtidos recentemente para as cultivares italianas 'Nocellara' e 'Carolea' (Bati et al., 1999)

SUMÁRIO

A variedade "Galega" (*Olea europaea* L.), de difícil propagação por métodos convencionais, é a mais importante variedade portuguesa de oliveira, não existindo referências relativas ao estudo da sua propagação *in vitro*. Neste trabalho apresentam-se os resultados obtidos na adaptação e crescimento *in vitro* de gomos axilares. Foram avaliados o meio de cultura (MS e OM); a fonte de carbono (manitol e sacarose); o tipo de solidificante (agar e gelrite) e o efeito da presença de agente anti-vitrificante. Os resultados obtidos mostram que a adaptabilidade e o crescimento da 'Galega' são maiores em meio de cultura MS suplementado com manitol, gelrite e sem agente anti-vitrificante.

BIBLIOGRAFIA

- Bati C.B., Fodale A., Mulé R., Trombino T., 1999. Trials to increase *in vitro* rooting of *Olea europaea* L. cuttings. *Acta Hort.* 474:91-94.
- Chaari-Rkhis A., Trigui A., Drida N., 1999. Micropropagation of tunisian cultivares olive trees: preliminary results. *Acta Hort.* 474: 79-81
- Cornu D., Jay-allemand C. 1989. Micropropagation of hybrid walnut trees (*Juglans nigra* X *Juglans regia*) through culture and multiplication of embryos. *Ann. Sci. For.* 46:113-116.
- Cozza R. et al., 1997. Influence of growth medium on mineral composition and leaf histology in micropropagated plantlets of *Olea europaea*. *Plant Cell, Tissue and Organ culture* 51:215-223.
- Garcia-Berenguer A., Gonzalez R. D. 1990. Mineral media for *in vitro* propagation of juvenile 'Picual' microcuttings. *Acta Hort.*, 286:61-64.
- Leva A. R., Petruccelli R., Bartolini G., 1994. Mannitol *in vitro* culture of *Olea europaea* L. (cv. Maurino). *Acta Hort.* 356:43-46.
- Revilla M. A. et al., 1996. *In vitro* reinvigoration of mature olive trees (*Olea europaea* L.) through micrografting. *In Vitro Cell Dev. Biol.-Plant* 32:257-261
- Rugini E., Fedeli E., 1990. Olive (*Olea europaea* L.) as an oilseed crop. In *Biotechnologie in agriculture and Forestry* 10. Y.P.S. Bajaj.