

CIRCULAR TÉCNICA

n. 410 - agosto 2024

ISSN 0103-4413

Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais
Departamento de Informação Tecnológica
Av. José Cândido da Silveira, 1647 - União - 31170-495
Belo Horizonte - MG - www.epamig.br - Tel. (31) 3489-5000

EPAMIG
Pesquisa Agropecuária

AGRICULTURA,
PECUÁRIA E
ABASTECIMENTO



**MINAS
GERAIS**

GOVERNO
DIFERENTE.
ESTADO
EFICIENTE.

Cultura de calos a partir de explantes de oliveira da cultivar Koroneiki¹

Luciana Cardoso Nogueira Londe², Izabela Cristina Pires Gomes³, Mickaelly Jordanya Guimarães Silva⁴,
Joseane Faria da Silva Souza⁵, Débora Ferreira de Souza⁶, Joana D'Ark Nunes da Silva Lima⁷,
Elizângela Kele Celestina Pereira Silveira⁸

INTRODUÇÃO

A oliveira (*Olea europaea* L.) teve origem no sul do Cáucaso, nas planícies altas do Irã e do litoral Mediterrâneo da Síria e da Palestina, tendo-se expandido, posteriormente, para o restante do Mediterrâneo (Teramoto; Bertoncini; Pantano, 2024). São mais de 700 espécies cultivadas no mundo, contudo, atualmente, existem mais de 2 mil espécies catalogadas que ocorrem de forma natural. Mercados produtores antigos continuam crescendo, tais como Itália, Tunísia, Espanha, entre outros (Olivapedia, 2018). A importação de azeitona pelo Brasil alcançou a marca histórica de mais de 90 milhões de litros no ano de 2020, elevando o consumo para 420 mL per capita, um crescimento médio de 56% em comparação com os dados de 2011, quando o consumo per capita era de 270 mL (International Olive Council, 2024).

A oliveira 'Koroneiki' é uma árvore de vigor médio, copa aberta, alta capacidade de enraizamento e resistência à seca, porém, não tolera o frio intenso (Olivapedia, 2019).

Segundo Rugini e Gutiérrez Pesce (2006), a embriogênese somática em oliveira tem sido relatada com algum sucesso em tecidos de natureza juvenil, embriões zigóticos (imaturos e maduros), ou pecíolos foliares de plântulas, mas muito poucos são os casos em que se conseguiu a partir de material adulto. Para que ocorra a formação das células embriogênicas, é preciso que o explante usado tenha potencial para expressar a totipotencialidade; as células devem ser competentes para responder a sinais exógenos, serem induzidas por sinais específicos (geralmente reguladores de crescimento vegetais), e comprometidas com a via embriogênica (Elhiti; Stasolla; Wang, 2013).

A definição de metodologia para obtenção de clones de oliveira (*Olea europea* L.) pode ser uma ferramenta valiosa para o melhoramento tradicional de cultivares desta espécie.

Atualmente, em Minas Gerais, com auxílio das pesquisas da EPAMIG há produção de azeitonas e azeite de oliva no Estado (Vieira Neto, 2010).

Apoio FAPEMIG.

¹Circular Técnica produzida pela EPAMIG Norte - CEGR, (38) 3834-1760, cegr@epamig.br.

²Bióloga, D.Sc., Pesq. EPAMIG Norte - CEGR, Nova Porteirinha, MG, luciana@epamig.br.

³Engenheira-agrônoma, M.Sc., Bolsista BDCT&I Nível III FAPEMIG/EPAMIG Norte - CEGR, Nova Porteirinha, MG, belapgomes@yahoo.com.

⁴Engenheira-agrônoma, Bolsista BDCT&I Nível IV FAPEMIG/EPAMIG Norte - CEGR, Nova Porteirinha, MG, mickaellyagronomia@gmail.com.

⁵Bióloga, Bolsista BDCT&I Nível IV FAPEMIG/EPAMIG Norte - CEGR, Nova Porteirinha, MG, joseanefariasilva@yahoo.com.br.

⁶Graduanda Agronomia UNIMONTES, Campus Janaúba, Bolsista PIBIC FAPEMIG/EPAMIG Norte - CEGR, Nova Porteirinha, MG, fdesouza@gmail.com.

⁷Graduanda Agronomia UNIMONTES, Campus Janaúba, Bolsista CNPq/EPAMIG Norte - CEGR, Nova Porteirinha, MG, joanadark93_@hotmail.com.

⁸Engenheira-agrônoma, Doutoranda Produção Vegetal no Semiárido UNIMONTES, EPAMIG Norte - CEGR, Nova Porteirinha, MG, kelecelestina@gmail.com.

Esta Circular Técnica tem por objetivo avaliar uma concentração satisfatória utilizando o meio Murashige & Skoog (MS) (Murashige; Skoog, 1962) para o crescimento de calos *in vitro* a partir de explantes de oliveira da cultivar Koroneiki.

CONDUÇÃO DO EXPERIMENTO

O experimento foi conduzido no Laboratório de Biotecnologia Vegetal, da EPAMIG Norte - Campo Experimental do Gorotuba (CEGR), Nova Porteira, MG.

Os explantes utilizados foram obtidos de plantas de oliveira (*Olea europea* L.) 'Koroneiki', fornecidos pela EPAMIG Sul - Campo Experimental de Maria da Fé (CEMF), Maria da Fé, MG.

Os explantes foram desinfestados por imersão em detergente neutro e, em seguida, em álcool 70%, por 30 segundos, posteriormente foi realizada uma nova imersão, em solução de hipoclorito de sódio 20% com gotas de Tween, por 10 minutos, finalizando com lavagem em câmara de fluxo laminar, por três vezes, com água destilada.

Para a indução de calos, foram utilizados como explantes os segmentos nodais de oliveira (*Olea europea* L.). Os explantes foram introduzidos em tubos de ensaio, contendo meio de cultura básico MS em diferentes concentrações (100%, 75%, 50% e 25%), e subcultivados a cada trinta dias, em meio MS, suplementados com hormônios vegetais: 0,5 de 6-benzilaminopurina (BAP) e ácido naftalenoacético (ANA). A temperatura da sala de crescimento foi de ± 25 °C, e o fotoperíodo de 16 horas.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após o período de 30 dias de cada transferência, foram realizadas avaliações, nas quais observaram-se calos formados, contaminação e oxidação dos explantes.

As análises estatísticas foram feitas em porcentagem de calos formados, contaminação e oxidação dos explantes.

Após 30 dias da transferência, não foi observada a formação de calos. Salientando-se que a indução de calos é favorecida pela presença de hormônios no meio.

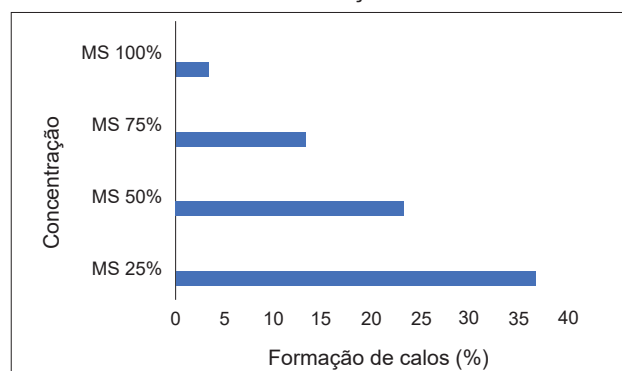
A maior intensidade média de calos foi obtida com o meio MS, na concentração de 25%, que apresentou 36,7% de calos, e diferiu significativamente das outras concentrações (Gráfico 1). A formação de calos é controlada pelo nível de reguladores de

crescimento das plantas (auxinas e citocininas) no meio de cultura. Para Sugiyama (1999), as células competentes devem ser induzidas por sinais específicos (geralmente reguladores de crescimento) e tornarem-se comprometidas com a via embriogênica. As auxinas e citocininas estão entre os principais reguladores de crescimento envolvidos no ciclo celular das plantas, sendo responsáveis pelos processos de divisão e diferenciação celular.

Foi observada a formação de calos, os quais se apresentaram com consistência predominantemente compacta (Fig. 1) e friável, com coloração variando entre verde e amarela. Segundo Sado (2009), os calos compactos geralmente apresentam-se de cor verde-intensa ou branca e superfície com aspecto aveludado, sendo calos muito resistentes ao corte, podendo ser considerados como massa celular compacta.

O meio MS, com a concentração de 100%, apresentou porcentagem média de 3,34%, sendo a concentração que obteve menor resultado na indução de calos, o que mostrou que pode haver uma

Gráfico 1 - Porcentagem média de calos da oliveira 'Koroneiki', em meio Murashige & Skoog (MS) com diferentes concentrações



Fonte: Elaboração das autoras.

Figura 1 - Calos em oliveira 'Koroneiki'



Izabela Cristina Pires Gomes

economia de meio MS na indução de calos, uma vez que a concentração de 100% não foi tão eficiente nesse experimento.

Dos explantes utilizados 21% oxidaram, o que foi um bom resultado, em razão do explante ser proveniente de um tecido lenhoso. Os explantes, quando inoculados em meio de cultura, podem tornar o meio escuro, uma vez que este libera exsudados, consequência da liberação de fenóis, ocasionados pelo processo de extração dos explantes.

Apenas 6,5% contaminaram-se, o que prova que os agentes desinfetantes foram satisfatórios, havendo contaminação apenas nos subcultivos. Os microrganismos contaminantes competem com os explantes pelos nutrientes do meio de cultura, eliminando metabólitos tóxicos, podendo ocasionar a morte da plântula (Pereira; Mattos; Fortes, 2003).

Nesse experimento observou-se que as concentrações diferentes do meio de cultura MS apresentaram respostas distintas e, em decorrência da forte interação entre o tipo de reguladores de crescimento, o genótipo utilizado e as condições de cultura, todas essas variáveis devem ser levadas em consideração na elaboração de um sistema de cultivo in vitro para a oliveira.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

É possível diminuir as concentrações do meio utilizado, sem prejuízos para o processo de micropropagação.

O meio MS a 25%, acrescido com hormônios ANA e BAP, é o melhor tratamento para a obtenção de calos com maior crescimento.

REFERÊNCIAS

ELHITI, M.; STASOLLA, C.; WANG, A. Molecular regulation of plant somatic embryogenesis. **In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant**, v.49, n.6, p.631-642, 2013.

INTERNATIONAL OLIVE COUNCIL. **The origin and expansion of olive tree**. [Madrid]: OIC, 2024.

Disponível em: <https://www.internationaloliveoil.org/olive-world/olive-tree/>. Acesso em: 17 maio 2024.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Sweden, v.15, n.3, p.473-497, 1962.

OLIVAPEDIA. **Oliveiras no Brasil - Koroneiki**. [S./], 8 jan. 2019. Disponível em: <https://olivapedia.com/oliveiras-no-brasil-koroneiki/>. Acesso em: 17 jul. 2024.

OLIVAPEDIA. **A origem da cultura das oliveiras**. [S./], 1 maio 2018. Disponível em: <https://olivapedia.com/a-origem-da-cultura-das-oliveiras/>. Acesso em: 19 ago. 2024.

PEREIRA, J.E.S.; MATTOS, M.L.T.; FORTES, G.R. de L. Identificação e controle com antibióticos de bactérias endofíticas contaminantes e explantes de batata micropropagados. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v.38, n.7, p.827-834, jul. 2003.

RUGINI, E.; GUTIÉRREZ PESCE, P. Genetic improvement of olive. **Pomologia Croatica**, v.12, n.1, p.43-74, 2006.

SADO, M. **Efeito do 2,4-D na calogênese de *Senna spectabilis* (DC) Irwin et Barn (Leguminosae) e seus compostos de reserva**. 2009. 90f. Dissertação (Mestrado em Biodiversidade Vegetal e Meio Ambiente) – Instituto de Botânica, Secretaria de Estado do Meio Ambiente, São Paulo, SP, 2009.

SUGIYAMA, M. Organogenesis in vitro. **Current Opinion in Plant Biology**, v.2, n.1, p.61-64, Feb. 1999.

TERAMOTO, J.R.S; BERTONCINI, E.I.; PANTANO, A.P. **Histórico da introdução da cultura da oliveira no Brasil**. [S./]: Infobibos, 1 out. 2010. Artigo em Hypertexto. Disponível em: http://www.infobibos.com/Artigos/2010_4/HistoricoOliveira/index.htm. Acesso em: 17 jul. 2024.

VIEIRA NETO, J. Olivicultura: situação e resultados de pesquisas em Minas Gerais. *In*: SIMPÓSIO MINEIRO DE OLIVICULTURA, 1., 2010, Itajubá. [Anais]. [Maria da Fé: EPAMIG], 2010. 1 CD-ROM.