

BAP NO CULTIVO IN VITRO DE LÚPULO CASCADE

ANDRIO SPILLER COPATTI¹; MARISA TANIGUCHI²; ATHOS ODIN SEVERO DORNELES²; CAMILA MÜLLER DALLMANN²; TALIS BASILIO DA SILVA²; LEONARDO FERREIRA DUTRA³

¹Universidade Federal de Pelotas – andriocopatti@gmail.com;

²Universidade Federal de Pelotas – marisataniguchi@yahoo.com.br; athos_odin@hotmail.com; camilacmdbiotec@gmail.com; talesbs28@gmail.com;

³Embrapa Clima Temperado – leonardo.dutra@embrapa.br.

1. INTRODUÇÃO

O gênero *Humulus* pertence à família Cannabaceae, e possui três espécies principais: *H. lupulus* L., *H. scandens* (Lourr.) Merr. (syn. *H. japonicus* Siebold e Zucc.) e *H. yunnanensis* Hu (BOCQUET et al., 2018).

Os compostos químicos encontrados em *H. lupulus* são os principais componentes de aromatizantes e amargor na cerveja. O lúpulo tem sido utilizado para fins cervejeiros por mais de 1200 anos, também sendo utilizado como fármaco apresentando significativos efeitos na saúde humana, pois possui propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias além de prenilflavonóides, um dos fito-estrógenos mais ativos conhecidos. Os óleos e resinas do lúpulo são conhecidos pelas suas propriedades sedativas, além de apresentarem efeitos antibacterianos e antifúngicos. O alfa-ácido amárico presente nas inflorescências tem efeito positivo no controle de várias doenças complexas (síndrome metabólica) (KARABÍN et al., 2016; BOCQUET et al., 2018).

No Brasil, o cultivo dessa planta é recente, não havendo até o momento dados técnicos de cultivo, tratamentos culturais e produção. O *H. lupulus* L. é altamente heterozigoto, por ser uma planta dioica, as populações obtidas por reprodução sexuada são altamente variáveis. Portanto, para fins comerciais, o *H. lupulus* L. é propagado de forma vegetativa, tanto a partir de rizomas quanto por estacas herbáceas (FAGHERAZZI; RUFATO, 2017). No entanto, estas técnicas apresentam algumas desvantagens, como a propagação de patógenos (SILVA et al., 2016). Nesse contexto, a cultura de tecidos de plantas vem sendo utilizada como um complemento aos métodos tradicionais de propagação.

A propagação in vitro possibilita a preservação e a reprodução das características desejáveis da planta matriz, auxiliando na uniformidade e reduzindo o tempo de propagação, pois, não depende das condições climáticas (KELLER et al., 2013). Além disso, proporciona a obtenção de elevado número de plantas em um curto período e espaço reduzido, com alta qualidade genética e fitossanitária, atendendo as exigências e padrões necessários (CARVALHO et al., 2011, DIAS et al., 2014).

O sucesso da cultura de tecidos depende de vários fatores, dentre os quais, o uso de reguladores de crescimento no meio de cultura. As citocininas, além de, promoverem a superação da dominância apical e a quebra da dormência das gemas laterais e induzem a formação brotos (KERBAUY, 2012). Destas, a mais utilizada na micropropagação de plantas é a 6-benzilaminopurina (BAP).

Diante do exposto, o presente trabalho objetivou avaliar o efeito do BAP na multiplicação e enraizamento in vitro de lúpulo 'Cascade'.

2. METODOLOGIA

Segmentos nodais contendo um par de gemas laterais foram excisados de plantas de lúpulo 'Cascade' cultivados *in vitro* e inoculados em frascos de vidro contendo 30 mL de meio MS (Murashige; Skoog, 1962) contendo 100 mg L⁻¹ de mio-inositol; 30 g L⁻¹ de sacarose; 7,5 g L⁻¹ de ágar; e BAP nas concentrações de 0,4; 0,8 e 1,2 mg L⁻¹. No tratamento testemunha não houve adição de BAP ao meio de cultura. O pH do meio foi ajustado para 5,8 antes da autoclavagem a 121 °C e 1,5 atm, durante 20 minutos. Após inoculados, os explantes foram mantidos em sala de crescimento sob fotoperíodo de 16 horas de luz, radiação de 36 µmol m⁻²s⁻¹ e temperatura de 25±2 °C.

Utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado, com cinco repetições contendo cinco explantes em cada frasco. Decorrido o período 30 dias, avaliou-se o desenvolvimento do material a partir do número de gemas, brotações e raízes e do comprimento médio da maior brotação. Os resultados foram analisados por regressões polinomiais quadráticas ($y=y_0+ax+bx^2$).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A adição de 0,8 mg L⁻¹ ao meio de cultura proporcionou maior desenvolvimento da parte aérea dos explantes de lúpulo, com número médio de gemas e de brotações e comprimento de brotações de 26,9; 3,75 e 12,2 cm, respectivamente. A citocinina é considerada eficaz para promover a multiplicação de várias espécies, por influenciar na divisão celular e na liberação das gemas axilares inibidas pela dominância apical (PIASSI; PIASSI, 2016; SILVA; FERREIRA, 2016).

Todavia, visando a produção de plântulas para posterior aclimatização, a concentração de 0,4 mg L⁻¹ de BAP mostrou-se mais efetiva para a indução e o desenvolvimento radicular de 'Cascade' propagado *in vitro*, proporcionando 3,85 raízes por explante micropropagado. Apesar de o tratamento não apresentar diferença significativa com o controle em número de raízes, o comprimento radicular médio na concentração de 0,4 mg L⁻¹ de BAP apresentou-se significativamente maior que o controle (2,6; 1,7 cm respectivamente), demonstrando o efeito do benéfico do BAP também no enraizamento do lúpulo.

Esse balanço entre as quantidades de auxinas endógenas e citocininas exógenas podem diversificar de acordo com o tecido utilizado como explante (BRUNETTA et al. 2006). Dessa forma, acredita-se que na concentração de 0,4 mg L⁻¹, onde foi observada a formação de raízes, a diferença em resposta a indução de raízes pode ser explicada pelas interações entre os explantes utilizados e o nível de auxina endógeno em relação com o nível da citocinina exógena, absorvida durante o cultivo (DITENGOU et al., 2008), provavelmente houve um desbalanço hormonal favorecendo o conteúdo de auxina, influenciando a maior formação de raízes.

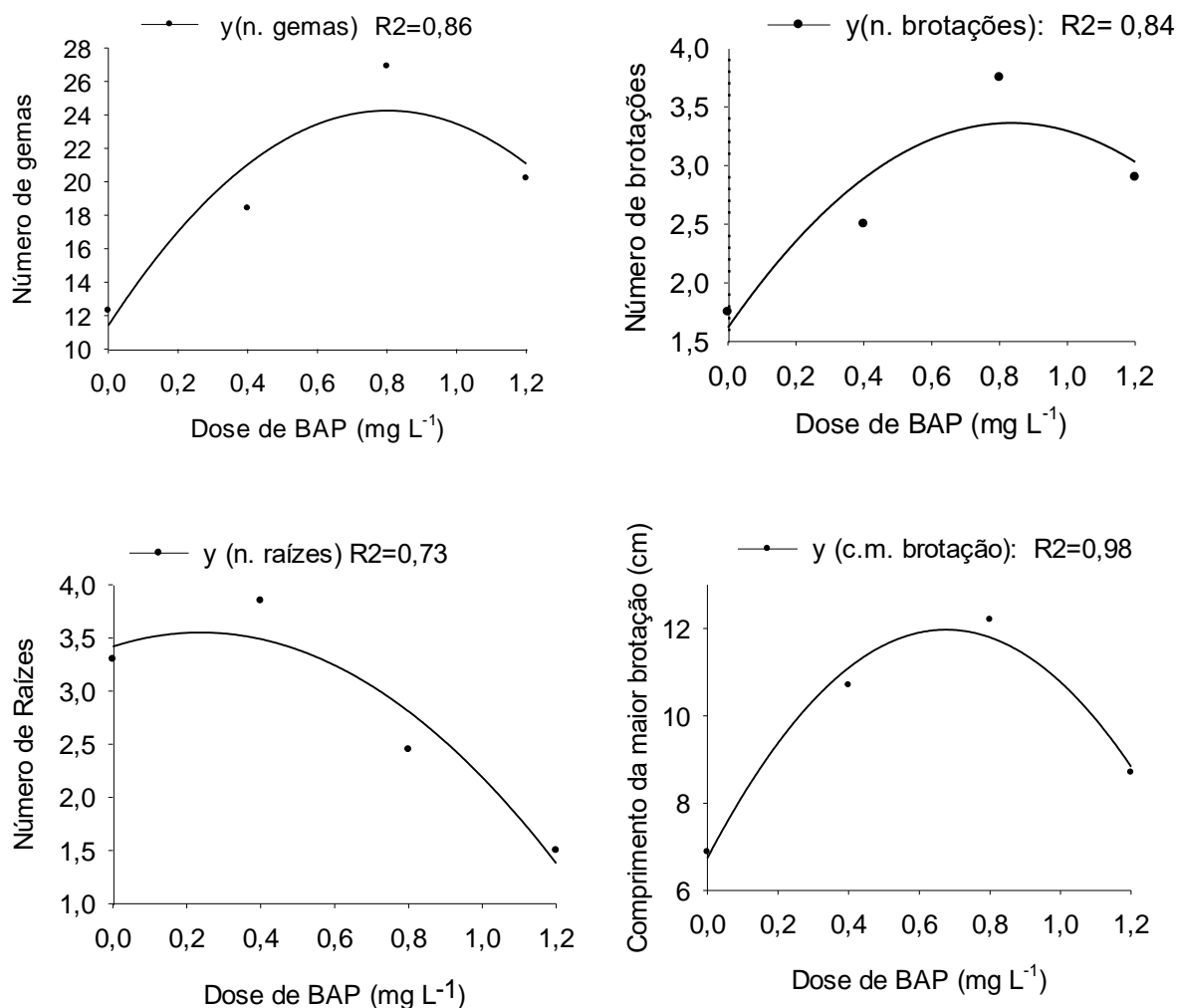


Figura 1 – Número de gemas, brotações e raízes e comprimento da maior brotação em plantas de lúpulo ‘Cascade’ cultivadas in vitro, Pelotas, RS – setembro de 2019.

4. CONCLUSÕES

A adição de BAP ao meio de cultivo in vitro de lúpulo ‘Cascade’ é efetiva a 0,8 mg L⁻¹ para crescimento de parte aérea e 0,4 mg L⁻¹ na indução de raízes.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BOCQUET, L.; SAHPAZ, S.; HILBERT, J.L.; RAMBAUD, C.; RIVIERE, C.; *Humulus lupulus* L., a very popular beer ingredient and medicinal plant: overview of its phytochemistry, its bioactivity, and its biotechnology. **Phytochem Rev**, v. 17:1047–1090. 2018.
- BRUNETTA, J.M.F.C.; OTONI, W.C.; PINHEIRO, A.L.; FONSECA, E.P. Calogênese *in vitro* em segmentos de epicótilo de mogno (*Swietenia macrophylla* King) com uso de 6- benzilaminopurina e ácido α -naftalenoacético. **Scientia Forestalis** 71: 19–24. 2006.
- CARVALHO, A.C.P.P.; TORRES, A.C.; BRAGA, E.J.B.; LEMOS, E.E.P.; SOUZA, F.V.D.; PETERS, J.A.; WILLADINO, L.; CÂMARA, T.R. Glossário de culturas de tecidos de plantas. **Plant Cell Culture and Micropropagation**, Lavras, v. 7, n.1, p. 30-60, 2011.
- DIAS, M.S.C. et al. **Cultivares**. Informe Agropecuário, Belo Horizonte - Mg, v. 35, n. 279, p.39-47, 2014.
- DITENGOU, F. A. et al. Mechanical induction of lateral root initiation in *Arabidopsis thaliana*. The National Academy of Sciences of the USA, 105(48):18818-18823, 2008.
- FAGHERAZZI, M.M.; RUFATO, L. Produzir lúpulo no Brasil, utopia ou realidade? **Revista Agronomia Brasileira**, v.2, p.1-2, 2018.
- GEORGE, E.F.; HALL, M.A.; KLERK, G. de. **Plant propagation by tissue culture**. 3ª ed. The Background Springer. v. 1, 709 p. 2008.
- KARABÍN, M.; HUDCOVÁ, T.; JELÍNEK, L.; DOSTÁLEK, P. Biologically Active Compounds from Hops and Prospects for Their Use. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**. Chicago, v.15, 2016. Acesso em 12 set. 2019. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/1541-4337.12201>.
- KELLER, E.R.J. et al., Comparing costs for different conservation strategies of garlic (*Allium sativum* L.) germoplasm in genebanks. **Genetic Resources and Crop Evolution**, Dordrecht, v. 60, n. 3, p. 913-926, Mar. 2013.
- KERBAUY, G.B. **Fisiologia vegetal**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 431 p. 2012.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Kobenhavn, v. 15, p. 473-497, 1962.
- OLIVEIRA, R.P.de.; NINO, A.F.P. Potencial de multiplicação *in vitro* de cultivares de framboeseira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal - SP, v. 31, n. 1, p. 280-284, março, 2009.
- PIASSI M., PIASSI M..Otimização de protocolo para indução da calogênese *in vitro* em folhas cotiledonares de alface (*Lactuca sativa* L.). **Revista Intellecto** v.2: p.135-142.2016.
- PINHAL, H.F. et al. Aplicações da cultura de tecidos em fruteiras do Cerrado. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 41, n. 7, p. 1136-1142, jul. 2011.
- SILVA M. M. A. E FERREIRA L. T. **Cultivo in vitro de plantas e suas aplicações em Cactaceae**. INSA, Campinas Grande. 32p. 2016.
- SILVA, R.L.; FERREIRA, C.F.; LEDO, C.A.S.; SOUZA, E.H.; SILVA, P.H.; COSTA, M.A.P.C.; SOUZA, F.V.D. Viability and genetic stability of pineapple germplasm after 10 years of *in vitro* conservation. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 127, n. 1, 123-133, 2016.