

MULTIPLICAÇÃO IN VITRO DE BATATA DOCE

ALESSA ROTH DA SILVA¹, GUILHERME DA SILVA SILVEIRA²; DAIANE DE PINHO BENEMANN³

¹Estagiária da empresa BioPlant Tech, Pelotas, RS - alessaroth@hotmail.com

²Técnico de laboratório da empresa BioPlant Tech, Pelotas, RS -
guilhermesilvasilveira2015@gmail.com

³Sócia proprietária da empresa BioPlant Tech, Pelotas, RS - daiane_bio@yahoo.com.br

1. INTRODUÇÃO

A batata-doce (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) é uma planta dicotiledônea de consistência herbácea, rústica de hábito decumbente e horizontal, apresentando coloração verde ou arroxeada pertencente à família das convolvuláceas (CORRÊA et al., 2003).

É uma importante cultura alimentar, cultivada e consumida mundialmente, e seu valor nutricional torna-a especialmente importante em países em desenvolvimento (DEWIR et al., 2020), sendo uma excelente fonte de energia na forma de carboidratos, que representam cerca de 30% de biomassa fresca, além de conter diversos minerais e vitaminas (FLORES et al., 2015).

A batata-doce é uma planta obtida por propagação vegetativa convencional. No entanto, as plantas produzidas por métodos vegetativos, devido à sua uniformidade genética, podem tornar-se mais vulneráveis a doenças e pragas e, principalmente, infecções por vírus (DEWIR et al., 2020; FLORES et al., 2015;). As doenças virais são as que mais afetam a produção e a qualidade da batata-doce (WONDIMU et al., 2012) e, de acordo com Masekesa et al., 2016, as doenças virais da batata-doce causam perdas de produtividade de até 98%. A produção de material livre de patógenos é a primeira etapa do controle de doenças (EL-FAR, 2007).

Os métodos convencionais de propagação da batata-doce podem atualmente ser complementados com novas técnicas de clonagem, como a micropropagação in vitro, que permitam uma melhor qualidade fitossanitária de forma a assegurar uma maior produtividade e uma menor utilização de produtos químicos de combate a pragas, doenças e ervas-daninhas (SILVA et al., 1991).

A micropropagação é uma técnica que permite propagar um elevado número de plantas de genótipos selecionados, em área física bastante reduzida, se comparada com os métodos convencionais. Além disso, possibilita a obtenção de plantas com maior sanidade, vigor e tamanho padronizado permitindo um manejo mais adequado do cultivo (SOUZA et al., 2007). 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. De acordo com PERES (2002), o efeito diferencial dos vários tipos de citocininas, quando aplicados ao meio de cultura, pode estar relacionado ao fato de cada um deles interferir de modo particular no metabolismo hormonal endógeno.

Com o intuito de obter maior número de clones, este trabalho objetivou estabelecer um sistema de multiplicação in vitro de batata doce, cv Beauregard, utilizando diferentes concentrações de BAP.

2. METODOLOGIA

O presente estudo foi desenvolvido na empresa BioPlant Tech, situada na cidade de Pelotas, RS.

Para a indução de multibrotações *in vitro*, utilizaram-se como explantes, segmentos nodais isolados de plântulas de batata doce germinadas *in vitro*, com 60 dias de idade. O meio nutritivo utilizado foi o MS, suplementado com 6-benzilaminopurina (BAP) nas concentrações de B- 0 mg L⁻¹; C- 0,5 mg L⁻¹; D- 1,0 mg L⁻¹; E- 1,5 mg L⁻¹ e F- 2,0 mg L⁻¹ e metade das concentrações do meio MS (A-MS/2), sem adição de BAP. Foram adicionados também 3% (p/v) de sacarose, 0,7 (p/v) de ágar e o pH ajustado para $\pm 5,8$ antes da autoclavagem. Em seguida, os meios foram distribuídos em frascos e autoclavados durante 20 minutos a uma temperatura de 121°C. Os frascos contendo os explantes foram mantidos em sala de crescimento com temperatura controlada de 25 \pm 2°C, densidade de fluxo de fótons de 40 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, provida por lâmpadas fluorescentes branca-fria e fotoperíodo de 16 horas.

O delineamento experimental utilizado para testar o efeito do BAP, foi inteiramente casualizado, com dez repetições, sendo que cada repetição continha 6 explantes, totalizando 60 explantes por tratamento. A comparação entre as médias dos tratamentos foi realizada pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade de erro, através do programa SISVAR (FERREIRA et al., 2011). Os dados analisados foram: número médio de brotos por explante, comprimento dos brotos (cm) e número médio de folhas e de entrenós.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Segmentos nodais de plântulas obtidas *in vitro*, foram usados como explantes para multiplicação do material. Conforme, pode ser observado na tabela 1, a ausência do regulador de crescimento BAP e a presença em baixa concentração (1,0 mg L⁻¹) em meio MS, mostraram maior efetividade na formação de gemas (6,28 e 5,36 respectivamente), quando comparado com os demais tratamentos, diferindo do restante (tabela 1).

Segundo ZAERR; MAPES (1985), o BAP é a citocinina mais potente para promover a multiplicação de partes aéreas e indução de gemas adventícias e é também economicamente mais viável por apresentar o menor custo. Segundo TORRES et al. (2001) o uso de citocininas estimula maior produção de parte aérea através do aumento da massa fresca, número de gemas e folhas.

Observou-se que com o aumento da concentração de BAP, ocorreu um aumento da média do comprimento das brotações, porém com metade das concentrações de sais, as médias foram menores (Tabela 1).

O número de folhas foi influenciado negativamente pelo aumento da concentração de BAP. Foi observado a maior média do número de folhas na ausência de BAP (6,30) e o decréscimo com o aumento da citocinina (4,15). A menor média foi com a metade das concentrações de sais (3,23).

Foi observado enraizamento das plantas em todos os tratamentos, constatando que o acréscimo de citocininas não danificaram o desenvolvimento radicular. Os tratamentos não diferiram estatisticamente entre si em relação ao número de raízes (Tabela 1).

O enraizamento por parte das citocininas em cultivos *in vitro* tem sido evidenciada em um grande número de espécies vegetais (TORRES et al. 1998; GRATTAPAGLIA; MACHADO, 1998). Elevada taxa de enraizamento em *C. betacea*, mesmo em meios sem auxinas foi constatada por GATITA; ALMEIDA (2003).

A presença de calo foi observada em todos tratamentos, porém no meio MS contendo metade das concentrações e no meio MS sem adição de citocinina, as médias foram baixas (0,11 e 0,03, respectivamente) e não diferiram entre si, porém diferiram dos demais tratamentos. Este resultado indica que o regulador de crescimento BAP é o maior responsável pela formação de calos na batata-doce.

Tabela 1. Efeito do BAP sobre o número médio de gemas, comprimento dos brotos, número de folhas, raízes e calo em brotações de batata doce (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.)

Tratamento (mg L ⁻¹)	Gemas	Comprimento /broto	Folhas	Raízes	Calo
MS/2	3,13 A	0,46 A	3,23 A	1,97 A	0,11 A
0,0	6,28 D	1,39 D	6,30 D	2,38 A	0,03 A
0,5	5,00 BC	1,19 CD	5,00 CD	2,49 A	0,98 B
1,0	5,36 CD	1,13 BCD	5,36 CD	2,36 A	1,00 B
1,5	4,68 BC	0,86 BC	4,70 BC	1,95 A	1,00 B
2,0	4,0 AB	1,77 AB	4,15 AB	1,94 A	1,00 B
CV	16,32	31,31	15,8	24,19	11,72

As médias seguidas de mesma letra maiúscula, nas colunas, não diferem entre si pelo teste de Tukey, ao nível de 5%.



Figura 1. Brotações de batata doce, cv. Beauregard obtidas in vitro nos diferentes tratamentos: A- MS/2; B- 0 mg L⁻¹; C- 0,5 mg L⁻¹; D- 1,0 mg L⁻¹; E- 1,5 mg L⁻¹ e F- 2,0 mg L⁻¹.

4. CONCLUSÕES

De acordo com os dados analisados, pode-se concluir que o meio MS sem adição de citocinina e com a adição de 0,5 mg L⁻¹ foram os mais eficientes para a multiplicação de batata doce.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CORRÊA, R. M.; PINTO, J. E. P.B.; BERTOLUCCI, S. K.V.; REIS, E.S.; SOUZA, A.V. Potencial do carvão ativado, filtro amarelo e interação fotoperíodo/temperatura na formação de raízes tuberosas de batata-doce in vitro. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 33, n. 3, p. 423 – 430, 2003.
- DEWIR, Y. H.; ALDUBAI, A. A.; KHER, M. M.; ALSADON, A. A.; EL-HENDAWY, S.; AL-SUHAIBANI, N. A. Optimization of media formulation for axillary shoot



- multiplication of the red-peeled sweet potato (*Ipomoea batatas* [L.] Lam.) 'Abees.' **Chilean Journal of Agricultural Research**, v. 80, n.1, p. 3–10, 2020.
- EL-FAR, M. M. M. Optimization of growth conditions during sweet potato micro-propagation. **African Potato Association Conference Proceedings**, Egypt, v.7, p. 204-211, 2007.
- FERREIRA, A.; FURTADO, D. **Sisvar: a computer statistical analysis system**, Ciência e Agrotecnologia (UFLA), v. 35, n.6, p. 1039-1042, 2011.
- FLORES, R., MAGGIO, L. P., FLÔRES, P. Z., BEMPCK, G. S., AULER, N. M. F., CARVALHO, F. C., GODOI, R. S., FRANZIN, S. M., & BECKER, L. Otimização da produção de plantas in vitro de cultivares de *Ipomoea batatas*, **Revista de Ciências Agrárias**, v. 38, n. 3, p. 429-437, 2015.
- GATITA, I.C.; ALMEIDA, J. Micropropagacion del tomate de arbol (*Cyphomandra betacea* (Cav.) Sendtn.), solanaceae silvestre usada en la alimentacion humana, **Revista Forestal Venezolana**, Universidad de los Andes, Facultad de Ciencias Forestales y Ambientales, Venezuela, v. 2, n. 47, p. 9-13, 2003.
- GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. (Ed.). **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: Embrapa-SPI/Embrapa CNPH, 1998, v.1. p.183-260.
- JULIANI, J.R.; KOROCH, A.R.; JULIANI, H.R.; TRIPPI, V.S. Micropropagation of *Lippia junelliana* (Mold.) Tronc. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 59, n. 3, p. 175-179, 1999.
- MASEKESA, R. T., GASURA, E., MATIKITI, A., KUJEKE, G. T., NGADZE, E., ICISHAHAYO, D., CHIDZWONDO, F., & ROBERTSON, A. I. Effect of BAP, NAA and GA3, either alone or in combination, on meristem culture and plantlet establishment in sweet potato (cv Brondal). **African Journal of Food, Agriculture, Nutrition and Development**, v. 16, n. 1, p. 10649–10665, 2016
- MEDEIROS, L.A.; RIBEIRO, C.S.; GALLO, L.A.; OLIVEIRA, E.T.; DEMATTÊ, M.E.S.P. In vitro propagation of *Notocactus magnificus*. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 84, n. 2, p. 165-169, 2006.
- PERES, L.E.P. As bases fisiológicas e genéticas da regeneração de plantas in vitro: um conhecimento útil para o desenvolvimento de protocolos biotecnológicos. **Revista Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, Brasília, n.25, p.44-48, 2002.
- SILVA, S. O., SOUZA, A. S., & PAZ, O. P. Efeito da multiplicação vegetativa *in vitro* na produtividade da batata-doce (*Ipomoea batatas* L. Lam.). **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 3, n. 1, p. 47-52, 1991.
- SOUZA, F.S. de.; TOZI, T.S de.; MELIS, V.V.; ROSOLEM, C.A. Resposta do algodoeiro submetido a reguladores de crescimento em função da lavagem por chuva simulada. In: **VI Congresso Brasileiro do Algodão**. UNESP: Botucatu, 2007
- TORRES, A.C.; BARBOSA, N.V. dos R.; WILLADINO, L.; GUERRA, M.G.; FERREIRA, C.F.; PAIVA, S.A.V. Meios e condições de incubação para a cultura de tecidos de plantas: Formulações de meios para a cultura de tecidos de plantas. **Circular Técnica** nº24. Embrapa, Brasília, p.1-20, 2001.
- TORRES, A.C.; CALDAS, L.S.; BUSO, J.A. Cultura de tecidos e transformação genética de plantas. Vol. 1. **EMBRAPA- SPI**. Brasília, DF, 1998
- WONDIMU, T., FEYISSA, T., & BEDADA, G. Meristem culture of selected sweet potato (*Ipomoea batatas* L. Lam.) cultivars to produce virus-free planting material. **The Journal of Horticultural Science and Biotechnology**, v. 87, n. 3, p. 255-260, 2012.
- ZAERR, J. B.; MAPES, M. O. Action of growth regulators. In: **Tissue culture in forestry**. Springer, Dordrecht, 1982. p. 231-255.