

EFEITO DE DOSES DE CARVÃO ATIVADO NA MICROPROPAGAÇÃO DE FRAMBOESA, CV. BATUM

GABRIELA BEHREND NEITZKE¹; MARIA CRISTINA WILLE²; GUILHERME DA SILVA SILVEIRA³; LUIS WILLIAN PACHECO ARGE⁴; DAIANE DE PINHO BENEMANN⁵

¹*Estagiária da empresa BioPlant Tech, Pelotas, RS - gabrielabneitzke@gmail.com*

²*Estagiária da empresa BioPlant Tech, Pelotas, RS- criswille@yahoo.com*

³*Técnico de laboratório da empresa BioPlant Tech, Pelotas, RS - guilhermesilvasilveira2015@gmail.com*

⁴*Laboratório de Genética Molecular e Biotecnologia Vegetal, Departamento de Biologia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, RJ- l.willianpacheco@gmail.com*

⁵*Sócia proprietária da empresa BioPlant Tech, Pelotas, RS - daiane bio@yahoo.com.br*

1. INTRODUÇÃO

Dentre as diferentes práticas em cultura de tecidos, uma das mais utilizadas é a micropropagação de plantas *in vitro*, atualmente grande responsável pela produção de mudas de várias espécies para fins comerciais, tendo como vantagens a produção de mudas em menor tempo, a obtenção de várias plantas a partir de um exemplar (OLIVEIRA et al., 2006; SANTOS et al., 2019), sadias, isentas de vírus e outros microrganismos causadores de doenças (MENEZES et al., 2012).

A biofábrica é uma fábrica que necessita do uso biotecnológico para a produção de mudas em larga escala, na qual seus processos precisam ser bem definidos, podendo chegar a desenvolver milhares de mudas por ano (LEE et al., 2007). O progresso de uma biofábrica e a produção de mudas com uma alta qualidade, está intimamente relacionada a sua elaboração e direcionamento quanto a seus materiais de consumo e equipamentos. É necessário que haja cautela com relação ao ambiente, impedindo que poeira, microrganismo, entre outros, entrem em contato com a área que serão realizados os processos (TEIXEIRA et al., 2012).

CARVALHO et al., (2013) afirma que é crescente o número de empresas que cada dia mais optam por essa tecnologia, buscando abranger a demanda de um material propagativo de alta qualidade e conservação gênica de importantes culturas como as flores e plantas ornamentais, frutíferas, silviculturas, entre outros.

Atualmente a biofábrica BioPlant Tech, sitiada em Pelotas, trabalha com micropropagação *in vitro* de plantas ornamentais e frutíferas. As mudas multiplicadas *in vitro* são acondicionadas em frascos de vidro, porém para redução de custos está sendo utilizado frascos de plástico (polipropileno). Foi observado que o desenvolvimento dos explantes acondicionados em frascos de plástico apresentava-se inferior aos de vidro em algumas espécies. Frente a isso, para solucionar esse problema foi realizado um experimento com framboesa, cv. Batum, em frascos de plástico, modificando o meio de cultivo para melhor desenvolvimento das mesmas.

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 framboesa, cv. Batum, germinadas in vitro. O meio nutritivo utilizado foi o MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962), acrescido de diferentes doses de carvão ativado (0; 0,5; 1,0; 1,5 e 2,0 g L⁻¹), 100 mg L⁻¹ de mio-inositol, 30 g L⁻¹ de sacarose e 1,0 mg L⁻¹ de benzilaminopurina (BAP), sendo o pH ajustado para 6,0 antes da inclusão do ágar (7 g L⁻¹). Em seguida, os meios foram distribuídos em potes plásticos (polipropileno) de 250 ml 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 ± 2°C, densidade de fluxo de fótons de 40 µmol m⁻²s⁻¹, provida por lâmpadas fluorescentes branca-fria e fotoperíodo de 16 horas.

O delineamento experimental utilizado para testar o efeito do carvão ativado, foi inteiramente casualizado, com seis repetições, sendo que cada repetição continha 20 explantes, totalizando 120 explantes por tratamento. Foi realizada a Análise de Variância (ANOVA), seguido da comparação entre as médias dos tratamentos (Tukey) ao nível de 5% de probabilidade de erro e a construção dos gráficos foram conduzidas no ambiente de programação estatística R Ver.4.2.1 (R TEAM CORE, 2020), utilizando os seguintes pacotes: Agricolae Ver.1.3-5 (MENDIBURU; YSEEN et al., 2020) e ggplot2 (WICHHAM et al., 2016). Após 45 dias foram analisados: altura média dos explantes por broto (cm), número médio de brotos, número médio de explantes por broto e presença de raiz.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram utilizados para multiplicação do material, segmentos nodais de plântulas obtidas in vitro.

Com base nas características avaliadas, foi possível observar diferença nas respostas ao tratamento com ou sem suplementação do meio de cultura com carvão ativado e no padrão de crescimento de plantas de framboesa na fase de multiplicação in vitro aos 45 dias (Figura 1).

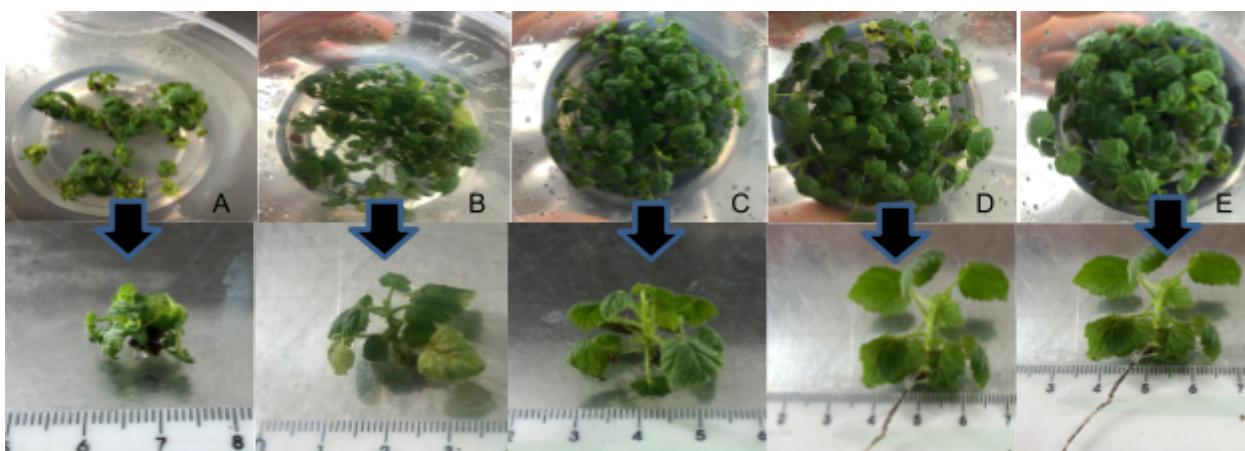


Figura 1. Efeito das dosagens de carvão ativado em meio de cultivo de framboesa, cv. Batum. A- 0 mg L⁻¹; B- 0,5 mg L⁻¹; C- 1,0 mg L⁻¹; D- 1,5 mg L⁻¹; E- 2,0 mg L⁻¹ de carvão ativado.

Em relação a altura média dos explantes, pode-se observar que não houve diferença estatística com a utilização de 1, 1,5 e 2 mg L⁻¹ de carvão ativado (0,70; 1,06 e 0,75 cm, respectivamente), sendo estes de maior altura, porém diferenciou dos demais tratamentos (Figura 2). Dependendo da espécie, do tipo de explante ou da fase de cultivo a ser propagada, a adição de um antioxidante (carvão ativado e PVP) ao meio de cultura pode ter efeitos positivos (PANKAJ et al., 2014), como observado no estudo *in vitro* da cultura da espécie em estudo.

O tratamento com melhor resultado em relação ao número médio de brotos foi verificado na ausência de carvão ativado e na adição de 1 e 1,5 mg L⁻¹ no meio de cultivo (1,85 e 1,98, respectivamente), diferindo estatisticamente dos demais tratamentos. Embora tenha apresentado maior resultado nessa variável, estes apresentaram folhas pequenas e menor altura, como pode ser observado na Figura 2. O aumento da concentração de carvão ativado pode ser prejudicial ao meio de cultura, pois GALDIANO-JÚNIOR et al. (2010), mencionam que o uso de carvão ativado pode adsorver outras substâncias do meio nutritivo como, por exemplo, os reguladores de crescimento, acarretando efeitos indesejáveis ao cultivo *in vitro*. Essa circunstância, pode servir como justificativa a diminuição do número de brotações à medida que as doses de carvão ativado suplementadas ao meio de cultura aumentaram.

O efeito da suplementação com carvão ativado inferiu significativamente as características morfológicas estudadas na multiplicação *in vitro* de framboesa.

A suplementação com carvão ativado aos 45 dias de cultivo para multiplicação *in vitro* de framboesa proporcionou o maior número de explantes por brotos na concentração de 1,5 mg L⁻¹ (2,96), diferindo estatisticamente dos demais (Figura 2).

A adição de carvão ativado ao meio de cultivo aumenta a adsorção de substâncias que inibem o desenvolvimento vegetal, assim como minimiza a toxicidade de reguladores vegetais ou de substâncias exógenas com efeito nocivo, o que contribuiu para um maior crescimento *in vitro* do explante.

Não houve fase de enraizamento, ou seja, as raízes foram emitidas espontaneamente não necessitando da adição de auxina para a indução das mesmas, verificando-se que as dosagens de 1,5 e 2,0 mg L⁻¹ (6,33 e 6,83 respectivamente) de carvão ativado foram suficientes para promover o crescimento de raízes e sem adição de carvão ativada não houve o aparecimento das mesmas (Figura 2).

Segundo SILVA et al., (2017) o carvão simula a condição de escuro na qual as raízes normalmente se desenvolvem melhor, além de possuir efeito diluidor, retendo parte de todos os elementos que compõem o meio, absorvendo compostos fenólicos inibidores do enraizamento.

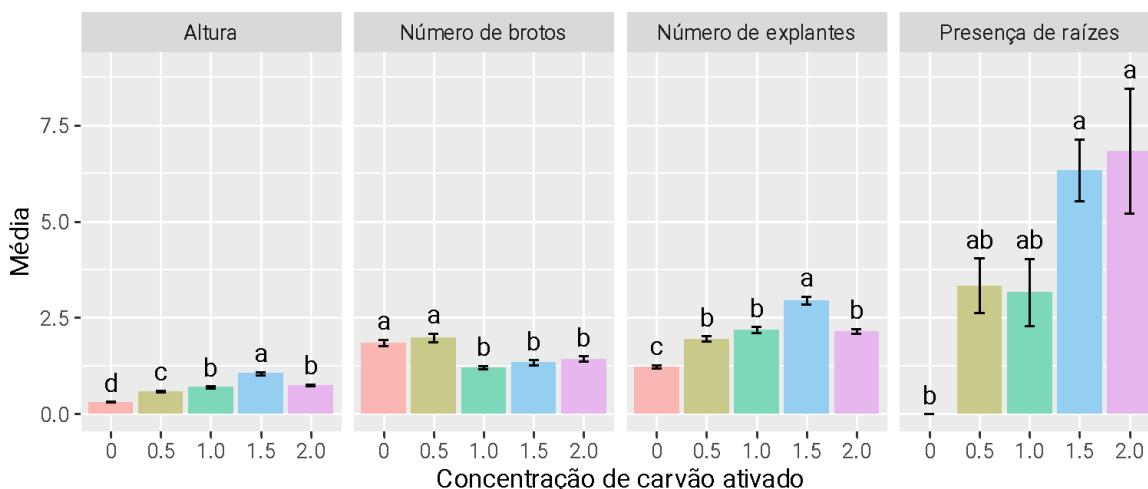


Figura 2. Efeito da adição do carvão ativado sobre o número médio da altura dos explantes (cm), número médio de brotos, de explantes por broto e presença de raiz, em plantas de framboesa, cv. Batum.

4. CONCLUSÕES

A suplementação do meio de cultura MS com carvão ativado nas concentrações de 1,5 ou 2,0 mg L⁻¹ registrou os melhores resultados para a multiplicação de framboesa, cv. Batum, pois induziu maior número de explantes.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CARVALHO, A.C.P P.; TOMBOLATO, A.F.C.; RODRIGUES, A.A de J. Panorama da cultura de tecidos no Brasil com ênfase em flores e plantas ornamentais. **Embrapa Agroindústria Tropical-Capítulo em livro científico (ALICE)**, 2013.
- LEE, T.S.G.; BRESSAN, E.A.; CORRÊA DA SILVA, A.D.; LEE, L.L. Implantação de biofábrica de cana-de-açúcar: riscos e sucessos. **Ornamental Horticulture**, v. 13, p. 2002- 2010, 2007.
- MENDIBURU, F.; MUHAMMAD YASEEN (2020). *Agricolae: Statistical Procedures for Agricultural Research.R package version 1.4.0*, <https://myaseen208.github.io/agricolae/> <https://cran.r-project.org/package=agricolae>.
- MENEZES, T. P.; GOMES, W. A.; PIO, L. A. S.; PASQUAL, M.; RAMOS, J. D. (2012). Micropropagação e endorreduplicação em pitaya vermelha. **Bioscience Journal**, 28(6). <http://www.seer.ufu.br/index.php/biosciencejournal/article/view/13986/11095>
- MURASHIGE T.; SKOOG F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiol. Plant.** 15:473-97, 1962.
- OLIVEIRA, A.D.; ANTUNES, L.E.C.; SCHUCH, M.W. Caracterização morfológica de cultivares de oliveira em coleção e considerações sobre o seu cultivo no Brasil. **Informe agropecuário**, 27(231), 55-62, 2006.
- R CORE TEAM (2020). **R: A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna. Available in: <https://www.R-project.org>
- SANTOS, J. D.; PINHEIRO, M. V. M.; FONTANA, D. C.; SCHIMIDT, D.; PRETTO, M. M. **Estabelecimento in vitro de oliveira 'Arbequina'e 'Koroneiki'**. Ciência Florestal, 29(2), 2019.
- TEIXEIRA, K.C dos S. et al. Produção comercial de mudas micropropagadas em Sergipe. In: **CICLO DE PALESTRAS SOBRE CULTIVO IN VITRO DE PLANTAS**, 3., 2012, Aracaju. Anais... Brasília, DF: Embrapa, 2012.
- WICKHAM, H. (2016). **ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis**. Springer-Verlag New York. ISBN 978-3-319-24277-4, <https://ggplot2.tidyverse.org>.