

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

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

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

³Técnico de laboratório da empresa BioPlant Tech, Pelotas, RS -

guilhermesilvasilveira2015@gmail.com

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

⁵Sócia 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 biofábricas 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, sediada 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).

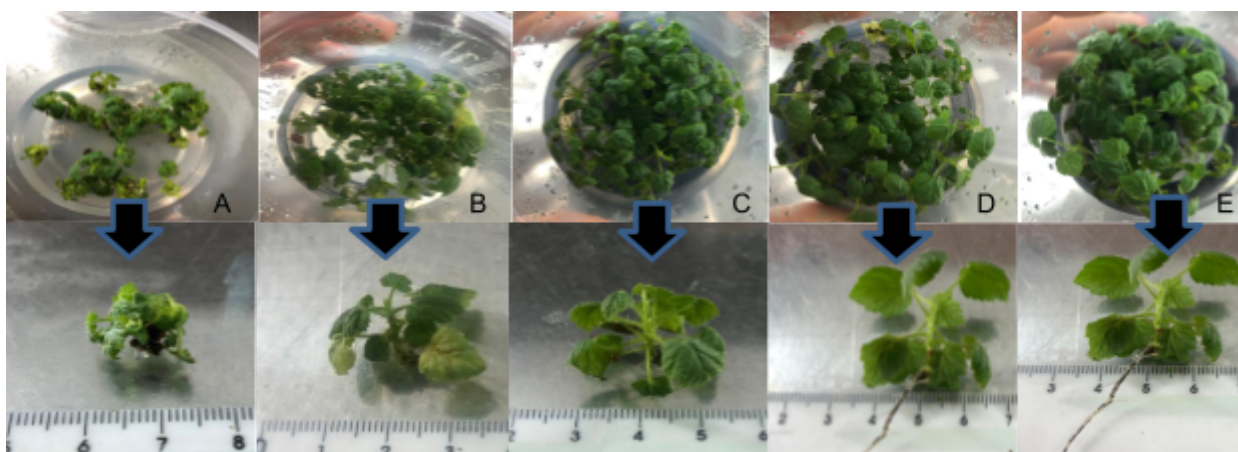


Figura 1. Efeito das dosagens de carvão ativado em meio de cultivo de framboesa, cv. Batum. A- 0 mg L⁻¹; B- 0,5 mg L⁻¹; C- 1,0 mg L⁻¹; D- 1,5 mg L⁻¹; E- 2,0 mg L⁻¹ de carvão ativado.

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.

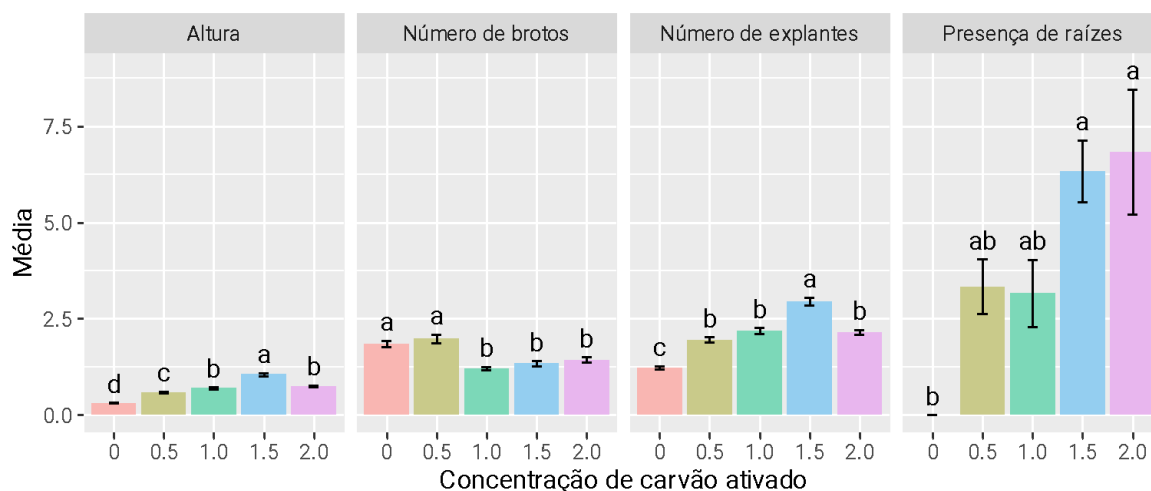


Figura 2. Efeito da adição do carvão ativado sobre o número médio da altura dos explantes (cm), número médio de brotos, de explantes por broto e presença de raiz, em plantas de framboesa, cv. Batum.

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.; SCHMIDT, 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>.