

EFEITO DO N⁶- BENZILAMINOPURINA NA MICROPROPAGAÇÃO DE FRAMBOESA, CV. HERITAGE, UTILIZANDO POTES DE POLIPROPILENO

MÉLANY ANDRADE THIELO¹; MILENE DITTGEN VARGAS²; NICOLAS PEREIRA MACIEL³; GUILHERME DA SILVA SILVEIRA⁴; LUIS WILLIAN PACHECO ARGE⁵; DAIANE DE PINHO BENEMANN⁶

¹Departamento de Biotecnologia - CDTEC, UFPEL, Pelotas/RS – melanythielo@gmail.com

²Estagiária da empresa BioPlant Tech, Pelotas, RS - mihvargas17@gmail.com

³Estagiária da empresa BioPlant Tech, Pelotas, RS - nicolas84pinheiro59@gmail.com

⁴Técnico de laboratório da empresa BioPlant Tech, Pelotas, RS -
guilhermesilvasilveira2015@gmail.com

⁵Morrell Lab, plant genetics department, University of Minnesota- l.willianpacheco@gmail.com

⁶Sócia proprietária da empresa BioPlant Tech, Pelotas, RS - daiane_bio@yahoo.com.br

1. INTRODUÇÃO

Uma biofábrica consiste na produção biotecnológica de mudas em larga escala, possuindo processos bem definidos que permitem o desenvolvimento de 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 relacionado a sua elaboração e direcionamento quanto a seus materiais de consumo e equipamentos, assim como é necessário que haja cautela com relação ao ambiente, impedindo que poeira, microrganismos, entre outros, entrem em contato com a área onde serão realizados os processos (TEIXEIRA et al., 2012).

Por conta da possibilidade de suprir uma demanda de material propagativo de alta qualidade e conservação gênica de importantes culturas como as flores e plantas ornamentais, frutíferas e silviculturas, o número de empresas que optam por esta tecnologia é crescente (CARVALHO et al., 2013; FONSCESCA et al., 2019).

Em uma biofábrica, uma das práticas mais utilizadas na cultura de tecidos 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, sadias, isentas de vírus e outros microrganismos causadores de doenças (MENEZES et al., 2012).

Atualmente a biofábrica BioPlant Tech, sediada em Pelotas, trabalha com micropropagação *in vitro* de plantas ornamentais e frutíferas, uma destas plantas é a framboesa, cv. Heritage. As framboesas são frutos da framboeseira (*Rubus idaeus* L.), um arbusto perene da família *Rosaceae*. Suas cultivares são classificadas de acordo com o hábito de frutificação, sendo cultivares não-remontantes, que possuem um ciclo bianual, ou remontantes, que possuem um ciclo anual. A cultivar 'Heritage' pertencente à classificação remontante, e por conta desta característica se torna economicamente viável em decorrência da sua maior produção, aumentando sua procura (GAMBARDELLA et al., 2016).

As mudas multiplicadas *in vitro* são acondicionadas em frascos de vidro, porém para redução de custos são utilizados frascos plásticos de polipropileno (PP). Foi observado que o desenvolvimento dos explantes acondicionados em frascos de plástico apresentava-se inferior aos de vidro em algumas espécies. Frente a isso, o objetivo do presente estudo foi melhorar o desenvolvimento de framboesa, cv. heritage, em frascos de plástico, adicionando carvão ativado e diferentes concentrações de N⁶- benzilaminopurina (BAP) no meio de cultivo.

2. METODOLOGIA

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

Para a indução de multibrotações *in vitro*, foram utilizados como explantes segmentos nodais isolados de plântulas de framboesa, cv. heritage, germinadas *in vitro*. O meio nutritivo utilizado foi o MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962), acrescido de diferentes concentrações de BAP (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 2,0 mg L⁻¹ carvão ativado, 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 capacidade de 250 ml e autoclavados durante 20 minutos a 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 led e fotoperíodo de 16 horas.

Após 45 dias foram analisados: altura média dos explantes (cm), número médio de brotos, taxa de multiplicação (número de explantes por brotações) e presença de raiz.

O experimento foi realizado com delineamento de blocos totalmente casualizados para testar o efeito de diferentes concentrações de BAP, com 5 blocos referentes as concentrações e 20 repetições, sendo que cada repetição continha 5 potes com 20 explantes, totalizando 100 explantes por tratamento para as diferentes concentrações de BAP. A análise de variância não-paramétrica e representação gráfica foram conduzidas com o pacote R ggpubr (Kassambara, 2023) ver. 0.6.0. Para a comparação de médias, o teste Tukey foi empregado com probabilidade de erro de 5% como ponto de corte, utilizando o pacote Agricolae Ver. 1.3-6 (Mendiburu, 2023). A versão utilizada de R (R Team Core, 2023) foi a 4.2.2.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A utilização de frascos de vidro é comumente empregada na cultura de tecidos para armazenamento das mudas micropropagadas, porém o custo desses frascos são superiores aos de plástico (polipropileno). Tem-se observado que com a utilização de frascos de plásticos, há uma queda na multiplicação de algumas espécies trabalhadas na empresa. A fim de melhorar a qualidade e taxa de multiplicação, foi realizado esse experimento em potes plásticos, para solucionar esses problemas encontrados.

Após 45 dias de cultivo, foi observado que não houve diferença entre as concentrações de BAP em relação a altura média dos explantes e número médio de brotos, demonstrando que a utilização ou não de BAP não influenciou nessas variáveis analisadas (Figura 1), sendo que segundo Georgieva et al. (2020), as citocininas mais comumente usadas para multiplicação de framboesas são BAP (0,1–3,0 mg L⁻¹) isoladamente ou em combinação com AIB (0,1–1,0 mg L⁻¹) e GA3 (0–0,1 mg L⁻¹).

Em relação a taxa de multiplicação (número de explantes por brotações) *in vitro* de framboesa, observou-se que não houve diferença estatística relevante entre as concentrações estudadas (Figura 1). A capacidade de multiplicação depende fortemente do tipo e concentração de citocinina utilizada, da duração do subcultivo e, por último mas não menos importante, do genótipo (Isac; Popescu, 2009; Zaprianova; Ivanova, 2016;).

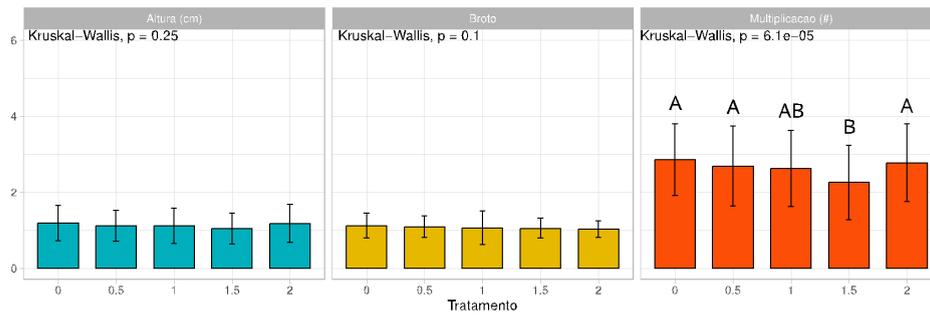


Figura 1. Efeito da adição de BAP sobre o número médio da altura dos explantes (cm), número médio de brotos, da taxa de multiplicação (explantes por broto) em plantas de framboesa, cv. Heritage.

Não houve fase de enraizamento, tendo em vista o objetivo proposto, porém as raízes foram emitidas espontaneamente não necessitando da adição de um fitohormônio de enraizamento para a indução das mesmas, verificando-se que em todas as dosagens de BAP foram suficientes para promover o crescimento de raízes (Figura 2). Esse acontecimento pode estar relacionado com o fato da adição de carvão ativado no meio de cultivo. Segundo Silva et al. (2001) o carvão simula a condição de escuro na qual as raízes normalmente se desenvolvem, além de possuir efeito diluidor, retendo parte de todos os elementos que compõem o meio, absorvendo compostos fenólicos inibidores do enraizamento. O enriquecimento do meio com carvão ativado (Anderson, 1980) ou floriglucinol 10 mM (Sobczykiewicz, 1987) melhora a formação de raízes em framboesas.

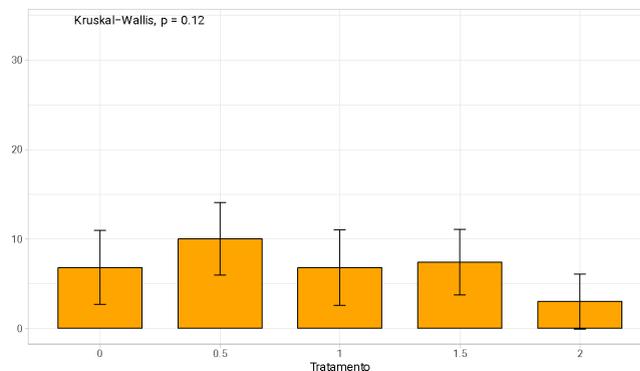


Figura 2. Efeito da adição de BAP sobre a presença de raiz em plantas de framboesa, cv. Heritage.

4. CONCLUSÕES

Conclui-se que o desenvolvimento das mudas não foram afetadas com a utilização de diferentes concentrações de BAP em potes de polipropileno.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CARVALHO, A. C. P. P. de et al. Panorama da cultura de tecidos no Brasil com ênfase em flores e plantas ornamentais. In: **Aspectos Práticos da Micropropagação de Plantas**. local, 2013. Cap.1 p. 13–53.

GEORGIEVA, M. et al. A comparative study on raspberry cultivars in micropropagation. **Bulgarian Journal of Agricultural Science**, Plovdiv, Bulgaria, 26, n. 3, p. 527–532, 2020.

ISAC, V.; POPESCU, A. Protocols for In Vitro Micropropagation of Strawberry, Raspberry, Blackberry, Black Currant, Blueberry and Lingonberry. In book: **A Guide to Some In Vitro Techniques - Small Fruit**. Pitesti, Romênia: Cost Action 863, 2009. Chapter I, p.14 - 24.

KASSAMBARA, A. ggpubr: 'ggplot2' Based Publication Ready Plots. R package version 0.6.0. 2023. Disponível em: <https://CRAN.R-project.org/package=ggpubr>

LEE, T. S. G. et al. Implantação de biofábrica de cana-de-açúcar: riscos e sucessos. **Ornamental Horticulture**, v. 13, p. 2002- 2010, 2007.

MENEZES, T. P. de et al. Micropropagação e endorreduplicação em pitaya vermelha. **Bioscience Journal**, Uberlândia, MG, v. 28, n. 6, p. 868–876, 2012.

MURASHIGE, T; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiol. Plant.** 15, p. 473-97, 1962.

R Core Team. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing. Vienna, Austria, 2022. Disponível em: <https://www.R-project.org/>

SILVA, K.M. da et al. Utilização de antioxidantes na micropropagação de bananeira cv. Pioneira. **Magistra**, Cruz das Almas, v.13, n. 1, 2001.

SOARES, I. A. et al. Biofactories in the current Brazilian agricultural scenario: review. **Brazilian Journal of Science**, Paraná, v. 2, n. 1, p. 16–33, 2023.

SOBCZYKIEWICZ, D. Mass propagation of raspberry plants by meristem culture. **Acta Horticulturae**, Skierniewice, 212, p. 607-609, 1987.

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., Aracaju, 2012. Anais... Brasília, DF: Embrapa, 2012.

WILBUR, A. C. Tissue culture propagation of red and black raspberries, *Rubus idaeus* and *R. occidentalis*. **Acta Horticulturae**, Mount Vernon, 112, p. 13–20, 1980.