

APLICAÇÃO DE CARVÃO ATIVADO NA MICROPROPAGAÇÃO DE FRAMBOESA, CV. HERITAGE

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- lwillianpacheco@gmail.com

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

1. INTRODUÇÃO

Tradicionalmente, a propagação comercial de plantas de framboesa é feita vegetativamente, usando estacas (DZIEDZIC; JAGLA, 2013). No entanto, essa técnica convencional é demorada e não produz material de plantio livre de vírus. A micropropagação clonal permite tanto a eliminação de vírus quanto o estabelecimento de plantas uniformes de alta qualidade que se multiplicam rapidamente (MARTIN et al., 2002). As plantas de framboesa micropropagadas são usadas para o estabelecimento de plantas matrizes, bem como para a criação de plantações comerciais. Tem sido estudado os efeitos de diferentes fatores no cultivo *in vitro*, tais como, pré-tratamento e o estágio de iniciação da cultura (WU et al., 2009), o crescimento da planta, reguladores (HUNKOVA et al., 2016) e a composição mineral do meio (POOTHONG, S.; REED, 2014) na micropropagação de framboesa. Por se tratar de uma espécie semilenhosa, ao ser cultivada *in vitro*, a framboeseira libera exsudatos derivados da oxidação de compostos fenólicos, sendo necessário o uso de antioxidantes no meio de cultura. A oxidação ocorre em função da liberação de compostos fenólicos *in vitro*, precursores da síntese de lignina, pelo tecido injuriado. Esse acúmulo de polifenóis e produtos de oxidação, como melanina, suberina, lignina, cutina e calose em torno da superfície excisada, modificam a composição do meio de cultivo e a absorção de metabólitos (ANDRADE et al., 2000).

As mudas multiplicadas *in vitro* são geralmente acondicionadas em frascos de vidro, porém para redução de custos o uso de frascos de plástico (polipropileno) está sendo muito utilizada por laboratórios comerciais. Foi observado que o desenvolvimento dos explantes acondicionados em frascos de plástico é inferior aos de vidro em algumas espécies. Sendo assim, pode-se salientar que o carvão ativado, além de atuar como potencial antioxidante, promove a adsorção de hormônios (auxinas e citocininas), exsudatos das plantas e metabólicos tóxicos, podendo solucionar tais problemas.

Diante da necessidade de se desenvolver protocolos que, solucionem um problema recorrente na micropropagação *in vitro* da espécie, o presente trabalho teve por objetivo avaliar o efeito de diferentes concentrações de carvão ativado, adicionados ao meio de cultura para framboeseira, cultivar Heritage.

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. Heritage, 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 1mg 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).

Em relação a altura média dos explantes, pode-se observar que não houve diferença estatística com a utilização de 1 a 2 mg L⁻¹ de carvão ativado, 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.

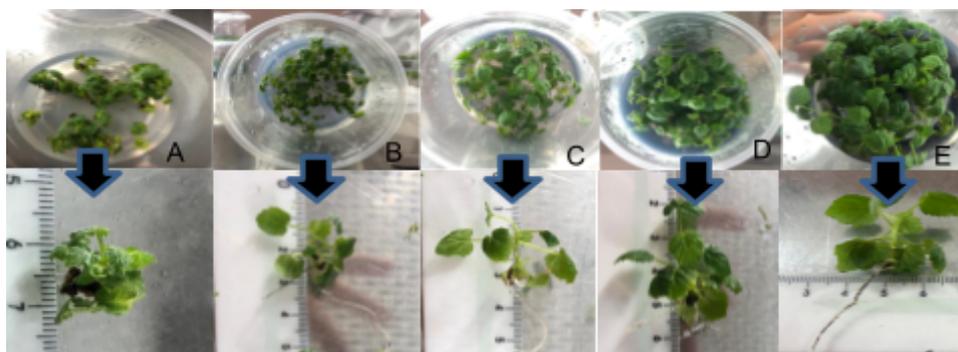


Figura 1. Efeito das dosagens de carvão ativado em meio de cultivo de framboesa, cv. Heritage. A- 0 mg L⁻¹; B- 0,5 mg L⁻¹; C- 1,0 mg L⁻¹; D- 1,5 mg L⁻¹; E- 2,0 mg L⁻¹ de carvão ativado.

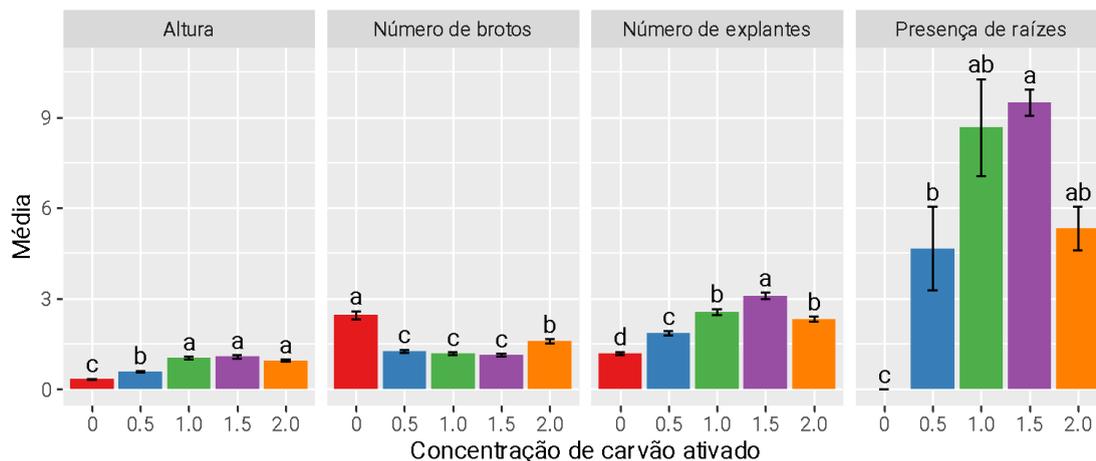


Figura 2. Efeito da adição do carvão ativado sobre o número médio da altura dos explantes (cm), número médio de brotos, de explantes por broto e presença de raiz em plantas de framboesa, cv. Heritage.

O tratamento com melhor resultado em relação ao número médio de brotos foi verificado na ausência de carvão ativado no meio de cultivo (2,46), 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 40 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 (3,10), 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 (8,67 e 9,50, respectivamente) de carvão ativado foram suficientes para promover o crescimento de raízes (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.

4. CONCLUSÕES

A suplementação do meio de cultura MS com carvão ativado na concentração de 1,5 mg L⁻¹ registrou os melhores resultados para a multiplicação de framboesa, cv. Heritage, pois induziu maior número de explantes.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDRADE, M.W. et al. Micropropagação da aroeira (*Myracrodruon urundeuva* Fr. All). **Ciência e Agrotecnologia** 24: 174-180, 2000.
- DZIEDZIR, E.; JAGLA, J. Micropropagation of *Rubus* and *Ribes* spp. In **Protocols for Micropropagation of Selected Economically Important Horticultural Plants**; Lambardi, M., Ozudogru, E.A., Jain, S.M., Eds.; Humana Press: Totowa, NJ, USA, 2013; pp. 149–160. ISBN 978-1-62703-073-1.
- MENDIBURU, F.; MUHAMMAD Y. (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>.
- GALDIANO-JÚNIOR, R.F. et al. Morfologia do fruto, semente e propagação *in vitro* de *Caularthron bicornutum* (Orchidaceae). **Revista EPeQ Fafibe** 1: 64-68, 2010.
- HUNKOVA, J.; LIBIAKOVA, G.; GAIDOSOVA, A. Shoot proliferation ability of selected cultivars of *Rubus* spp. as influenced by genotype and cytokinin concentration. **J. Cent. Eur. Agric.** 17, 379–390, 2016.
- MARTIN, R.R. Virus diseases of *Rubus* and strategies for their control. **Acta Hortic.** 2002, 585, 265–270.
- MURASHIGE T; SKOOG F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiol. Plant.** 15:473-97, 1962.
- PANKAJ, K.; PANDEY, S.; ROY, K. Ascorbic and citric acids in combination resolve the problems encountered in micro-propagation of litchi from shoot tips. **Cell and Tissue Research**, v. 14, n. 1, p. 41-59, 2014.
- POOTHONG, S.; REED, B.M. Modeling the effects of mineral nutrition for improving growth and development of micropropagated red raspberries. **Sci. Hortic.** 165, 132–141, 2014.
- 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>
- WICKHAM H (2016). **ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis**. Springer-Verlag New York. ISBN 978-3-319-24277-4, <https://ggplot2.tidyverse.org>.
- WU, J.H.; MILLER, S.A.; HALL, H.K.; MOONEY, P.A. Factors affecting the efficiency of micropropagation from lateral buds and shoot tips of *Rubus*. **Plant Cell Tissus Organ Cult.** 99, 17–25, 2009.