CONCENTRAÇÕES DE BAP E CARVÃO ATIVADO NA MICROTUBERIZAÇÃO DE BATATA CV. ATLANTIC *IN VITRO*

Leticia Manuela de Morais (PIBIC/FA), Jessé Neves dos Santos, Ricardo Antônio Ayub (Orientador), e-mail: rayub@uepg.br.

Universidade Estadual de Ponta Grossa/Departamento de Fitotecnia e Fitossanidade (5.01.03.00-8)

Ciências Agrárias, Agronomia, Fitotecnia

Palavras-chave: Micropropagação; *Solanum tuberosum L*.; Citocinina.

Resumo

A batata é a terceira cultura alimentícia mais importante do mundo. Por ser propagada vegetativamente a planta se torna muito suscetível a várias doenças. Diante disso, a micropropagação é utilizada para microtubérculos de qualidade. Explantes de batata cv. Atlantic foram colocados em meio ½ acrescido dos tratamentos carvão ativado (CA) (0, 0,1, 0,5 e 1,0 %) e 6- benzilaminopurina (BAP) (0,0; 2,0; 4,0 e 6,0 mg L^{-1}). O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial 4x4 totalizando 16 tratamentos. A presença do CA diminuiu o crescimento da parte aérea e raízes devido a adsorção dos componentes do meio de cultura. Houve menor massa e comprimento dos explantes com a adição de BAP devido sua atuação na quebra de dominância apical. Para o número de microtubérculos, apenas o CA foi significativo, pois diminui a luminosidade do meio favorecendo a formação destes. Para massa fresca dos microtubérculos não houve diferença significativa entre os tratamentos.

Introdução

A batata (*Solanum tuberosum L.*) é a terceira olerácea mais produzida no Brasil (FAO 2017). O principal fator que influencia o rendimento é o tubérculo semente utilizado, contudo, na propagação vegetativa, a batata é muito suscetível a patógenos, como vírus, assim a cultura de tecidos é utilizada, pois origina plantas com alta qualidade fitossanitária (WANG *et al.* 2011; VALKONEN, 2017).

Convencionalmente, ao utilizar altas concentrações de sacarose e citocinina no meio de cultura, ocorre a formação de microtubérculos que são utilizados para produção da batata semente (SALEM E HASSANEIN, 2016).

A adição do BAP tem efeito positivo sobre a microtuberização desde que em concentrações adequadas (HUSSAIN *et. al.* 2006, TORRES *et al.*1998) . Elaleen *et al.* (2015), verificaram que condições de pouca luz, induziram a maior produção de microtubérculos. O CA (Carvão Ativado) atua como um adsorvente e pode induzir a tuberização, pois bloqueia a iluminação e mantém o equilíbrio entre os principais componentes do meio (PENG *et. al.;* 2012). O presente trabalho visa avaliar a interação entre diferentes concentrações de BAP e CA na microtuberização in vitro.

Material e Métodos

Brotações de batata (*Solanum tuberosum* L.) cultivar Atlantic, foram desinfestadas em álcool 70% por 10 segundos, hipoclorito de sódio 1% + 3 gotas de Tween 20 por 10 minutos e três lavagens em água destilada e autoclavada. Após isso as brotações foram seccionadas em 1,5 cm e introduzidas em tubos de ensaio com 10 ml de meio ½ MS (MURASHIGUE; SKOOG, 1962) suplementado com sacarose (30 g L^{-1}), mio-inositol (0,1 g L^{-1}) e ágar (6 g L^{-1}). Após 30 dias, as brotações desenvolvidas foram segmentadas em 1,5 cm e colocadas em frascos com 30 ml de

meio ½ MS acrescidos de mio-inositol (100mg L^{-1}), ágar (6 g L^{-1}), sacarose (80 g L^{-1}) e ANA (0,01 mg L^{-1}) além de CA e BAP de acordo com os tratamentos. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em fatorial 4x4, com 4 concentrações de CA (0, 0,1, 0,5 e 1,0 %) e 4 de BAP (0,0; 2,0; 4,0 e 6,0 mg L^{-1}), totalizando 16 tratamentos com 4 repetições compostas por um frasco contendo 4 plantas. Os frascos ficaram em sala de crescimento, com temperatura de 25 ± 2 °C, fotoperíodo de 16 horas e densidade de fluxo de fótons do período de luz de 27 $\mu mol.m^2.s^1$ durante 60 dias. Após esse período avaliou-se o número de microtubérculos e folhas, comprimento do explante e da raiz, diâmetro do calo e massa fresca das brotações e microtubérculos. As médias foram comparadas pelo teste de Tukey (p>0,05) utilizando o *software* R Studio (RStudio Team, 2016).

Resultados e Discussão

Para massa fresca de microtubérculos, não houve diferença estatística entre os tratamentos. O número de microtubérculos foi superior ao controle utilizando 1% de CA. Já para o número de folhas esse mesmo tratamento foi inferior a todos os outros. Não houve diferença estatística de acordo com o BAP (Tabela 1). Esses resultados condizem com os encontrados por Hussain *et al.* (2006), que afirmaram que a combinação do BAP em altas concentrações de sacarose, não aumentou o número e o tamanho dos microtubérculos.

Para massa fresca das brotações, 0% de CA associado à 0 mg L^{-1} de BAP foi estatisticamente superior aos níveis de 4 e 6 mg L^{-1}. Analisando o nível 0,1% de CA, a adição de 6 mg L^{-1} foi superior ao que continha 4 mg L^{-1}, não diferindo estatisticamente dos demais. Os tratamentos 0,5 e 1% de CA não apresentaram diferenças significativas entre os diferentes níveis de BAP (Tabela 1). Segundo Torres *et al.* (1998), o uso de citocinina estimula maior massa fresca, número de gemas e folhas, porém quando se utiliza altas concentrações o efeito é inverso.

No comprimento dos explantes (Tabela 1), ao utilizar 0,1 e 1% de CA não houve diferenças significativas entre os níveis de BAP, já com 0,5% de CA foi observado que 4 mg L^{-1} de BAP foi superior à 6mg L^{-1}. Quando o CA não foi adicionado ao meio, o maior comprimento foi obtido na ausência de BAP, pois o CA adsorve os reguladores de crescimento e assim o BAP pode ter efeito toxico reduzindo o comprimento (HASSAN et al., 2011; BARCISZEWSKI et al., 2006). Pode ser observado um declínio no comprimento dos explantes conforme as concentrações de BAP aumentam, devido a atuação do BAP no processo de quebra de dominância apical das plantas (BARCISZEWSKI et al., 2006).

No comprimento da raiz e no diâmetro do calo (Tabela 1), apenas o tratamento não contendo CA foi significativo, onde, para a primeira variável, a interação com o nível 0 mg L^{-1} de BAP foi estatisticamente superior aos demais, enquanto para a segunda, a mesma interação foi estatisticamente inferior as demais. Os resultados obtidos para o comprimento das raízes corroboram com Buckseth *et al.* (2018), que afirmam que conforme a concentração do CA aumenta, o número de raízes diminui, devido a adsorção não seletiva dos reguladores de crescimento. Segundo Furtado *et al.* (2007), o BAP atua na divisão celular e consequentemente no desenvolvimento de tecidos, sendo assim, acaba por favorecer o desenvolvimento de raízes em baixas concentrações. Porém, devido as concentrações utilizadas serem maiores, esse efeito não foi observado no presente trabalho já que, na ausência do carvão ativado é possível observar um decréscimo das médias do comprimento das raízes, conforme as concentrações de BAP aumentam. Santosi *et al.* (2006), trabalhando com micropropagação de piquizeiro, observaram a formação de calos na base de todas as brotações quando o CA não foi adicionado ao meio, resultados diferentes

deste experimento, pois no tratamento isento de CA e BAP não ocorreu a formação de calos, os quais são um grupo de células de crescimento desordenado (TORRES *et al.;* 2000), e como as citocininas apresentam importante papel na divisão celular, pressupõe-se que a formação de calos no presente trabalho se deve a adição do BAP ao meio de cultura. Essa massa de células pode interromper a ligação vascular entre as raízes e as brotações, o que pode ser prejudicial para uma futura aclimatização (SANTOS *et al*.; 2006).

O CA pode modificar a composição do meio, apresentando a capacidade de melhorar ou regular o crescimento das plântulas (Corrêa *et al*.; 2003). Com isso, sua presença acarretou, no geral, na redução do crescimento da parte aérea e das raízes, possivelmente devido a uma competição com os sais do meio de cultura, diminuindo a disponibilidade desses para as plântulas.

Tabela 1– Massa fresca, Comprimento dos Explantes, Diâmetro dos Calos e Comprimento das Raízes de batata cv. Atlantic obtidas sob diferentes concentrações de 6- benzilaminopurina e carvão ativado.

	Carvão ativado (%)			
	0	0,1	0,5	1
BAP (mg L^{-1})	---------- Massa fresca das brotações (g) ----------			
0	0,594 Aa	0,404 Bab	0,302 Ba	0,258 Ba
2	0,465 Aab	0,432 ABab	0,173 Ca	0,272 Bca
4	0,286 Abc	0,263 Ab	0,149 Aa	0,304 Aa
6	0,253 Bc	0,502 Aa	0,319 Aba	0,145 Ba
	---------- Comprimento dos explantes (cm) ----------			
0	4,800 Aa	5,325 Aa	5,100 Aab	4,406 Aa
2	1,737 Bb	5,243 Aa	4,812 Aab	4,75 Aa
4	1,864 Cb	5,368 Aba	6,237 Aa	4,212 Ba
6	1,287 Bb	4,868 Aa	3,543 Ab	3,831 Aa
	---------- Diâmetro dos calos (cm) ----------			
0	0,000 Ab	2,481 Aa	1,487 Aa	1,493 Aa
2	6,139 Aa	1,900 Ba	2,35 Ba	3,150 Ba
4	5,341 Aa	4,875 Ba	1,693 Ba	2,506 Ba
6	5,095 Aa	2,075 Ba	3,100 Aba	1,231 Ba
	---------- Comprimento das raizes (cm) ----------			
0	12,327 Aa	8,762 Aba	4,756 Ba	4,543 Ba
2	3,225 Bb	9,875 Aa	4,175 Ba	4,118 Ba
4	1,518 Bb	6,612 Aa	6,568 Aa	3,437 Aba
6	1,556 Bb	6,987 Aa	4,100 Aba	2,393 Aba

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Conclusão

A não adição do CA e BAP foi o que apresentou as maiores médias para a massa fresca das brotações e comprimento de raiz. Para o número de microtubérculos, a adição do CA foi favorável, enquanto a exclusão dele resultou em maiores calos. Quanto ao comprimento de explantes, 0,5% de CA e 4 mg L^{-1} de BAP foi superior aos demais. A massa fresca dos microtubérculos não apresentou diferenças significativas em nenhum dos tratamentos testados.

Agradecimentos

À Universidade Estadual de Ponta Grossa e Fundação Araucária pelo apoio.

Referências

BARCISZEWSKI J., MASSINO F. CLAR, B. F.C. Kinetin A multiactive molecule. **Int. J. Biol. Macromol** 11p. 2006.

BUCKSETH, T. *et al*. Optimization of Activated Charcoal on in vitro Growth and Development of Potato (*Solanum tuberosum* L.). **IJCMAS**, v. 7, n. 10, p. 3543-48, 2018.

CORRÊA, R. M. *et al*. Potencial do carvão ativado, filtro amarelo e interação fotoperíodo/temperatura na formação de raízes tuberosas de batata-doce in vitro. **Cienc. Rural**, v. 33, n. 3, p. 423-30, 2003.

EBADI, M.; IRANBAKHSH, A. Indução e crescimento de microtubérculos de batata (*Solanum tuberosum*. L) (cultivar Sante) em resposta às diferentes concentrações de 6-benzilaminopurina e sacarose. **Afr. J. Biotechnol.**, v. 10, n. 52, p. 10626-35, 2011.

ELALEEM, K. G.; MODAWI, R. S.; KHALAFALLA, M. M. Micro tuber Induction of two Potato (*Solanum tuberosum* L.) Varieties namely, Almera and Diamant. **IRJBS**, v.4, n.3, p.84-89, 2015.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. Faostat. Disponível em < http://www.fao.org/faostat/en/#data/qc>. Acesso em: 09 mai. 2019.

FURTADO, C. M. *et al*. Comparação da freqüência de regeneração in vitro do amendoim (Arachis hipogaea), utilizando diferentes citocininas. **BIOTERRA**, v. 7, n. 1, p. 51-58, 2007.

HASSAN, M.L.; BEHROOZ, E.; ESMAIEL, C. Hinokitiol and activated charcoal influence the microtuberization and growth of potato (*Solanum tuberosum* cv. Agria) plantlets *in vitro*. **Aust. J. Crop. Sci.,** V.5, n.11, p.1481-85, 2011.

HUSSAIN, I. et al. Efeito do Cloreto de Clorocholina, Sacarose e BAP na Tuberização in vitro em Batata (*Solanum tuberosum* l. cv.Cardinal). **Pak. J. Bot.**, v. 38, n. 2, p. 275-82, 2006.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F.A Revised Medium for Rapid Growth and Bioassays with Tobaco Tissue Cultures**. Physiol. Plant**., v. 15, 437-96, 1962.

PENG, M; WANG, X; LI, L. The Effect of Plant Growth Regulator and Active Charcoal on the Development of Microtubers of Potatoes. **AJPS.**, v. 2012, n.3, p.1535-40, 2012.

RODRIGUES, P. H. V.; TEIXEIRA, F. M.; LIMA, A. M. L. P.; AMBROSANO, G. M. B.; Propagação de mudas de helicônia em biorreator de imersão temporária, v. 65, n.1, p. 29-35, 2006.

RStudio Team; RStudio: Integrated Development for R. RStudio, Inc., Boston, MA, 2016. Disponível em: http://www.rstudio.com/. Acesso em: 01/06/2019

SALEM, J.; HASSANEIN, A.m. In vitro propagation, microtuberization, and molecular characterization of three potato cultivars. **Biol. Pantarum**, v. 61, n. 3, p. 427-37, 2016.

SANTOSI, R. R. *et al*. Micropropagação de pequizeiro (Caryocar brasiliense Camb.). **Rev. Bras. Frutic.,** v. 28, n. 2, p. XX-YY, ago./2006.

TORRES, A.C., CALDAS, L.S Técnicas e aplicações da cultura de tecidos de plantas. ABCTP/EMBRAPA – CNPH 433p. 2000.

TORRES, A.C.; CALDAS, L.S.; BUSO, J.A. Cultura de Tecidos e Transformação Genética de Plantas. Volume I. Embrapa. 509p. 1998.

VALKONEN, J. P. T. Viruses: economical losses and biotechnological potential. In: Vreugdenhil D (ed) Potato biology and biotechnology advances and perspectives. Elsevier, p.619–41, 2017.

VILLA, F.; PASQUAL, M.; ASSIS, F. A. de; PIO, L. A. S.; ASSIS, G. A. de. Crescimento in vitro de amoreira-preta: efeito de reguladores de crescimento e da cultivar. **Ciênc. agrotec.**, v. 32. n. 6, p. 1754-59, 2008

WANG, P. & HU, C. *In vitro* mass tuberisation and virus free seed potato production in Taiwan. **Am. Potato J.**, v.59, p.33-37, 2011.