

Multiplicação in vitro de Tamarillo

In vitro multiplication of Tamarillo

Savana Iribarem Costa¹, Roseli de Mello Farias², Izabel Camacho Nardello³, Paulo Mello-Farias⁴

Resumo

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do regulador de crescimento na multiplicação in vitro de tamarillo (*Cyphomandra betacea*). O trabalho foi conduzido no Laboratório de Propagação de Plantas Frutíferas da Universidade Federal de Pelotas, RS. Segmentos caulinares com uma gema foram inoculados em meio de cultura MS, acrescidos ou não do regulador de crescimento 6 - benzilaminopurina (BAP) (0,5; 1,0, 1,5 e 2,0 mg.L⁻¹). Em seguida, foram mantidos em sala de crescimento. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com cinco repetições, sendo cada uma constituída de um frasco com quatro explantes. Após 45 dias de cultivo foram avaliados o número médio de folhas, de brotações, comprimento médio das brotações (cm), número médio de raízes e comprimento médio da maior raiz (cm). As variáveis de número de folhas, número de brotações e comprimento de brotações não apresentaram diferença significativa entre as doses. Observou-se um acréscimo no número médio de folhas e brotações quando foi utilizada a dose de 0,5 mg.L⁻¹ de BAP, mostrando-se não ser necessário o aumento das doses para estas variáveis. Verificou-se um maior alongamento das hastes quando não foi adicionado o regulador, assim como a ausência do mesmo proporcionou maiores médias para número médio de raiz e comprimento médio da maior raiz. A dose de 0,5 mg.L⁻¹ de BAP favorece a formação de folhas e brotações de *Cyphomandra betacea* no cultivo in vitro da espécie. A ausência de BAP promove o aumento no número e comprimento de raízes.

Palavras-chave: *Cyphomandra betacea*; Micropropagação; 6 – benzilaminopurina.

Abstract

The objective of this work was to evaluate the effect of growth regulator on in vitro multiplication of tamarillo (Cyphomandra betacea). The study was conducted at Fruit Science Propagation Laboratory at Federal University of Pelotas, RS. Stem segments with a bud were inoculated on MS medium added or not with growth regulator 6 -benzylaminopurine (0.5, 1.0, 1.5 and 2.0 mg.L⁻¹). Then, they were kept in a growth chamber. Experimental design was completely randomized with five replicates, each consisting of a bottle with four explants. After 45 days of cultivation, number of leaves, shoots, average shoot length (cm), average number of roots and

¹Doutora em Agronomia – UFPel

²Doutoranda em Agronomia – UFPel

³Mestranda em Agronomia – UFPel

⁴Professor, Dr. Fruticultura de Clima Temperado – UFPel

average length of roots (cm) were evaluated. The number of leaves, number of shoots and shoots length did not show a significant difference between doses. There was an increase in the average number of leaves and shoots when the 0.5 mg.L⁻¹ BAP dose was used, showing that the increase in doses for these variables was not necessary. There was a greater elongation of the stems when the regulator was not added, and the absence of the regulator provided higher averages for mean number of roots and average length of the largest root. BAP 0.5 mg.L⁻¹ dose favors leaves and shoots formation of *Cyphomandra betacea* on in vitro culture. Absence of BAP promotes increase in roots number and length.

Keywords: *Cyphomandra betacea*; Micropropagation; 6 – benzylaminopurine.

Introdução

A espécie *Cyphomandra betacea* pertence à família Solanaceae, a qual apresenta grande importância econômica, onde encontram-se os tomates, batatas, berinjelas, dentre outros (BOHS, 1989; HEISER; ANDERSON, 1999). Originária dos Andes, caracterizada como um arbusto de clima subtropical, com crescimento rápido e semilenhoso. A fruta é de grande importância comercial em países como Bolívia, Colômbia, Equador e Peru, onde é consumida tanto in natura como processada (CHACÓN-CERDAS et al., 2014). No Brasil, é conhecido popularmente como tamarillo, tomate de árvore, tomate da serra, tomate francês, tomate chimango, entre outros (BOHS, 1989).

Tradicionalmente é propagado de forma sexuada via sementes e assexuada por estacas, porém vem enfrentando limitações em relação a variedades com alto potencial produtivo e qualidade de frutos (CHACÓN-CERDAS et al., 2014).

Para isso lança-se mão da propagação vegetativa, onde as plantas se reproduzem sem recorrer à mistura de genes, com base na totipotência vegetal sendo dessa forma, possível agrupar as características de maior interesse comercial. Embora permitam propagar os genótipos desejados, ainda sofrem com algumas limitações, como dificuldades no enraizamento, rejeição à enxertia, ou mesmo servindo como veículo de condução de doenças, além de produzir um número menor de indivíduos quando comprado à propagação in vitro (CANHOTO, 2010).

A cultura in vitro torna-se um método alternativo a clonagem de plantas e diz respeito ao estabelecimento e manutenção em condições laboratoriais, de células,

tecidos, órgãos vegetais, massas de células ou plantas, permitindo a multiplicação de plantas em larga escala, com segurança fitossanitária e homogeneidade genética (CANHOTO, 2010).

O conjunto de fatores dentro do cultivo *in vitro*, como qualidade do explante, protocolos de assepsia, meios de cultivos, dentre outros, permitem a reprodução de plantas completas, visando manter um material livre de contaminantes, viável e vigoroso para sua adequada manipulação (CORREIA et al., 2011; CHACÓN-CERDAS et al., 2014).

A micropropagação do tamarillo pode ser realizada pela proliferação dos meristemas axilares. Devendo-se utilizar um meio de cultivo adequado que disponibilize os nutrientes necessários à espécie, bem como a adição de reguladores de crescimento, visando aperfeiçoar o processo de multiplicação da planta (REIS, 2013).

As citocininas fazem parte do grupo de hormônios frequentemente utilizados para a multiplicação *in vitro*. As citocininas são pertencentes a um grupo hormonal que tem por característica promover a divisão celular nos vegetais. A fonte de citocinina, assim como a sua concentração, são os fatores que mais influenciam no processo de desenvolvimento *in vitro* (CID, 2014). A citocinina 6 – benzilaminopurina (BAP), comercialmente disponível, tem sido muito eficaz para promover a multiplicação em diversas espécies, sendo utilizada em 60% dos meios de cultivo (CORDEIRO et al., 2004).

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do regulador de crescimento 6 – benzilaminopurina na multiplicação *in vitro* de *Cyphomandra betacea*.

Material e Métodos

O experimento foi conduzido no Laboratório de Propagação de Plantas Frutíferas, Departamento de Fitotecnia da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, da Universidade Federal de Pelotas, no Município de Capão do Leão, RS.

Os explantes deste experimento foram oriundos de material já estabelecido de tamarillo, e utilizaram-se como explantes segmentos caulinares com uma gema e o ápice excisado.

Os tratamentos foram constituídos de quatro concentrações de 6 – benzilaminopurina (BAP) (0,5; 1,0; 1,5; 2,0 mg.L⁻¹) e um fator controle, sem adição do regulador de crescimento.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com cinco repetições, sendo cada repetição constituída de um frasco com quatro explantes.

Os explantes foram inoculados em meio de cultura MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962), suplementado com 100 mg.L⁻¹ de mio-inositol, 30 g.L⁻¹ de sacarose, acrescidos ou não do regulador BAP, conforme os tratamentos. O pH do meio de cultivo foi ajustado para 5,8 antes da inclusão do ágar na concentração de 6 g.L⁻¹ e, posteriormente, autoclavado a 121°C e 1,5 atm por 20 minutos. Foram utilizados frascos de vidro com capacidade de 300 mL, com 30 mL de meio de cultura por frasco.

Os frascos foram fechados com papel alumínio e selados com filme de PVC transparente, e após a inoculação, os frascos permaneceram em sala de crescimento com temperatura constante de 25 ± 2°C e luminosidade artificial de lâmpadas fluorescentes brancas frias, com fotoperíodo de 16 horas e densidade de fluxo de fótons de 27 μmolm⁻²s⁻¹.

Aos 45 dias de cultivo, as variáveis analisadas foram número médio de folhas, número médio de brotações, comprimento médio das brotações (cm), número médio de raízes e comprimento médio da maior raiz (cm).

Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias dos tratamentos comparadas estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de significância.

Resultados e Discussão

As variáveis de número de folhas, brotações e comprimento de brotações não apresentaram diferença significativa entre as doses. Porém, observou-se um acréscimo no número médio de folhas e brotações quando utilizou-se a dose de 0,5 mg.L⁻¹ de BAP, mostrando-se não ser necessário o aumento das doses para estas variáveis.

Com relação ao comprimento médio das brotações (Tabela 1), quando não foi adicionado o regulador no meio de cultivo, observou-se um maior alongamento das hastes das plantas. Possivelmente devido ao explante não ter multiplicado suas

brotações, pois o BAP é uma citocinina associada à indução de brotações laterais nas plantas, sincronizando a ativação das gemas (PERES; KERBAUY, 2013).

Tabela 1: Número médio de folhas (NMF), número médio de brotações (NMB), comprimento médio da maior brotação (CMMB) em centímetros, número médio de raízes (NMR) e comprimento médio da maior raiz (CMMR) em centímetros, em plantas de tamarillo cultivadas in vitro sob diferentes doses de 6 – benzilaminopurina (mg.L^{-1}). UFPel, Pelotas-RS, 2017.

Doses de BAP (mg.L^{-1})	NMF	NMB	CMMB	NMR	CMMR
0,0	3,93 ^{*ns}	1,12 ^{*ns}	1,95 ^{*ns}	2,83 a	0,88 a
0,5	4,81	1,75	1,76	1,35 b	0,43 b
1,0	4,40	1,55	1,81	0,75 b	0,16 b
1,5	2,62	1,25	1,60	0,40 b	0,14 b
2,0	4,20	1,68	1,47	0,55 b	0,09 b

*Médias seguidas por letras minúsculas distintas, na coluna, diferem entre si pelo Teste Tukey a 5% de probabilidade. *ns (não significativo).

Os resultados mostraram que a adição de BAP no meio de cultivo, induz a uma redução da altura de planta mesmo na menor concentração avaliada ($0,5 \text{ mg.L}^{-1}$). Esta redução atingiu o valor de 25% no comprimento da planta quando comparada à maior dose utilizada ($2,0 \text{ mg.L}^{-1}$).

Estes resultados concordam com aqueles obtidos por Gatita e Almeida (2003) e Tavares (2009), que observaram maior altura de plantas de *C. betacea* regeneradas a partir de cotilédones e hipocótilos, em meio sem reguladores de crescimento. Para Canhoto et al. (2005) a dose de $0,5 \text{ mg.L}^{-1}$ de BAP obteve melhor resultado tanto para estabelecimento quanto para multiplicação desta espécie.

No que diz respeito ao enraizamento, a adição de BAP, independente da concentração, reduziu o desenvolvimento de raízes. Quando não se utilizou o regulador, verificou-se maiores médias para número médio de raízes e comprimento médio da maior raiz, diferindo estatisticamente das demais doses. Para estas variáveis, foi observada redução significativa entre o controle sem regulador e as concentrações de BAP utilizadas.

Resultados semelhantes foram encontrados por Copatti et al. (2016), trabalhando com tamarileiro in vitro, onde obtiveram maior comprimento de raízes quando não houve adição de reguladores ao meio de cultivo. A inibição do

enraizamento por parte das citocininas em cultivos in vitro tem sido evidenciada em um grande número de espécies vegetais (TORRES et al. 1998; GRATTAPAGLIA; MACHADO, 1998). Elevada taxa de enraizamento em *C. betacea*, mesmo em meios sem auxinas foi constatada por Gatita e Almeida (2003).

Conclusões

A dose de 0,5 mg.L⁻¹ de BAP favorece a formação de folhas e brotações de *Cyphomandra betacea* no cultivo in vitro da espécie.

A ausência de BAP no cultivo in vitro de *Cyphomandra betacea* promove o aumento no número e comprimento de raízes.

Agradecimentos

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos.

Referências

BOHS, L. Ethnobotany of the genus *Cyphomandra* (Solanaceae). **Economic Botany**, v.43, n. 2, p. 143-163, 1989.

CANHOTO, J.M. Biotecnologia Vegetal: da Clonagem de Plantas à Transformação Genética. **Imprensa da Universidade de Coimbra**. Coimbra, 2010.

CANHOTO, J.M.; LOPES, M.L.; CRUZ, G.S. Protocol for somatic embryogenesis: tamarillo (*Cyphomandra betacea* (Cav.) Sendt.). In: Jain, S. M.; Gupta, P. K. (Eds.) **Protocol for Somatic Embryogenesis in Woody plants**, Dordrecht, Springer. p. 379-389. 2005.

CHADON-CERDAS, R.; MORA, D.F.; ALVARADO-MARCHENA, L.; SCHIMIDT-DURAN, A.; ALVARADO-JULLOA, C. Cultivo *in vitro* del tomate de arbol (*Cyphomandra betacea* (Cav.) Sendt. (Fenotipo naranja) proveniente da Costa Rica. In: **Tecnologia em Marcha**. VI Encuentro de Investigacion y Extencion. p. 45-55. 2014.

CID, L.P.B. Editor Técnico. **Cultivo in vitro de plantas**. 3 ed. Brasília, DF, Embrapa, 2014, 325p.

COPATTI, A., LOY, F., CRUZ, J.G., DIAS, C.S., MELLO-FARIAS, P.C. Reguladores vegetais na propagação in vitro de Tamarileiro (*Solanum betaceum*). **Revista Congrega Urcamp**. v. 13, p. 89, 2016.

CORDEIRO, I.M.C.C.; LAMEIRA, O.A.; OHASHI, S.T.; ROSAL, L.F. Efeito de BAP sobre a proliferação de brotos in vitro de *Schizolobium amazonicum* Huber ex Ducke (Parica). **Cerne**, 2004.

CORREIA, S; LOPES, M.; CANHOTO, J. Somatic embryogenesis induction system for cloning an adult *Cyphomandra betacea* (Cav.) Sendt. (tamarillo). **Trees** 25:1009–1020, 2011.

GATITA, I.C.; ALMEIDA, J. Micropropagacion del tomate de arbol (*Cyphomandra betacea* (Cav.) Sendtn.), solanaceae silvestre usada en la alimentacion humana. **Rev. Forest. Venez.** 47:9-13, 2003.

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M.A. Micropropagação. In: Torres, A.C.; Caldas, L.S.; Buso, J.A. Cultura de tecidos e transformação genética de plantas. Brasília: **EMBRAPA/CBAB**, p. 183-260, 1998.

HEISER, C.; ANDERSON, G. "New" solanums. **Perspectives on new crops and new uses**. J. Janick (ed.) p. 379–384, 1999.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, v. 15, p. 473-497, 1962.

PERES, L.E.P.; KERBAUY, G.B. Citocininas. In: KERBAUY, G.B. (Ed.) **Fisiologia Vegetal**. 2ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, p. 213 – 234. 2013.

REIS, D.T.N. **Ensaio de poliploidização in vitro em vários explantes de tamarilho (*Cydomandra betacea* (Cav) Sendt)**. Dissertação (Mestrado) - Departamento de Ciência da Vida, Faculdade de Ciências e Tecnologia. Universidade de Coimbra/Pt, 2013.

TAVARES, V.L. **Cultura de tecidos e atividade antioxidante de *Cyphomandra betacea* (Cav.) Sendtn**. 2009. Dissertação (Mestrado) – Caxias do Sul, UCS/RS, 2009.

TORRES, A.C.; CALDAS, L.S.; BUSO, J.A. Cultura de tecidos e transformação genética de plantas. Vol. 1. **EMBRAPA- SPI**. Brasília, DF, 1998.