

MÉTODOS DE ASSEPSIA PARA ESTABELECIMENTO *in vitro* DE *Rubus* sp.

Jaqueline KIERDEIKA¹; Priscila P. BOTREL²; Jéssica A. BATISTA³; Nayara C. da PENHA; Olívia T. MARTINS

RESUMO

A amora preta selvagem é uma fruta de clima temperado que precisa de mais estudos para resolver problemas de manejo, homogeneidade e sanidade de mudas. Para realizar pesquisas um importante passo é seu estabelecimento *in vitro*. Assim sendo o presente trabalho teve como intuito verificar a melhor forma de assepsia de gemas para essa cultura. Foram conduzidos dois ensaios com protocolos diferentes. Após 15 dias de cultivo *in vitro* foram avaliados a porcentagem de sobrevivência dos explantes, oxidação e contaminação. Sugere-se para o estabelecimento *in vitro* de gemas de *Rubus* sp. realizar a imersão em água corrente por um período de 8 horas consecutivo, 1 minuto de imersão em álcool concentração 70° GL, e 20 minutos em agitação em solução de 1,75% de cloro ativo, promovendo menor contaminação fúngica e maior sobrevivência.

Palavras-chave: Amora preta; Cultura de tecidos; Propagação vegetativa; Estabelecimento.

1. INTRODUÇÃO

A produção de frutas temperadas no Brasil é insuficiente para suprir a demanda interna, gerando uma crescente necessidade de importação, questão que pode ser corrigida, pois em sua maioria, podem ser cultivadas em solo brasileiro (ANTUNES, 2002). Uma das mais promissoras entre elas é a blackberry, mais conhecida como amora preta. É considerada própria para pequenos produtores de regiões mais frias, considerando que ainda está sendo difundida, vem sendo muito bem aceita, com oferta baixa e alta demanda (DE BONA et al., 2015).

Amora selvagem, amora do mato, framboesa negra, blackberry ou simplesmente amora preta, são alguns dos nomes populares utilizados para se referir a cultura *Rubus* spp., uma frutinha negra que vem cada vez mais ganhando visibilidade no nosso país. São cerca de 700 variedades que

¹Estudante de Engenharia Agrônoma, IFSULDEMINAS – Campus Muzambinho. E-mail: jaqueline.kierdeika@gmail.com.

²Professora Orientadora, IFSULDEMINAS – Campus Muzambinho. E-mail: priscila.botrel@ifsuldeminas.edu.br.

³Laboratorista, Laboratório de Biotecnologia e Cultura de Tecidos Vegetal, IFSULDEMINAS – Campus Muzambinho. E-mail: jessikbio@hotmail.com.

⁴Estudante de Engenharia Agrônoma, IFSULDEMINAS – Campus Muzambinho. E-mail: nayara.clarete.p@gmail.com

⁵Estudante de Ciências Biológicas, IFSULDEMINAS – Campus Muzambinho. E-mail: olivia-martins93@hotmail.com.

vão desde arbustos rasteiros a plantas de porte ereto que chegam até a 2 metros de altura, com ou sem espinhos (DONADIO et al., 1998), cerca de 300 dessas variedades pertencem ao gênero *Rubus*. Algumas são apenas parecidas, não pertencem à mesma família e possuem cor e formato diferente entre si.

No ramo da fruticultura um dos principais problemas é o controle de doenças e produção de mudas homogêneas e de qualidade, neste cenário a cultura de tecidos entra como um método rápido e eficaz. A multiplicação controlada em meio nutritivo promove homogeneidade, gerando plantas geneticamente uniformes num espaço curto de tempo (SANTOS; RASEIRA, 1988 citado por VILLA et al., 2006).

Do ponto de vista de produção, a safra de amora-preta é concentrada em alguns meses do ano, especialmente de novembro a dezembro, e por ser uma fruta de baixa conservação pós-colheita, há uma concentração e oferta de produto no mercado. Produzir fora do pico de oferta de produtos no mercado torna-se, portanto, mecanismo-chave para a maior rentabilidade do produto ofertado e retorno para o produtor (ANTUNES, 2006). Neste sentido, justifica-se a realização deste trabalho, com objetivo de estabelecer *in vitro* gemas de amora-preta, visando obter mudas sadias, homogêneas e oferta do produto no mercado em todas as épocas do ano.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi conduzido no Setor de Biotecnologia: Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais, localizado no Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sul de Minas, Campus Muzambinho, MG.

O trabalho se concentrou na assepsia das gemas de *Rubus* sp. coletadas em campo preferencialmente no horário da manhã, e colocadas em sacos pretos para evitar luz. As plantas utilizadas são silvestres e não possuíam aplicação de qualquer defensivo agrícola. Os ramos coletados foram pré-higienizados e separados dos ramos mais velhos, sendo selecionadas gemas mais novas e homogêneas.

Após essa primeira seleção as gemas foram preparadas de acordo com os tratamentos. O primeiro ensaio consistiu em realizar uma lavagem rápida com água no material vegetal selecionado. Posteriormente as gemas foram colocadas em solução com 1,9% de cloro ativo e agitadas por 20 minutos, em março/2018.

No segundo ensaio as gemas ficaram imersas em água corrente por um período de 8 horas consecutivas, 1 minuto imersas em álcool concentração 70° GL, e 20 minutos em agitação em solução contendo 1,75% de cloro ativo, em maio/2018.

Após os tratamentos de assepsia, o material vegetal foi transportado à capela de fluxo laminar e lavado três vezes com água destilada e autoclavada. Posteriormente as gemas foram inoculadas em tubos contendo 10 mL de meio de cultura MS semi sólido (MURASHIGE; SKOOG, 1962), o qual terá o pH ajustado para +- 5,7 e solidificado com 8 g L⁻¹ de ágar e autoclavado a 1,6 atm por 20 minutos.

Após a inoculação, os explantes permaneceram em BOD com fotoperíodo de 16 horas, e temperatura de 25 °C por trinta dias. As avaliações foram realizadas por um período médio de 15 dias, contabilizando-se as porcentagens de sobrevivência dos explantes, oxidação e contaminação. A mensuração da oxidação foi realizada de acordo com a observação dos explantes que apresentavam escurecimento no meio de cultura.

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

A média de sobrevivência das gemas de amora preta foi de 42% no 2º ensaio e 0 % no 1º ensaio.

Observa-se na Figura 1, que no 2º ensaio houve menor porcentagem de contaminação fúngica em gemas de amora preta (26%), comparado ao primeiro ensaio (94%). Este resultado pode ser explicado devido á imersão das gemas em álcool no momento da assepsia, contribuindo para maior sobrevivência dos explantes.

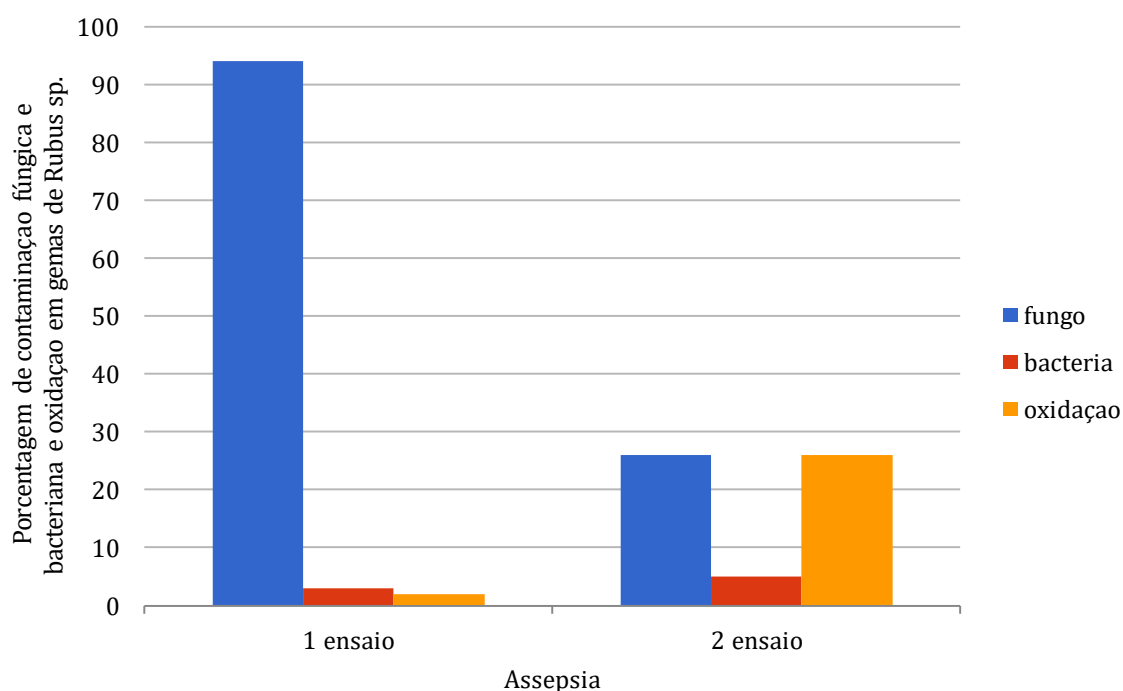


Figura 1. Porcentagens de contaminação fúngica, bacteriana e oxidação em explantes de amora preta cultivadas em diferentes tratamentos de assepsia. Muzambinho, MG, 2018.

O etanol é o desinfestante mais empregado (HIRATA; MANCINI-FILHO, 2002). Além da sua ação germicida, ele tem ação surfactante e facilita a ação de outros produtos sendo utilizado em concentrações de 70 a 80%. O hipoclorito de sódio tem sua ação bactericida devido ao ácido hipocloroso (HOCl) e ao íon OCl^- . A sua atividade está relacionada à sua capacidade oxidante (GEORGE, 1993). Para a espécie em estudo a utilização do etanol aliada ao hipoclorito de sódio no protocolo de assepsia, proporcionou maior eficiência. No 1º ensaio observou-se menor porcentagem de oxidação (Figura 1), provavelmente pelo fato dos explantes terem contaminado de forma imediata, impossibilitando a avaliação da porcentagem de oxidação.

4. CONCLUSÕES

Sugere-se para o estabelecimento *in vitro* de gemas de *Rubus* sp. realizar a imersão em água corrente por um período de 8 horas consecutivo, 1 minuto de imersão em álcool 70° GL, e 20 minutos em agitação em solução de 1,75% de cloro ativo, promovendo menor contaminação fúngica e maior sobrevivência.

AGRADECIMENTOS

Ao IFSULDEMINAS, Campus Muzambinho.

REFERÊNCIAS

ANTUNES, L. E. C. Amora-preta: nova opção de cultivo no Brasil. **Ciência Rural**, v. 32, n.1, p. 151-158, Santa Maria- RS, 2002.

ANTUNES, L. E. C. Amora-preta (*Rubus* spp.). **Revista Brasileira de Fruticultura [online]**, v. 28, n. 3, 2006.

DE BONA, C. et al. **Amora-preta é boa opção para agricultor familiar em regiões frias do País**. Sociedade Nacional de Agricultura. 2015. Disponível em: <<http://www.sna.agr.br/amora-preta-e-boia-opcao-para-agricultor-familiar-em-regioes-friasdo-pais/>>. Acesso em: 10 ago. 2018.

DONADIO, L.C et al. **Amora-preta**: Ficha técnica.1998. Ed. 2016. Disponível em:<<http://www.todafruta.com.br/amora-preta/>>. Acesso em: 10 ago. 2018.

GEORGE, E. F. **Plant propagation by tissue culture**. 2. ed. Edington: Exegetics, 1993. 2v.

HIRATA, M.H.; MANCINI-FILHO, J. **Manual de biossegurança**. Barueri: Editora Manole. 496p. 2002.

VILLA, F. et al. Multiplicação *in vitro* de amoreira-preta cultivar Brazos. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 30, n. 2, p. 266-270, mar./abr., 2006.