

## **MEIOS DE CULTURA PARA MICROPROPAGAÇÃO *IN VITRO* DE BATATA**

**EDSON PEREZ GUERRA**<sup>1\*</sup>, ANTONIO CARLOS FREITAS DE CAMPOS<sup>2</sup>, FRANCELISE APARECIDA PIRAN<sup>3</sup>, JACKSON KAWAKAMI<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Dr. em Agronomia, Prof. Adjunto, UNICENTRO, Guarapuava-PR, epguerra@unicentro.br;

<sup>2</sup>Engenheiro Agrônomo, pela UNICENTRO, Guarapuava-PR, acfcampos@gmail.com

<sup>3</sup>Graduanda em Biologia, UNICENTRO, Guarapuava-PR, lisepiran@hotmail.com

<sup>4</sup>PhD. em Agronomia, Prof. Adjunto, UNICENTRO, Guarapuava-PR, jkawkami@unicentro.br

Apresentado no  
Congresso Técnico Científico da Engenharia e da Agronomia – CONTECC'2017  
8 a 11 de agosto de 2017 – Belém-PA, Brasil

**RESUMO:** O experimento teve por objetivo, verificar o menor intervalo de tempo para ocorrer a regeneração de plantas de batata *in vitro*, reduzindo-se custos na multiplicação de plantas para produção de tubérculos de batata semente. Foi realizado no Laboratório de Bioenergia e Micropropagação da Universidade Estadual do Centro-Oeste, de Guarapuava, Paraná. Avaliou-se o crescimento de plantas *in vitro* para atingir a altura desejada, de 8 a 10 cm, para aclimatização e cultivo em casa de vegetação. Foram preparados meios de cultura MS com diferentes dosagens de fitohormônios auxina AIA e citocinina BAP, com e sem a adição de água de coco. O delineamento utilizado foi em blocos casualizados em esquema fatorial. Os tratamentos foram quatro dosagens de AIA, duas de BAP e três partes de corte da haste, base, meio e ápice caulinar das plantas, em três repetições. As dosagens que apresentaram o crescimento esperado em menos tempo, foram as que continham o maior teor de AIA, de 0,02 mg L<sup>-1</sup>, variando entre as duas de BAP de 0,5 e 1,0 mg L<sup>-1</sup> e utilizando as partes de corte de haste mediana ou apical da planta, tanto em meios de cultura sem adição ou com água de coco.

**PALAVRAS-CHAVE:** *Solanum tuberosum*, cultura de tecidos, aclimatização.

## **CULTURE MEDIUM FOR *IN VITRO* MICROPROPAGATION OF POTATO**

**ABSTRACT:** The aim of this experiment was to verify the shortest time interval for regeneration of potato plants *in vitro*, reducing costs in plant multiplication for the production of seed potato tubers. It was carried out in the Bioenergy and Micropropagation Laboratory of Universidade Estadual do Centro-Oeste in Guarapuava, Paraná. The growth of plants *in vitro* was evaluated to reach the desired height, from 8 to 10 cm, for acclimatization and cultivation under greenhouse conditions. MS culture medium was prepared with different dosages of AIA auxin and BAP cytokinin phytohormones, with and without the addition of coconut water. The experimental was in randomized complete block design. The treatments were four doses of AIA, two of BAP and three parts of stem cutting, base, middle and stem apexes of the plants, in three replicates. The dosages that presented the expected growth in less time were those containing the highest AIA content, of 0.02 mg L<sup>-1</sup>, ranging between the two of BAP of 0.5 and 1.0 mg L<sup>-1</sup> and using stem cutting middle or the apexes of the plant, either in culture medium without or with coconut water addition.

**KEYWORDS:** *Solanum tuberosum*, tissue culture, acclimatization.

## **INTRODUÇÃO**

A cultura da batata (*Solanum tuberosum* L.) é a terceira cultura mais importante como fonte alimentar mundial, após trigo e arroz, com produção em 2014 de 381,6 M t (FAO, 2017). A produção nacional foi de 3,95 Mt em 2015 em três safras de cultivo, em 132,3 mil ha, com rendimento médio de 29,8 mil kg ha<sup>-1</sup> (IBGE, 2017).

A cultura é propagada vegetativamente e tubérculos infectados favorecem a disseminação de doenças, principalmente viroses, com degenerescência precoce, perda de qualidade e produtividade (Souza-Dias, 2004; Hirano, 2003). Utilizam-se técnicas de plantio em ambientes protegidos e fixação de genótipos selecionados por propagação vegetativa dos tubérculos-sementes (Pereira et al, 2016). A hidroponia é um método de cultivo sem solo, com redução da contaminação da batata-semente por patógenos, em sistema fechado ou recirculante com solução nutritiva (Silva Filho, 2015).

A cultura de tecidos vegetais envolve técnicas de cultivo em meio nutritivo, em condições assépticas, a partir de células, tecidos ou órgãos de plantas, sob condições controladas de luminosidade, fotoperíodo, temperatura, e outros fatores (Torres; Caldas, 1990). O cultivo de meristema *in vitro* é técnica de regeneração por micropropagação, com obtenção de plantas livres de vírus (Mantell et al., 1994). O cultivo *in vitro* de batata deve ser otimizado e a consistência do meio de cultura influencia na velocidade de multiplicação de brotações (Pereira; Fortes, 2004). O uso de reguladores de crescimento otimiza o crescimento e desenvolvimento de plantas *in vitro*. Os grupos mais usados e suas ações são: auxinas, que induzem alongamento celular e diferenciação de raízes; citocininas: divisão celular, quebra de dominância apical, gemas axilares e adventícias; giberelinas: crescimento de órgãos caule raízes, desenvolvimento de embriões somáticos e florescimento (Quisen; Ângelo, 2008).

As plantas conduzidas assepticamente *in vitro* são micropropagadas e as plântulas obtidas são aclimatizadas em casas de vegetação, com condições apropriadas para produção de mini-tubérculos por sistema de hidroponia em vasos ou aeroponia. O experimento teve por objetivo, verificar o menor intervalo de tempo para ocorrer a regeneração de plantas de batata micropropagadas *in vitro*.

## MATERIAIS E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Bioenergia e Micropropagação, no Ambiotec, da Universidade Estadual do Centro-Oeste, em Guarapuava, PR, de janeiro a março de 2016.

Foram utilizadas plantas da cultivar Atlantic, já isoladas e micropropagadas *in vitro* em meio de cultura de sais MS, em sala de crescimento a 26 °C, fotoperíodo de 16 horas, com 8 a 10 cm de comprimento. Avaliou-se o crescimento de plantas para atingir a altura desejada, de 8 a 10 cm, para as etapas seguintes de aclimatização, transferência e cultivo em casa de vegetação. O delineamento experimental foi em blocos casualizados em esquema fatorial 4 x 2 x 3. Os tratamentos foram quatro dosagens de auxina AIA- ácido indol acético, duas dosagens de BAP- 6-Benzilaminopurina e três partes de corte da haste, base, mediano e apical das plantas de batata, em três repetições. As mesmas combinações foram repetidas na presença de água de coco, totalizando 48 tratamentos (Tabela 1).

Tabela 1. Tratamentos utilizados no meio de cultura MS para micropropagação *in vitro* de batata. Guarapuava, Paraná.

Trat	AIA	BAP	Corte	Coco	R	Trat	AIA	BAP	Corte	Coco	R
1			Basal	A/P	3	13			Basal	A/P	3
2		0,5	Mediano	A/P	3	14		0,5	Mediano	A/P	3
3	0,005		Apical	A/P	3	15	0,015		Apical	A/P	3
4			Basal	A/P	3	16			Basal	A/P	3
5		1,0	Mediano	A/P	3	17		1,0	Mediano	A/P	3
6			Apical	A/P	3	18			Apical	A/P	3
7			Basal	A/P	3	19			Basal	A/P	3
8		0,5	Mediano	A/P	3	20		0,5	Mediano	A/P	3
9	0,01		Apical	A/P	3	21	0,02		Apical	A/P	3
10			Basal	A/P	3	22			Basal	A/P	3
11		1,0	Mediano	A/P	3	23		1,0	Mediano	A/P	3
12			Apical	A/P	3	24			Apical	A/P	3

Trat- Tratamento; AIA- Ácido Indol Acético ( $\text{mg L}^{-1}$ ); BAP- 6-Benzilaminopurina ( $\text{mg L}^{-1}$ ); BMA- corte basal, mediano e apical da planta *in vitro*; A/P- Ausência ou Presença de água de coco ( $100 \text{ ml L}^{-1}$ ) no meio MS; R - repetições

As dosagens foram definidas para o experimento após a realização de teste inicial com dosagens maiores para verificar o crescimento vegetativo de plantas de batata. A melhor dosagem observada foi de 0,01 mg L<sup>-1</sup> de AIA e 100 ml L<sup>-1</sup> de água de coco adicionado ao meio MS e posterior aclimatização e cultivo na próxima fase em casa de vegetação.

Após o corte das plantas em câmara de fluxo laminar e distribuição dos explantes em frascos, foram realizadas as avaliações a cada sete dias, até os 28 dias de cultivo na sala de crescimento.

Os dados foram submetidos à análise de variância e comparação de médias dos tratamentos pelo teste Tukey, utilizando-se o programa computacional Genes (Cruz, 2013).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foi avaliada a altura de plantas de batata micropropagadas *in vitro* (Figura 1) e feitas análises de variância (Tabela 2) e comparação de médias.

Figura 1. Amostra de frascos de batata *in vitro* cultivar Atlantic em meio de cultura com diferentes dosagens de fitoreguladores, em fase inicial de crescimento.

Fonte: Campos (2016).

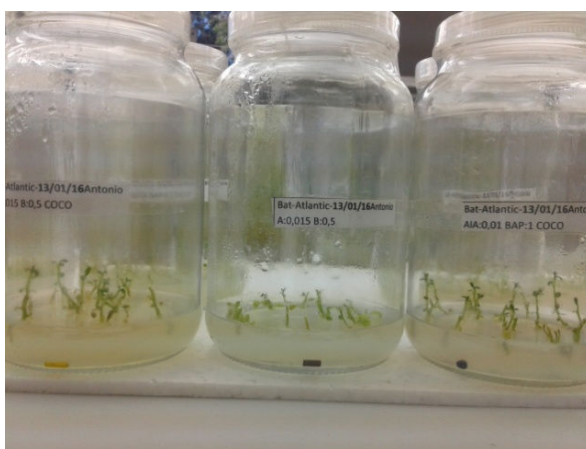


Tabela 2. Análise de variância de altura de plantas de batata Atlantic cultivadas *in vitro*, em Guarapuava, Paraná.

Fonte de variação	GL	Quadrado médio	
		Sem água de coco	Com água de coco
(Bloco/BAP)/AIA	16	0,1658	0,2207
BMA	2	123,5018 **	149,2601 **
AIA	2	0,7311 ns	3,9798 ns
BAP	3	3,645 ns	1,4735 ns
BMA x AIA	1	0,8562 ns	1,3681 **
BMA x BAP	6	4,1654 ns	0,6193 ns
AIA x BAP	2	1,0153 **	0,5601 ns
BMA x AIA x BAP	3	1,6402 **	0,1739 **
Resíduo	32	0,016875	0,027572
Média (cm)		5,11	5,55
C.V. (%)		2,54	2,99

\*\* significativo pelo teste F a 1% de probabilidade; <sup>ns</sup> - não significativo; AIA- Ácido Indol Acético; BAP- 6-Belzilaminopurina; BMA- corte basal, mediano e apical da planta *in vitro*; C.V. (%) - coeficiente de variação.

A análise de variância indicou diferenças significativas para o tratamento de corte de hastes das plantas base, meio e ápice, em meio MS acrescido ou não da água de coco (Tabela 2). Houve interação entre o corte de hastes BMA e a auxina AIA em meio com água de coco; interação entre AIA e BAP em meio sem água de coco; e interação entre BMA x AIA x BAP em meio com e sem água de coco.

Os coeficientes de variação observados foram baixos, indicando boa precisão experimental. As médias das interações com testes de comparação são apresentados na tabela 3, sem uso de água de coco e na tabela 4, com adição de água de coco.

Tabela 3. Médias de comprimento de haste (CH) de batata *in vitro*, em diferentes doses de AIA, BAP e origem do corte das plantas, em meio de cultura MS sem uso de água de coco. Guarapuava, 2016.

BMA x AIA x BAP						AIA x BAP	
Trat	CH	Trat	CH	Trat	CH	Trat	CH
A <sub>1</sub> B <sub>1</sub> Ba	0,5 l <sup>1/</sup>	A <sub>2</sub> B <sub>1</sub> Ap	5,2 g <sup>1/</sup>	A <sub>3</sub> B <sub>2</sub> Me	7,4 bc <sup>1/</sup>	A <sub>1</sub> B <sub>2</sub>	5,7 a <sup>2/</sup>
A <sub>1</sub> B <sub>1</sub> Me	3,9 I	A <sub>2</sub> B <sub>2</sub> Ba	5,0 gh	A <sub>3</sub> B <sub>2</sub> Ap	6,9 de	A <sub>3</sub> B <sub>2</sub>	5,4 ab
A <sub>1</sub> B <sub>1</sub> Ap	2,4 k	A <sub>2</sub> B <sub>2</sub> Me	4,7 h	A <sub>4</sub> B <sub>1</sub> Ba	7,5 ab	A <sub>1</sub> B <sub>2</sub>	5,3 b
A <sub>1</sub> B <sub>2</sub> Ba	3,7 ij	A <sub>2</sub> B <sub>2</sub> Ap	6,0 f	A <sub>4</sub> B <sub>1</sub> Me	7,3 bcd	A <sub>4</sub> B <sub>1</sub>	5,2 bc
A <sub>1</sub> B <sub>2</sub> Me	2,6 k	A <sub>3</sub> B <sub>1</sub> Ba	6,1 f	A <sub>4</sub> B <sub>1</sub> Ap	6,7 e	A <sub>3</sub> B <sub>1</sub>	5,1 bc
A <sub>1</sub> B <sub>2</sub> Ap	2,7 k	A <sub>3</sub> B <sub>1</sub> Me	5,9 f	A <sub>4</sub> B <sub>2</sub> Ba	7,3 bcd	A <sub>4</sub> B <sub>2</sub>	5,1 bc
A <sub>2</sub> B <sub>1</sub> Ba	2,6 k	A <sub>3</sub> B <sub>1</sub> Ap	5,1 gh	A <sub>4</sub> B <sub>2</sub> Me	7,9 a	A <sub>2</sub> B <sub>1</sub>	4,9 c
A <sub>2</sub> B <sub>1</sub> Me	3,4 J	A <sub>3</sub> B <sub>2</sub> Ba	4,9 gh	A <sub>4</sub> B <sub>2</sub> Ap	7,0 cde	A <sub>1</sub> B <sub>1</sub>	4,4 d
q=	5,6075						4,5800
DMS=	0,4205						0,3435

<sup>1/</sup>Médias seguidas da mesma letra nas três colunas ou <sup>2/</sup> na última coluna, não diferem significativamente pelo teste Tukey, a 5% de probabilidade. A<sub>1</sub>= 0,005; A<sub>2</sub>= 0,01; A<sub>3</sub>= 0,015 e A<sub>4</sub>= 0,02 (mg L<sup>-1</sup> AIA); B<sub>1</sub>= 0,5 e B<sub>2</sub>= 1,0 (mg L<sup>-1</sup> BAP); BMA- corte basal, mediano e apical da planta *in vitro*; Ba= Base; Me= Mediano; Ap= Apical.

Tabela 4. Médias de comprimento de haste (CH) de batata *in vitro*, em diferentes doses de AIA, BAP e origem do corte das plantas, em meio de cultura MS com adição de água de coco. Guarapuava, 2016.

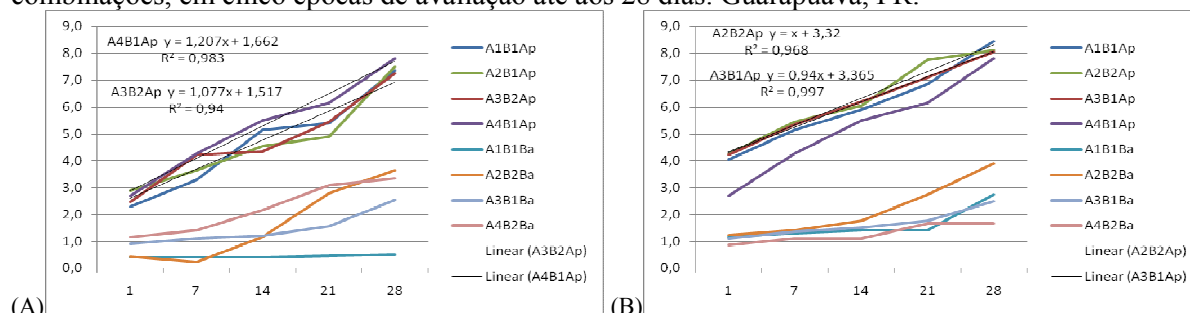
BMA x AIA x BAP				BMA x AIA	
Trat	CH	Trat	CH	Trat	CH
A <sub>1</sub> B <sub>1</sub> Ba	2,8 k <sup>1/</sup>	A <sub>3</sub> B <sub>1</sub> Ba	5,6 gh	A <sub>1</sub> Ba	2,5 h <sup>2/</sup>
A <sub>1</sub> B <sub>1</sub> Me	2,3 k	A <sub>3</sub> B <sub>1</sub> Me	5,7 g	A <sub>1</sub> Me	3,9 f
A <sub>1</sub> B <sub>1</sub> Ap	3,9 j	A <sub>3</sub> B <sub>1</sub> Ap	5,1 hi	A <sub>1</sub> Ap	3,1 g
A <sub>1</sub> B <sub>2</sub> Ba	3,9 j	A <sub>3</sub> B <sub>2</sub> Ba	5,0 i	A <sub>2</sub> Ba	2,2 h
A <sub>1</sub> B <sub>2</sub> Me	3,7 j	A <sub>3</sub> B <sub>2</sub> Me	8,5 a	A <sub>2</sub> Me	6,5 c
A <sub>1</sub> B <sub>2</sub> Ap	2,5 k	A <sub>3</sub> B <sub>2</sub> Ap	8,5 a	A <sub>2</sub> Ap	6,1 cd
A <sub>2</sub> B <sub>1</sub> Ba	2,6 k	A <sub>4</sub> B <sub>1</sub> Ba	7,5 de	A <sub>3</sub> Ba	5,7 d
A <sub>2</sub> B <sub>1</sub> Me	1,7 l	A <sub>4</sub> B <sub>1</sub> Me	8,1 abc	A <sub>3</sub> Me	5,1 e
A <sub>2</sub> B <sub>1</sub> Ap	6,5 f	A <sub>4</sub> B <sub>1</sub> Ap	8,1 ab	A <sub>3</sub> Ap	8,5 a
A <sub>2</sub> B <sub>2</sub> Ba	6,4 f	A <sub>4</sub> B <sub>2</sub> Ba	7,7 cde	A <sub>4</sub> Ba	7,8 b
A <sub>2</sub> B <sub>2</sub> Me	6,1 f	A <sub>4</sub> B <sub>2</sub> Me	7,8 bcd	A <sub>4</sub> Me	7,9 b
A <sub>2</sub> B <sub>2</sub> Ap	6,0 fg	A <sub>4</sub> B <sub>2</sub> Ap	7,1 e	A <sub>4</sub> Ap	7,4 b
q=	5,6075				4,9750
DMS=	0,5376				0,4769

<sup>1/</sup>Médias seguidas da mesma letra nas três colunas ou <sup>2/</sup> na última coluna, não diferem significativamente pelo teste Tukey, a 5% de probabilidade. A<sub>1</sub>= 0,005; A<sub>2</sub>= 0,01; A<sub>3</sub>= 0,015 e A<sub>4</sub>= 0,02 (mg L<sup>-1</sup> AIA); B<sub>1</sub>= 0,5 e B<sub>2</sub>= 1,0 (mg L<sup>-1</sup> BAP); BMA- corte basal, mediano e apical da planta *in vitro*; Ba= Base; Me= Mediano; Ap= Apical.

As melhores combinações das dosagens em meio MS, sem adição de água de coco, foram observadas nos tratamentos com as maiores doses de AIA: A<sub>4</sub>B<sub>2</sub>Me com 7,9 cm e A<sub>4</sub>B<sub>1</sub>Ba com 7,5 cm aos 28 dias.

No meio com adição de água de coco, as melhores combinações foram também com as maiores doses de AIA e as partes superiores da plantas: A<sub>4</sub>B<sub>2</sub>Me e A<sub>3</sub>B<sub>2</sub>Ap, com 8,5 cm, e A<sub>4</sub>B<sub>1</sub>Me e A<sub>4</sub>B<sub>1</sub>Ap com 8,1 cm aos 28 dias.

Figura 2. Curvas de tendência das dosagens em meios de cultura de AIA (A1 a A4) e BAP (B1 e B2) e dos cortes da haste Basal, Mediano (não apresentado) e Apical de plantas de batata *in vitro*, sem adição (2A) e com adição de água de coco (2B), destacando-se duas equações das melhores combinações, em cinco épocas de avaliação até aos 28 dias. Guarapuava, PR.



## CONCLUSÕES

As melhores dosagens de fitoreguladores observadas, entre as combinações testadas, que apresentaram o crescimento esperado em menos tempo, foram as que continham o maior teor de AIA, de  $0,02 \text{ mg L}^{-1}$ , variando com as dosagens de BAP, utilizando as partes de corte de haste mediana ou apical da planta e na presença de água de coco. As plantas que menos responderam em altura no período avaliado foram as de menor dosagem de AIA principalmente, tanto em meios de cultura sem adição quanto nos meios com adição de água de coco.

## REFERÊNCIAS

- Cruz, C. D. Genes – a software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. *Acta Scientiarum*, Maringá, v.35, n.3, p. 271-276, 2013.
- FAO. Food and Agriculture Organization. Production of commodity in selected country 2010 – 2014. Disponível em <<http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC/visualize>>. Acesso em 15 abr. 2017.
- Hirano, E. Batata-semente básica, registrada e certificada. In: Pereira, A. S.; Daniels, J. O cultivo da batata na região sul do Brasil. Brasília: EMBRAPA, p.475-494, 2003.
- IBGE. 2017. Indicadores IBGE: Estatística da produção agrícola- março de 2017. Disponível em: <[ftp://ftp.ibge.gov.br/Producao\\_Agricola/Fasciculo\\_Indicadores\\_IBGE/estProdAgr\\_201703.pdf](ftp://ftp.ibge.gov.br/Producao_Agricola/Fasciculo_Indicadores_IBGE/estProdAgr_201703.pdf)>. Acesso em 25 abr. 2017.
- Mantell, S. H.; Matheus, J. A.; McKee, R. A. Princípios de biotecnologia em plantas – uma introdução à engenharia genética em plantas. Ribeirão Preto, Sociedade Brasileira de Genética. 1994, 344 p.
- Pereira, J. E. S.; Fortes, G. R. I. Organogênese de ápices meristemáticos de batata em meios de isolamento e multiplicação *in vitro*. *Horticultura Brasileira*, Brasília. v. 22, n. 2, p.197-201, 2004.
- Pereira, A. da S.; Silva, G. O.; Castro, C. M. Melhoramento da batata. In: Nick, C.; Borém, A. (eds.). Melhoramento de hortaliças. Viçosa, MG: Editora UFV, 2016. p. 128-157.
- Quisen, R. C.; Ângelo, P. C. da S. Manual de procedimentos do Laboratório de Cultura de Tecidos da Embrapa Amazônia Ocidental. Embrapa Amazônia Ocidental, 2008, Documento 61, 44 p.
- Silva Filho, J. B. Desenvolvimento e otimização de sistemas aeropônico para a produção de minitubérculos de batata-semente. 2015. 103 p. Tese (Doutorado/Fitotecnia) Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.
- Souza-Dias, J. A. C. de. Tecnologia de produção de minitubérculos de batata semente, pré-básica, através do plantio de brotos livres de vírus. *Batata Show*, Itapetininga, v. 4, n. 9, p. 2-5, 2004.
- Torres, A. C.; Caldas, L. S.; Buzzo, J. A. Cultura de tecidos e transformação genética de plantas. v. 1 e 2. Brasília, Embrapa, 1998. 864 p.