

UNIDADES ENCAPSULÁVEIS DE GEMAS DE *Solanum calvescens* (SOLANACEAE)

MARISA TANIGUCHI SARTO¹; ATHOS ODIN SEVERO DORNELES²; TALES
BASÍLIO DA SILVA³; JULIANA APARECIDA FERNANDO⁴; GUSTAVO HEIDEN⁵;
LEONARDO FERREIRA DUTRA⁶

¹Universidade Federal de Pelotas – marisataniguchi@yahoo.com.br

²Universidade Federal de Pelotas – athos_odin@hotmail.com;

³Universidade Federal de Pelotas – juli_fernando@yahoo.com.br;

⁴Universidade Federal de Pelotas – talesbs28@gmail.com

⁵Embrapa Clima Temperado – gustavo.heiden@embrapa.br

⁶Embrapa Clima Temperado – leonardo.dutra@embrapa.br

1. INTRODUÇÃO

Atualmente, o aumento do consumo da batata, principalmente em países em desenvolvimento (CIP, 2013), ampliou a busca por espécies que apresentem potencial para adaptação às diferentes condições climáticas, especificamente calor e seca. Considerando a vasta gama de habitats e potencial para tolerar diferentes condições de estresses ambientais (WATANABE et al., 2011), há necessidade de maior inclusão de espécies silvestres nos programas de melhoramento da batata. No Brasil, *Solanum calvescens* Bitter destaca-se por apresentar características de tolerância a estresses bióticos e abióticos. No entanto, essa espécie possui má formação das anteras, as quais são estéreis e não produzem pólen, dificultando o autocruzamento e seu uso como genitora masculina (KLASEN; CASTRO; HEIDEN, 2017). Além disso, não há estudos relacionados ao armazenamento, conservação em curto prazo ou para o melhoramento genético dessa espécie (MOLIN et al., 2016).

Dessa forma, a conservação de germoplasma de espécies nativas tem sido usada para preservar a variabilidade genética e permitir o estudo de suas propriedades em ambiente controlado, como a cultura in vitro (BERTONI et al., 2010). Nesse contexto, a produção de unidades encapsuláveis se destaca como importante técnica para conservação in vitro de várias espécies. Essa tecnologia permite a manutenção da identidade genética do material vegetal e a rápida multiplicação dos propágulos, facilitando a troca de germoplasma entre instituições de pesquisa e a conservação de genótipos desejáveis a baixos custos (NASSAR, 2003; PEREIRA et al., 2008).

Ressalta-se que a técnica para encapsular gemas visa proteger espécies silvestres de processos de extinção que ocorrem, principalmente, devido à destruição dos seus habitats e comunidades naturais, pela ocupação desordenada de grandes áreas e por práticas agrícolas (GOEDERT, 2007). Estes fatores comprometem a potencialidade e a preservação de várias espécies relevantes, como *Solanum calvescens*. Frente a isso, o objetivo desse trabalho é estabelecer um protocolo de síntese de unidades encapsuláveis de *Solanum calvescens*.

2. METODOLOGIA

O experimento foi realizado no Laboratório de Cultura de Tecidos da Embrapa Clima Temperado. Gemas axilares com aproximadamente 2 mm, foram isoladas de plântulas de batata silvestre cultivadas in vitro e adicionadas à matriz

de alginato de sódio 4% (w/v). A composição da matriz de encapsulamento foi constituída por alginato de sódio, dissolvida em água destilada (T1), MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962) (T2), MS - 50% dos sais minerais (T3), MS - 50% sais minerais + ácido giberélico ($0,5 \mu\text{M L}^{-1}$) (T4), MS + ácido giberélico ($0,5 \mu\text{M L}^{-1}$) (T5). Todos os tratamentos foram acrescidos de sacarose ($20,0 \text{ g L}^{-1}$), inositol ($0,1 \text{ g L}^{-1}$) e PVP - polivinilpirrolidona ($1,0 \text{ g L}^{-1}$). Em seguida, as gemas foram resgatadas individualmente e gotejadas em solução de cloreto de cálcio (100 mM) por 20 minutos para complexação. Posteriormente, foram imersas em água destilada e autoclavada para retirada do excesso de cloreto de cálcio e descomplexadas em solução de nitrato de potássio (100 mM) por 15 minutos.

As unidades encapsuláveis foram então inoculadas em meio de cultivo MS, mantidas na ausência de luz por uma semana e sob fotoperíodo de 16 horas de luz, irradiância de $36 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ e temperatura de $25 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$, durante 30 dias.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com cinco repetições, compostas por um frasco, contendo cinco unidades encapsuláveis cada um. As variáveis analisadas foram porcentagem de emergência de unidades encapsuláveis, média do número de plântulas enraizadas e a média do número de folhas. Os dados foram submetidos à análise de variância, e as médias, comparadas pelo teste de Tukey, a 5% de significância utilizando-se o software estatístico SISVAR® (FERREIRA, 2014).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Maior percentual de emergência de unidades encapsuláveis (52%) foi obtida quando a matriz de encapsulamento foi constituída somente de água. No entanto, não houve diferença significativa em relação aos tratamentos em que a matriz foi composta de meio MS 50 e 100%, acrescido ou não de GA3, embora tenha havido tendência de redução no percentual de emergência (Tabela 1). Verificou-se o maior número de folhas também quando a matriz de encapsulamento foi composta somente por água. Já, para a formação de raízes não houve diferença significativa entre os tratamentos.

Tabela 1. Emergência de unidades encapsuláveis, número de folhas (NF) e número de raízes (NR) submetidas a diferentes composições da matriz de alginato. Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS, 2018.

Composição da unidade encapsulável	Emergência de unidades encapsuláveis (%)	NF	NR
Água	52 a	4,0 a	0,6 ns*
MS 100%	36 ab	2,6 b	0,6
MS 50%	36 ab	2,6 b	0,8
MS 50% + GA3	36 ab	2,4 bc	0,8
MS 100% + GA3	16 b	1,2 c	0,0
CV (%)	32,14	25,32	79,86

C.V. (%) Coeficiente de Variação. Médias seguidas por letras distintas diferem entre si pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.*ns (não significativo).

Um dos fatores considerados limitantes para o uso das unidades encapsuláveis, é a conversão das mesmas em plantas (ADRIANI et al., 2000).

Sabe-se que uma das formas de estimular o crescimento de brotações é por meio da adição de ácido Giberélico (GA3) ao meio nutritivo, o qual promove o aumento do comprimento das brotações, pelo estímulo da divisão e alongamento das células. Nesse trabalho a presença de GA3 no meio de cultura não produziu efeito benéfico à porcentagem da emergência das unidades encapsuláveis. No entanto, a eficiência da aplicação de GA3 pode depender do estágio de desenvolvimento, da dose, da idade ou condição biológica geral da planta (VICHATO et al., 2007; YAMAGUCHI, 2008).

Fiegert et. al., (2000) obtiveram regeneração de 80% das unidades encapsuláveis de batata em meio MS sólido, diferindo dos resultados observados nesse trabalho. O meio MS é rico em macro e micronutrientes, além de vitaminas (DEZAN et al., 2012), mas cada espécie possui exigências nutricionais específicas, independente do potencial de acúmulo de nutrientes. O suprimento inadequado de um elemento essencial (excesso ou deficiência) resulta em prejuízos para o desenvolvimento vegetal, que pode ocorrer no cultivo em campo como *in vitro* (SOARES et al., 2010).

De acordo com os resultados obtidos, observou-se influência negativa dos sais minerais na composição das unidades encapsuláveis de *S. calvescens*. O melhor resultado obtido no tratamento composto apenas por água, sacarose e alginato de sódio, pode indicar que possivelmente, a presença de sais minerais no meio de cultivo interferiu negativamente em seu potencial osmótico.

4. CONCLUSÕES

A melhor composição da cápsula de alginato para formação de unidades encapsuláveis de *S. calvescens* é água, sacarose e alginato de sódio.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADRIANI, M.; PICCIONI, E.; STANDARD, A. Effect of different treatments on the conversion of 'Hayward' kiwifruit synthetic seeds to whole plants following encapsulation of *in vitro*-derived buds. **Journal of Crop and Horticultural Science**, v. 28, p. 59-67, 2000.

BERTONI, B.W.; SOUZA, A.V.; BIONDO, R.; FRANÇA, S.C.; TELLES, M.P.C.; PEREIRA, A.M.S. Genetic diversity among natural populations of *Mandevilla velutina*. **Horticultura Brasileira**, v. 28, p. 209-213. 2010.

DAL MOLIN, Luís Henrique. **Parentes silvestres da batata: áreas prioritárias para coleta no Brasil e variabilidade do germoplasma**. 2017. 75f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Agronomia. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

DEZAN, L. F.; CANASSA, F.; SOUZA-LEAL, T.; DIOGO, J. A.; MASSARO, R.; CORDEIRO, G. M.; MORAES, C.P.. Crescimento *in vitro* de *Schomburgkia gloriosa* Lindl. em meio de cultivo simplificados. **IDESIA** (Chile) v.30, n.2 p. 53-58, Mayo-Agosto. 2012.

FERREIRA, D. F. Sisvar: A computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras. v. 35, n. 6, p. 1039- 1042, dez. 2014.

FIEGERT, A. K.; MIX-WAGNER, G.; VORLOP, K. D. Regeneration of *Solanum tuberosum* L. cv. Tomensa. Induction of somatic embryogenesis in liquid culture for the production of artificial seed. **Landbauforsch**, v.50, p.199-202, 2000.

GOEDERT, C.O. Histórico e Avanços em Recursos Genéticos no Brasil. In NASS, L.L. **Recursos Genéticos Vegetais. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia**, 2007. p. 24-60.

International Potato Center (CIP) (2013) CIP, **Strategy and Corporate Plan, Research, Innovation and Impact**. 2014–2023. Lima, p. 51 2014.

KLASEN, G. L. KLASEN; CASTRO, C. M.; HEIDEN, G.; Cruzabilidade entre parentes silvestres da batata, visando ampliar a base genética da cultura. **3ª SEMANA INTEGRADA DE INOVAÇÃO, ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO – SIIPE (II CIT, XXVII CIC, XX ENPOS, V CEC, IV CEG)**. Pelotas. 2017

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 15, n. 3, p. 473-497, 1962.

NASSAR A.H. Slow growth storage of encapsulated germplasm of *Coffea arabica* L. **International Journal of Agriculture & Biology**, v.5, p.517-520, 2003.

PEREIRA, J. E. S.; GUEDES, R. da S., COSTA, F. H. da S.; SCHMITZ, G. C. B. Composição da matriz de encapsulamento na formação e conversão de sementes sintéticas de pimenta-longa. **Horticultura Brasileira**, v. 26, p. 093-096, 2008.

SOARES, I. A. A; FREITAS, F. C. L.; NEGREIROS, M. Z.; FREIRE, G. M.; AROUCHA, E. M. M.; GRANGEIRO, L. C.; LOPES, W. A. R.; DOMBROSKI, J. L. D. Weed Interference in Carrot Yield and Quality. **Planta Daninha**, Viçosa-MG, v. 28, n. 2, p. 247-254, 2010.

YAMAGUCHI, S. Gibberellin metabolism and its regulation. **Annual Review of Plant Biology**, v. 59, n. 1, p. 225-251, 2008.

VICHIATO, M. R. M.; VICHIATO, M.; CASTRO, D. M.; DUTRA, L. F.; PASQUAL, M. Alongamento de plantas de *Dendrobium nobile* Lindl. com pulverização de ácido giberélico. **Ciência e Agrotecnologia**, v.31, n.1, p.16-20, 2007.

WATANABE, K.N., A. KIKUCHI, T. SHIMAZAKI AND M. ASAHINA. Salt and drought stress tolerances in transgenic potatoes and wild species. **Potato Research**. v.54,p. 319–324. 2011.