

EFEITO DO TRATAMENTO TÉRMICO NA DESINFESTAÇÃO E NO DESENVOLVIMENTO DE EXPLANTES DE LÚPULO (*HUMULUS LUPULUS*) EM CULTIVO *IN VITRO*

Data de aceite: 01/04/2024

Lucas Augusto Silva dos Santos

Estudante de graduação em Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ)

Mariana Gonçalves Santos

Estudante de graduação em Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ)

Andressa Fabiane Faria de Souza

Doutora em Agronomia – Ciência do Solo (IA/UFRRJ)

Carlos Alberto Bucher

Professor Adjunto do Departamento IA-DAS (UFRRJ)

Cassia Pereira Coelho Bucher

Pesquisador da Empresa Biohopss Biotecnologia LTDA (BIOHOP)

que são micropropagadas, podendo prejudicar o desenvolvimento das plantas, além de ocasionar desperdício de reagentes e tempo ao ter que realizar o descarte do material. Com base no exposto, o objetivo da pesquisa foi analisar a influência da temperatura no desenvolvimento das plantas e na proliferação de fungos e bactérias no cultivo *in vitro* para otimização do protocolo de inoculação de plantas de lúpulo (*Humulus lupulus*), com o intuito de reduzir a porcentagem de contaminação nos processos laboratoriais de micropropagação.

PALAVRAS-CHAVE: contaminação endofítica, inoculação de plantas, micropropagação

RESUMO: As biofábricas de cultivo *in vitro* conseguem produzir mudas de lúpulo sob condições controladas, garantindo uma melhoria no rendimento, além de manter um controle fitossanitário das mudas produzidas. A grande problemática do cultivo *in vitro* são as contaminações endofíticas que podem ocorrer (Esposito-Polesi et al., 2015). É possível perceber contaminações por fungos e bactérias em diversas culturas

ABSTRACT: *In vitro* cultivation biofactories are able to produce hop seedlings under controlled conditions, guaranteeing an improvement in yield, as well as maintaining phytosanitary control of the seedlings produced. The major problem with *in vitro* cultivation is the endophytic contamination that can occur (Esposito-Polesi et al., 2015). It is possible to see contamination by fungi and bacteria in various cultures that are micropropagated, which can harm the development of the plants, as well as

causing a waste of reagents and time when the material has to be discarded. Based on the above, the aim of this research was to analyze the influence of temperature on plant development and the proliferation of fungi and bacteria in *in vitro* cultivation in order to optimize the inoculation protocol for hop plants (*Humulus lupulus*), with the aim of reducing the percentage of contamination in laboratory micropropagation processes.

KEYWORDS: contamination. Micropropagation, endophytic, plant inoculation

INTRODUÇÃO

Com o Brasil ocupando a terceira posição dos países que mais consomem cerveja no mundo (KIRIN HOLDINGS COMPANY, 2021), a produção de uma das matérias-primas da cerveja é de grande importância comercial no país. Com quase 100% do insumo sendo importado, dados do APROLÚPULO (2023) mostraram um salto de crescimento na produção brasileira de lúpulo da ordem de 160% de 2020 para 2021, competindo com o mercado internacional em termos de qualidade do produto. As biofábricas de cultivo *in vitro* são capazes de produzir mudas de lúpulo em condições controladas, garantindo melhores rendimentos, além de manter o controle fitossanitário das mudas produzidas. O grande problema do cultivo *in vitro* é a contaminação endofítica que pode ocorrer (ESPOSITO-POLESI et al., 2015). A contaminação por fungos e bactérias pode ser observada em muitas culturas micropropagadas, o que pode prejudicar o crescimento das plantas, além de causar um desperdício de reagentes e tempo quando o material tem que ser descartado. Vários autores têm relatado a influência da temperatura na fisiologia das plantas. Em condições naturais, as plantas são expostas ao frio e ao calor, afetando suas atividades fisiológicas e conseqüentemente seu crescimento, a fim de sobreviverem e perpetuarem suas espécies (FENOLLOSA et al., 2018). Plantas de abacaxi (*Ananas comosus* L.) micropropagadas *in vitro* foram cultivadas em diferentes condições de temperatura, sendo que 28°C/15°C (claro/escuro) apresentaram maior crescimento em relação à temperatura constante de 28°C (NIEVOLA et al., 2005). Com base no exposto, o objetivo desta investigação foi analisar a influência da temperatura na proliferação de fungos e bactérias no meio de cultura *in vitro*, bem como avaliar a temperatura ótima para um maior crescimento dos explantes, a fim de otimizar o protocolo de inoculação de plantas de lúpulo (*Humulus lupulus*), com o objetivo de reduzir a percentagem de contaminação nos processos de micropropagação em laboratório.

MATERIAL E MÉTODOS

Para realizar o experimento, os explantes utilizados para a cultura *in vitro* foram colhidos de uma planta matriz de lúpulo da variedade Comet cultivada em estufa. Os explantes das regiões nodais foram desinfectados de duas formas. I: os explantes foram expostos a hipoclorito diluído em 1L de água destilada durante 15 minutos. II: os

explantes também foram expostos ao hipoclorito diluído em 1L de água destilada por 15 minutos, seguido de lavagem com álcool 70% e hipoclorito de sódio com 0,5% de cloro ativo por 10 minutos. Em ambos os tratamentos, os explantes foram lavados com água destilada estéril por pelo menos 5x para remover resíduos dos reagentes utilizados. Após a desinfestação, os explantes foram inoculados em meio MS padrão e foram testadas as seguintes temperaturas: 15°C, 24°C e 28°C, em ambos os tratamentos de desinfestação, sob fotoperíodo de 16 horas. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com 24 repetições para cada temperatura (3) e cada tratamento de desinfestação (2) (n=144). O experimento foi avaliado ao final de 21 dias quanto ao crescimento dos explantes, presença/ausência de folhas, presença/ausência de contaminação e diâmetro do caule (mm). O diâmetro foi analisado com um paquímetro digital.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para o método de desinfestação I, observou-se uma maior porcentagem de contaminação para as temperaturas analisadas, onde 15°C e 24°C apresentaram 100% de contaminação e nenhuma taxa de crescimento, enquanto que a 28°C, embora tenha havido 96% de contaminação, os explantes apresentaram 38% de crescimento vegetal, com 38% de presença de folhas e o diâmetro do caule dos explantes foi de 0,38mm.

Para o método de desinfestação II, a taxa de contaminação dos explantes foi menor em ambas as temperaturas. A uma temperatura de 15°C, foi observada uma taxa de contaminação de 38%, com 13% de crescimento, 8% de presença de folhas e um diâmetro de 0,25mm. Os explantes a 24°C apresentaram uma taxa de contaminação maior em relação à temperatura anterior (67%), mas houve um crescimento de 21%, a taxa de presença de folhas foi de 17% e o diâmetro foi de 0,32mm. Na última temperatura avaliada, 28°C, a porcentagem de contaminação foi de cerca de 54%, e os explantes apresentaram uma taxa de crescimento de 50%, com 50% de presença de folhas, e um diâmetro de 0,51mm. Segundo os autores DOMINGUES-JUNIOR et al. (2019) a variação de temperatura, seja ela brusca ou gradual, é capaz de modificar os níveis de expressão gênica, bem como o metabolismo do carbono, foi observado que as espécies de eucalipto, *E. grandis* e *E. globulus*, apresentaram metabolismo do carbono e crescimento vegetativo diferentes quando expostas a uma temperatura de 10°C.

O frio pode causar alterações no metabolismo primário, o que influencia o crescimento vegetativo das plantas. Neste estudo, observou-se que, apesar de haver uma menor taxa de contaminação do meio de cultura a baixas temperaturas, houve também um menor crescimento dos explantes. Quando expostos a temperaturas de 24°C e 28°C, os explantes apresentaram um melhor desenvolvimento.

CONCLUSÃO

A partir dos resultados, foi possível concluir que o método de desinfestação I foi ineficaz, com 100% dos explantes a apresentarem contaminação, crescimento reduzido e ausência de folhas. O método de desinfestação II apresentou uma menor taxa de contaminação, levando a um maior crescimento dos explantes. Além disso, foi possível observar que a etapa de desinfestação associada a uma temperatura adequada favoreceu um maior crescimento das plantas de lúpulo.

AGRADECIMENTOS

Este trabalho contou com o apoio financeiro da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), da Incubadora de Empresas em Agronegócio da UFRRJ (INEAGRO) e da Fundação de Amparo à Pesquisa do Rio de Janeiro (FAPERJ) e da startup incubada na UFRRJ: BioHop.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

APROLÚPULO. **Associação Brasileira de Produtores de Lúpulo**. 2023. Disponível em: <https://aprolupulo.com.br/noticia/lupulo-e-incluido-no-programa-moderagro-e-ganha-impulso-para-acelerar-crescimento>. Acessado em: 27 de ago. 2023.

DOMINGUES-JUNIOR, A. P.; DALOSO, D. M.; MACHADO, M.; ROSADO-SOUZA, L.; SOUZA, L. P.; FERNIE, A. R.; MAZZAFERA, P. **A cold change: how short low temperature exposure affects primary metabolism in leaves and stems of two eucalyptus species**. Theoretical and Experimental Plant Physiology, v. 31, p. 429-444, 2019.

ESPOSITO-POLESI, N. P. **Microrganismos endofíticos e a cultura de tecidos vegetais: quebrando paradigmas**. Revista Brasileira de Biociências, v. 9, p. 533-541, 2011.

FENOLLOSA, E.; GÁMEZ, A.; MUNNÉ-BOSCH, S. **Plasticity in the hormonal response to cold stress in the invasive plant *Carpobrotus edulis***. Journal of Plant Physiology, v. 231, p. 202-209, 2018.

KIRIN HOLDINGS. **Global Beer Consumption by Country in 2021**. Disponível em: https://www.kirinholdings.com/en/newsroom/release/2022/1223_01.html. Acessado em: 27 de ago. 2023.

NIEVOLA, C. C.; KRAUS, J. E.; FRESCHI, L.; SOUZA, B. M.; MERCIER, H. **Temperature determines the occurrence of CAM or C3 photosynthesis in pineapple plantlets grown in vitro**. In Vitro Cellular & Developmental Biology.-Plant, v. 41, p. 832-837, 2005.