



9ª Jornada Científica e Tecnológica do IFSULDEMINAS

6º Simpósio da Pós-Graduação

USO DE BIOCIDA NA MICROPROPAGAÇÃO DE *Saccharum officinarum*

**Donieverson A. dos SANTOS¹; Yuri T. de F. M. de SOUZA¹; Maria G. TEIXEIRA²;
Wellington M. BARBOSA³.**

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi verificar se o biocida PPMTM, na dose 1 mL.L⁻¹, juntamente com silicato de potássio 5 mL.L⁻¹ (Silexo) são eficientes no controle da contaminação *in vitro* de meristemas de *Saccharum officinarum*. Foram utilizados como explantes, meristemas retirados das brotações dos colmos coletados de plantas no campo. Os colmos foram cortados e submetidos a tratamento térmico (52°C por 30 min) para evitar a proliferação de doenças e posteriormente plantados em bandeja com areia lavada e autoclavada, permanecendo por 25 dias. Após este período, foram retiradas as brotações e submetidas a processo de lavagem em laboratório, sendo, então, levadas para câmara de fluxo laminar, onde passaram por processos de desinfestação. Em seguida, foi realizada inoculação nos meios de cultura, sem e com adição do biocida acrescido de silicato (Silexo). Após 30 dias observou-se uma redução no nível de contaminação e oxidação nos explantes inoculados em meio de cultura contendo PPMTM e Silexo, no entanto foi observada inibição no desenvolvimento dos explantes.

Palavras-chave: Cana-de-açúcar; Contaminação *in vitro*; Microrganismos; PPMTM.

1. INTRODUÇÃO

A cana-de-açúcar (*saccharum officinarum*) é uma planta da família Poaceae, semi-perene que tem grande importância na agricultura brasileira e mundial (DUTRA et al., 2015). Para realizar o plantio de um hectare no sistema convencional são necessários em torno de 10 a 15 toneladas de mudas por hectare (ROSSETO e SANTIAGO, 2017).

Atualmente foi criado o sistema de Mudanças Pré-Brotadas (MPB), desenvolvido pelo Programa Cana do Instituto Agrônomo (IAC), que possibilita redução na quantidade de mudas, no número de falhas e nos riscos de propagação de pragas e doenças. O cultivo da cana-de-açúcar é feito em grandes áreas, necessitando de alto potencial produtivo de MPB para que se atenda à demanda das renovações canavieiras (SANTI et al., 2016).

Para que se possa atender à essa demanda, a disponibilização de mudas pode ser feita por meio da biotecnologia, utilizando diversas técnicas, dentre as quais podemos citar a micropropagação, que por meio de meristema apical, vêm se mostrando muito vantajosa devido à economia de tempo quando comparada às outras técnicas (DUTRA et al., 2015).

No estabelecimento de uma cultura *in vitro*, a contaminação por microrganismos é um dos principais problemas, uma vez que os microrganismos contaminantes competem com os explantes por nutrientes e alguns deles produzem toxinas que influenciam no processo de regeneração da espécie (ANDRADE, 2002).

1 Instituto Federal do Sul de Minas – Campus Machado. Machado/MG. E-mail: d.afranio93@hotmail.com

1 Instituto Federal do Sul de Minas – Campus Machado. Machado/MG. E-mail: ytfmsouza@gmail.com

2 Instituto Federal do Sul de Minas – Campus Machado. Machado/MG. E-mail: mariagessiteixeira@hotmail.com

3 Instituto Federal do Sul de Minas – Campus Machado. Machado/MG. E-mail: wambarbosa@hotmail.com



9ª Jornada Científica e Tecnológica do IFSULDEMINAS

6º Simpósio da Pós-Graduação

Para evitar a contaminação por microrganismos, algumas alternativas são bastante utilizadas, dentre elas, o uso de biocidas e silicatos. Há uma classe de biocidas industriais conhecida como isoatiazolonas que são utilizadas profilaticamente sob forma de mistura de conservante de plantas, comercialmente conhecida como *Plant Preservative Mixture* - PPM™. O PPM™ contém uma mistura de isoatiazolonas (metilcloroisotiazolinona e metilisotiazolinona) que podem ser eficientes no controle e na redução da taxa de contaminação *in vitro* (NIEDZ e BAUSHER, 2002).

Asmar et al. (2011) destacam que ainda existem poucas informações sobre a modificação no meio de cultura e seus efeitos sobre as plantas, especialmente sobre a utilização de silício adicionado ao meio. O silício é um nutriente que atua em constituintes estruturais da célula, tornando-as mais resistentes à entrada de patógenos.

Sendo assim, visando reduzir o índice de contaminação no estabelecimento da cultura de cana-de-açúcar, o objetivo desse trabalho foi avaliar se a adição do biocida PPM™ + silicato de potássio (Silexo) nas doses de 1 mL.L⁻¹ e 5 mL.L⁻¹, respectivamente, ao meio de cultura MS diminuiria os índices de contaminação no estabelecimento *in vitro*.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Laboratório de Biotecnologia do Instituto Federal do Sul de Minas, Campus Machado.

Foram utilizados como explantes, brotações dos colmos de cana-de-açúcar (cultivar RB 867515) coletadas em campo. Os colmos foram cortados e submetidos a tratamento térmico (52°C por 30 min) para evitar a proliferação de doenças. Após o tratamento foram plantados em bandeja com areia lavada e autoclavada onde permaneceram por 25 dias. Após este período foram retiradas as brotações dos colmos, sendo, então, lavadas e, em câmara de fluxo laminar, submetidas à desinfestação superficial com hipoclorito de sódio 2,0% contendo *Tween 20*, 0,04% (v/v), por 20 minutos sob agitação constante, e álcool etílico 70% por dez minutos. Em seguida foram realizados três enxágues com água destilada autoclavada. Após a desinfestação, os explantes foram inoculados em tubos de ensaio com 15 mL de meio de cultura. Posteriormente os explantes foram mantidos no escuro por 5 dias e depois em sala de crescimento na temperatura de 24 ± 1 °C, sob fotoperíodo de 16 h luz branca fria e irradiância de 25 μmol.m⁻².s⁻¹, onde permaneceram por mais 25 dias.



9ª Jornada Científica e Tecnológica do IFSULDEMINAS

6º Simpósio da Pós-Graduação

O meio de cultura utilizado foi o MS (MURASHIGE e SKOOG, 1962) com 3% de sacarose. Foram dois tratamentos: sem adição de biocida PPMTM e com adição de biocida PPMTM 1 mL.L⁻¹ acrescido de silicato de potássio 5 mL.L⁻¹ (Silexo), sendo dez repetições por tratamento. Os meios tiveram seu pH ajustado para 5,8 e solidificados com 7,0 g. L⁻¹ de Ágar.

Foram analisados a porcentagem de explantes contaminados, o crescimento dos explantes e o nível de oxidação dos explantes e do meio de cultura. Os dados foram submetidos ao teste de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade utilizando o aplicativo SISVAR.

As análises do nível de oxidação foram feitas por meio de notas (0 a 5) atribuídas por duas pessoas diferentes em que a nota “5” significava totalmente oxidado e a nota “0” sem oxidação.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Observou-se redução no percentual de contaminação e oxidação dos explantes e dos meios de cultura nos frascos contendo PPMTM e Silexo. No entanto, pode-se observar inibição no desenvolvimento dos explantes (Tabela 1).

Tabela 1: Contaminação, comprimento das plântulas e oxidação do meio de cultura e dos explantes de cana-de-açúcar inoculados em meio MS sem e com adição de PPMTM acrescido de Silicato de potássio (Silexo)⁽¹⁾.

Tratamentos	Contaminação	Oxidação explante	Oxidação do meio de cultura	Comprimento explante
MS	6,63 b	3,15 b	2,21b	1,31 a
MS+ PPM+ Silexo	1,00 a	0,75 a	0,05a	0,65 b
CV (%)	23,58	19,53	34,28	40,15

⁽¹⁾ Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

O efeito do biocida PPMTM é variável em função da espécie, podendo aumentar, reduzir ou não influenciar o crescimento *in vitro*. A inibição do crescimento *in vitro* foi relatada por Correa e Quisen (2010), que demonstraram toxicidade do biocida na concentração de 1%, resultando perda por oxidação e necrose de 100% dos explantes de pau rosa.

Silveira et al. (2013) comprovaram a eficiência do PPMTM na desinfestação de sementes de guanandi na concentração de 0,2% do produto, combinando o tratamento de imersão por 48 horas com acréscimo ao meio de cultura, atingindo apenas 6% de contaminação.

Neidz (1998) evidenciou que, as isoatiazolonas, quando utilizadas nos níveis recomendados pelos fabricantes, causam pouca fitotoxicidade nas culturas e são eficientes no controle de fungos e bactérias.



9ª Jornada Científica e Tecnológica do IFSULDEMINAS

6º Simpósio da Pós-Graduação

4. CONCLUSÃO

A utilização de PPMTM, juntamente com o Silexo, foi eficiente na redução dos percentuais de contaminação e oxidação. Entretanto, é necessária a realização de novos testes para definição da dose eficaz para que não ocorra a inibição no desenvolvimento dos explantes e haja controle efetivo da contaminação no estabelecimento *in vitro* de explantes de cana-de-açúcar.

AGRADECIMENTOS

Ao IFSULDEMINAS pela concessão da bolsa e estrutura para realização da pesquisa.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDRADE, S. R. M. de. Princípios da cultura de tecidos vegetais. **Embrapa Cerrados**, Planaltina, 2002. 16 p.

ASMAR, S. A. et al. Fontes de silício no desenvolvimento de bananeiras “maçã” micropropagadas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 41, n. 7, p. 1127-1131, 2011.

CORREA, M. L.; QUISEN, R. C. Estabelecimento *in vitro* e calogênese de espécies perenes tropicais de interesse econômico. In: Embrapa Amazônia Ocidental-Artigo. JORNADA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA EMBRAPA AMAZÔNIA OCIDENTAL, 7., 2010, Manaus. **Anais...** Manaus: Embrapa Amazônia Ocidental, 2010. p. 93-99.

DUTRA, L. F.; DONINI, L. P.; SILVA, S. D. A.; SILVA, N. D. G.; THIEL, F. B.; VITÓRIA, J. M.; ZACARIAS, F. M. **Protocolo de micropropagação de cana-de-açúcar**. Embrapa, circular técnica 128. Pelotas – RS, 8 p, 2011.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, V. 15, 24 p, 1962.

NIEDZ, R. P.; BAUSHER, M. G. Control of *in vitro* contamination of explants from greenhouse-and field-grown trees. **In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant**, v. 38, n. 5, p. 2002.

NIEDZ, R. P. Using isothiazolone biocides to control microbial and fungal contaminants in plant tissue cultures. **HortTechnology**, v. 8, n. 4, p. 598-601, 1998.

ROSSETTO, R.; SANTIAGO, A. D. Plantio de cana-de-açúcar. **Agência Embrapa de informação tecnológica**. Online, disponível em: http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/cana-de-acucar/arvore/CONTAG01_33_711200516717.html Acessado em junho, 2017.

SILVEIRA, SHEILA SUSY et al. Uso de PPM®(Plant Preservative Mixture) na desinfestação de sementes de guanandi (*Calophyllum brasiliense* Cambess.), introduzidas *in vitro*. In: **Embrapa Florestas-Resumo em anais de congresso (ALICE)**. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FLORICULTURA E PLANTAS ORNAMENTAIS, 19.; CONGRESSO BRASILEIRO DE CULTURA DE TECIDOS DE PLANTAS, 6., 2013, Recife. Anais dos trabalhos. Recife: UFRPE, 2013.

SANTI, P. H. P. de; SACAVAZZA, A. L.; BELLONI, A. L.; SOARES, M. R.; CASAGRANDE, J. C.; SARTORI, S. D. ROCHA, K. S. S.; LAVORETI, J. A. L.; SANTANA, C. A.; FERREIRA, J. A.; ZINA, C.S. Desenvolvimento de mudas pré-brotadas (mpb) de cana-de-açúcar em diferentes substratos. X Workshop agroenergia. Ribeirão Preto- SP. **Anais...** 2016. 7p.