

ASSEPSIA DE GEMAS APICAIS DE AMOREIRA

Patrícia S. da SILVA¹, Priscila P. BOTREL², Jéssica A. BATISTA³

RESUMO

O objetivo do trabalho foi avaliar o efeito de diferentes concentrações de hipoclorito de sódio no estabelecimento *in vitro* de gemas apicais de amora. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC), constituído de sete concentrações de hipoclorito de sódio (20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70% e 80%) com quatro repetições e cinco tubos de ensaio por parcela. Foi utilizado o meio de cultura MS semissólido na ausência de regulador de crescimento. Avaliou-se diariamente a porcentagem de contaminação, oxidação e sobrevivência dos explantes. As concentrações de 30%, 40%, 70% e 80% de hipoclorito de sódio apresentaram maior eficiência no combate à contaminação *in vitro* de gemas apicais de amora. Para porcentagem de oxidação, as concentrações de 20% e 40% de hipoclorito de sódio proporcionaram baixa taxa de oxidação em gemas apicais de amora. As diferentes concentrações de hipoclorito de sódio não influenciaram a sobrevivência dos explantes de amora cultivados *in vitro*.

Palavras-chave: Hipoclorito de sódio; Micropropagação; *Morus nigra*.

1. INTRODUÇÃO

A amoreira-preta representa uma opção de grande interesse aos fruticultores, pelo mercado existente (PERUZZO; DAL BÓ e PICCOLI, 1995) e por representar uma alternativa viável de diversificação às propriedades (ANTUNES et al., 2000).

Um dos princípios básicos para o sucesso da cultura de tecidos depende, em parte, de medidas de controle e prevenção da contaminação microbiana (LEIFERT et al., 1994; SILVA et al., 2003), devido a esta técnica proporcionar um ambiente favorável para o crescimento de microrganismos, como bactérias, leveduras e fungos filamentosos (DANTAS, 2002).

Para minimizar a contaminação microbiana, inúmeros protocolos de assepsia são apresentados por diversos autores. Esses relatam o uso de substâncias, como hipoclorito de sódio (PEREIRA et al, 2009).

Micropropagação ou propagação vegetativa *in vitro* é utilizada principalmente naquelas plantas de difícil propagação pelos métodos convencionais, permitindo a obtenção

¹Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sul de Minas Gerais – Campus Muzambinho. Muzambinho/MG - E-mail: patyysoares13@hotmail.com

² Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sul de Minas Gerais – Campus Muzambinho. Muzambinho/MG – E-mail: priscila.botrel@muz.ifsuldeminas.edu.br

³ Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sul de Minas Gerais – Campus Muzambinho. Muzambinho/MG – E-mail: jessica.batista@muz.ifsuldeminas.edu.br;

de grande número de plantas sadias e geneticamente uniformes, em curto período de tempo (EMBRAPA, 1999).

Diante da alta demanda de produção de frutíferas e a dificuldade de estabelecimento *in vitro*, o presente trabalho objetivou avaliar o efeito de diferentes concentrações de hipoclorito de sódio no estabelecimento *in vitro* de gemas apicais de *Morus nigra* L.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi desenvolvido no Setor de Biotecnologia: Laboratório de Cultura de Tecido Vegetal no *Campus* Muzambinho.

Após a coleta, realizada por volta das 9:00 horas, as gemas foram armazenadas em água destilada por duas horas até o momento da assepsia.

Utilizou-se delineamento inteiramente ao acaso constituído por sete tratamentos: 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70% e 80% de hipoclorito de sódio (2,5 % de cloro ativo), com quatro repetições e cinco tubos por parcela.

Os explantes foram imersos inicialmente em álcool 70% sob agitação por cinco minutos, em seguida, transferidos para as soluções de hipoclorito de sódio nos respectivos tratamentos por vinte minutos.

Após assepsia o material foi levado à capela de fluxo laminar e lavado quatro vezes com água destilada e autoclavada e inoculado em tubos de ensaio contendo 10 ml de meio de cultura MS, o qual teve o pH ajustado para +- 5,7 e solidificado com 8 g/L de ágar e autoclavado a 1,6 atm por 20 minutos.

Após inoculação, os explantes permaneceram em BOD com fotoperíodo de 16 horas, recebendo 16 horas de luz e 8 horas de escuro, à temperatura de 25°C por trinta dias.

Avaliou-se diariamente a porcentagem de contaminação, porcentagem oxidação e porcentagem sobrevivência das gemas apicais de amora. As análises foram realizadas por meio do Software Estatístico SISVAR (FERREIRA, 2011), e as médias analisadas pelo Teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade.

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Houve diferença significativa para porcentagem de contaminação em gemas apicais de amora. As concentrações de 30%, 40%, 70% e 80% de hipoclorito de sódio apresentaram

maior eficiência, em relação às concentrações de 20%, 50% e 60% que proporcionaram alta taxa de contaminação dos explantes, não sendo eficazes para assepsia.

De acordo com McPHEETERS, SKIRVIN e HALL (1988), o processo de desinfecção é um dos aspectos mais difíceis na cultura de tecidos de *Rubus*.

Gemas apicais de amora submetidas a 20% e 40% de hipoclorito de sódio apresentaram menor taxa de oxidação, seguido das concentrações 30%, 60%, 70% e 80%. A concentração de 50% de hipoclorito apresentou alta taxa de oxidação dos explantes (Tabela 1).

Tabela 1. Porcentagem de contaminação, oxidação e sobrevivência de gemas apicais de amora submetidas à assepsia com diferentes concentrações de hipoclorito de sódio (%),” Muzambinho, 2016.

Hipoclorito de sódio (%)	Contaminação (%)	Oxidação (%)	Sobrevivência (%)
20	100 b	10a	0 a*
30	45 a	40 b	35 a
40	60 a	20 a	40 a
50	85 b	80 c	15 a
60	75 b	30 b	25 a
70	35 a	30 b	55 a
80	65 a	35 b	35 a

*Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo Teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade.

As diferentes concentrações de hipoclorito de sódio testadas não influenciaram estatisticamente a porcentagem de sobrevivência das gemas de amoreira.

O pH ideal para a solução de hipoclorito de sódio deve estar entre 5 e 8, pois com o aumento da faixa de pH da solução, mecanismos de defesa das bactérias são ativados, fazendo com que se desenvolvam mesmo em concentrações altas de cloro ativo, diminuindo a eficiência do produto (HIRATA; MANCINI FILHO, 2002).

Carneiro et al. (2000) observaram níveis de contaminação bacteriana inferior a 30% em explantes de banana imersos em hipoclorito de sódio, porém não foi eficiente no controle de fungos.

4. CONCLUSÕES

As concentrações de 70% de hipoclorito de sódio apresentaram maior eficiência no combate à contaminação, sendo a mais eficiente. Para porcentagem de oxidação, as

concentrações de 20% teve menor taxa de contaminação e logo em seguida a de 40% de hipoclorito de sódio proporcionaram baixa porcentagem de oxidação em gemas de amoreira. As diferentes concentrações de hipoclorito de sódio testadas não influenciaram estatisticamente na sobrevivência das gemas apicais de amora.

5. REFERÊNCIAS

- ANTUNES, L. E. C.; CHALFUN, N. N. J.; REGINA, M. de A.; DUARTE FILHO, J. Fenologia e produção de variedades de amora-preta nas condições do planalto. **Revista Brasileira de Fruticultura**, São Paulo, v. 22, n. 1, p.89-95, abr. 2000.
- CARNEIRO, M. de F.; SILVA, G.D da; XIMENES, P.A.; CARNEIRO, I.F.; BORGES, J.D. Avaliação de produtos na descontaminação de explantes de banana (Musa AAB cv. Maçã). Pesquisa Agropecuária Tropical, Goiânia, v. 30, n.1, p.29-35, 2000.
- DANTAS, S.; OLIVEIRA, S.; CÂMARA, T. Contaminação microbiana no cultivo *in vitro* de plantas. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Passo Fundo, v.10, p. 391-407, 2002.
- EMBRAPA CENTRO NACIONAL DE PESQUISA. Técnicas de Micropropagação, por Julita Maria Frota Chagas Carvalho. Campina Grande, 1999., 39 p. (Embrapa= CNPA. Documentos, 64).
- FERREIRA, D. F. SISVAR: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, n.6, p.1039-1042, 2011. Available from: <<http://www.scielo.br/pdf/cagro/v35n6/a01v35n6.pdf>>. Accessed: Jun. 25, 2016. doi: 10.1590/S141370542011000600001.
- HIRATA, M.H.; MANCINI FILHO, J. **Manual de biossegurança**. Barueri: Ed. Manole, 2002. 496p
- LEIFERT, C.; MORRIS, C.E.; WAITES, W.M. Ecology of microbial saprophytes and pathogens in tissue culture and field grown plants: reason for contamination problems *in vitro*. **Critical Reviews in Plant Sciences**, Netherlands, v.13, p. 139-183, 1994.
- McPHEETERS, K. D.; SKIRVIN, R. M.; HALL, H. K. Brambles (*Rubus* spp.). In:BAJAJ, Y. P. S. **Crops II**. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 1988. p.104-123.(Biotechnology in agriculture and forestry, Vol.6).
- PEREIRA, G. A.; RIBEIRO, B. V.; MARCÍLIO, H. C.; SANTAELLA, M. B. Desinfestação e estabelecimento *in vitro* de explantes de bananeira 'IAC 2001' em diferentes concentrações de hipoclorito de sódio. **Tecnologia & Ciência Agropecuária**, João Pessoa, v.3, n.2, p.43-46, 2009.
- PERUZZO, E. L.; DAL BÓ, M. A.; PICCOLI, J. P. Amora-preta: variedades e propagação. **Agropecuária Catarinense**, Florianópolis, v. 8, n. 3, p. 53-55, 1995.