

Hipoclorito de sódio na assepsia e resposta na multiplicação *in vitro* de cana de açúcar.

Araújo, Talita G.¹; Medeiros, L.N.¹; Falcão, T.I.S.N.¹; Morais, D.S.C.¹; Duarte, B.C.¹; Macedo, C.E.C.².

¹ Estudantes do curso de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN-RN), talit_a@hotmail.com; ² Professora Doutora do Centro de Biociências, Departamento de Biologia Celular e Genética, cristianemacedo@ufrnet.br; UFRN, Campus Universitário, Caixa Postal 1524, CEP 59072-970, Lagoa Nova, Natal – RN.

INTRODUÇÃO

A cana-de-açúcar é utilizada para a produção de 65% do açúcar mundial, além de álcool, produtos farmacêuticos e outros compostos. Em decorrência da posição de destaque que ocupa na economia mundial, a cultura da cana está frequentemente inserida em programas de melhoramento de espécies cultivadas, visando à introdução de características de interesse agrônomo, como resistência a pragas e doenças, tolerância a herbicidas, aumento no teor de sacarose etc.

Um sério problema enfrentado pelos programas convencionais de melhoramento é a dificuldade de se multiplicar o material selecionado com rapidez. Altas taxas de multiplicação de cana-de-açúcar podem ser obtidas através da cultura de tecidos, com inúmeras vantagens em relação à multiplicação em campo, como a produção de grande quantidade de mudas de qualidade superior em tempo e espaço reduzidos (Lee, 1987). Protocolos eficientes para o controle de contaminantes *in vitro* (Chengalrayan e Gallo-Meagher, 2001) são também fundamentais para a utilização de técnicas de assepsia eficientes, que assegurem novas possibilidades para a obtenção de variedades de cana-de-açúcar com características de interesse, juntamente com o melhoramento convencional.

No cultivo *in vitro*, estes protocolos envolvem a prevenção da contaminação dos explantes, antes da inoculação: autoclavagem do meio de cultura e desinfestação dos explantes com detergente neutro, hipoclorito de sódio e água destilada e estéril entre outros. Mesmo com esses procedimentos, observa-se ainda, contaminação de explantes de cana-de-açúcar. Os microorganismos competem com os explantes pelos nutrientes do meio de cultura e provocam danos diretos e indiretos através da colonização de seus tecidos. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de diferentes concentrações de hipoclorito de sódio no controle da contaminação de explantes de cana de açúcar, na tentativa de aperfeiçoar as técnicas de assepsia e multiplicação *in vitro* para esta espécie.

METODOLOGIA

Este trabalho foi realizado no laboratório de estudos em Biotecnologia Vegetal do Departamento de Biologia Celular e Genética da Universidade Federal do Rio Grande do Norte, utilizando-se ápices caulinares provenientes de palmitos de cana de açúcar selecionados em campo, cedidos pela Usina Estivas. Foram utilizadas as variedades de cana-de-açúcar RB 92759 e RB 867515 que são cultivadas na usina Estivas para produção de açúcar.

A desinfestação de segmentos de folhas imaturas de plantas do campo das variedades de cana foi realizada de acordo com (Chengalrayan e Gallo-Meagher, 2001). Explantes de cana-de-açúcar foram inoculados em meio de cultura básico MS (Murashige e Skoog, 1962), com adição de BAP; KIN; inositol; ácido cítrico e sacarose em presença de duas concentrações de hipoclorito de sódio: T1 (0,001%) e T2 (0,005%); e, na ausência: T0 (controle, meio MS sem adição do hipoclorito). Para cada tratamento foram inoculados 10 explantes de cada variedade, totalizando assim 60 explantes. Os explantes foram incubados em sala de crescimento com fotoperíodo de 16:8 (claro/escuro) e temperatura de 27°C. Noventa dias após o cultivo *in vitro*, foram observados: o número de explantes contaminados, o número de explantes oxidados e o número de explantes que formaram brotos. Para análise das diferenças de significância entre os tratamentos, utilizou-se o teste

estatístico do χ^2 (QUI-QUADRADO), com significância de 5%. A ordem percentual foi calculada para cada tratamento e para cada variável.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As taxas de contaminação, oxidação e brotação dos explantes das variedades RB 92579 e RB 867515, estão discriminadas nas figuras 1 e 2 respectivamente. Na variedade RB 92579, as taxas de contaminação situaram-se entre 10 e 20%. Os testes de significância entre o T0 e o T1 não apresentaram diferença significativa ($\chi^2=0,78$), assim como as diferenças entre a T0 e a T2 ($\chi^2=0$) e a T1 comparada a T2 ($\chi^2=0,78$). Quanto a oxidação, as taxas foram entre 37 e 47% e as diferenças não obtiveram significância. Com relação à taxa de brotação, as mesmas situaram-se entre 15 e 45%.

Os explantes provenientes da variedade RB 867515, apresentaram taxas de contaminação entre 15 e 55%, de oxidação entre 37 e 45% e brotação entre 15 e 37% (Figura 2). Para ambas variedades observou-se contaminação dos explantes mostrando que o hipoclorito não tem ação benéfica no controle de contaminantes, tendo em vista que o índice de contaminação apresentado no tratamento T1 (0,001%) foi o mais elevado.

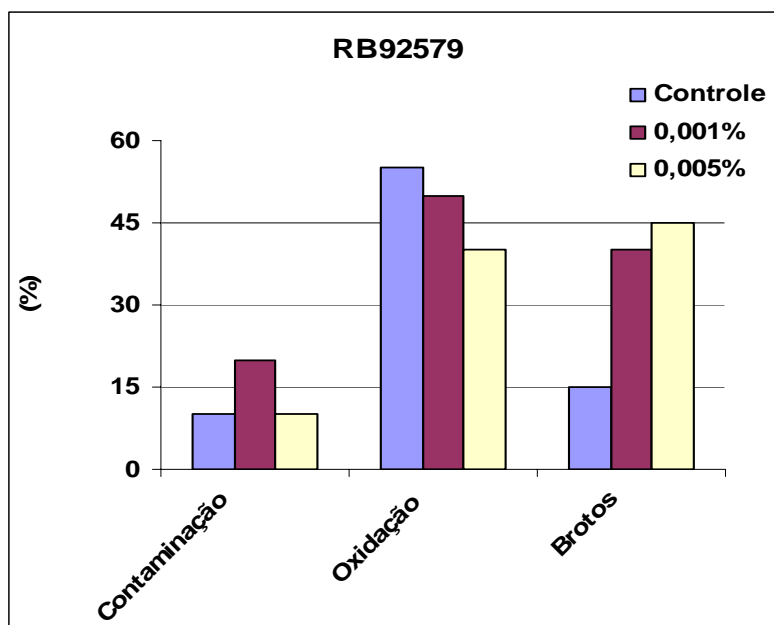


Figura 1. Taxas de contaminação, oxidação e brotação de explantes da variedade RB 92579 na ausência (controle) e em presença do hipoclorito de sódio: T1 (0,001%) e T2 (0,005%).

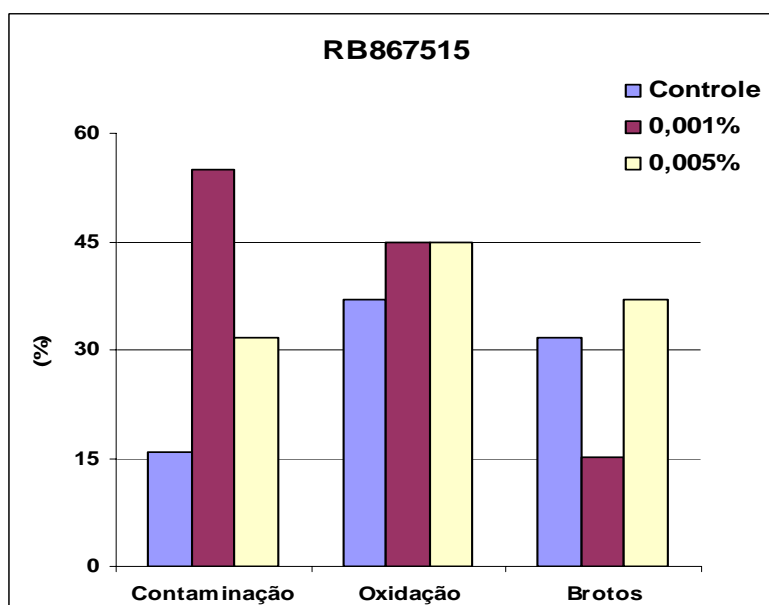


Figura 2. Taxas de contaminação, oxidação e brotação de explantes da variedade RB 867515 na ausência (controle) e em presença do hipoclorito de sódio: T1 (0,001%) e T2 (0,005%).

CONCLUSÕES

Diante dos resultados expostos, conclui-se que as duas concentrações de hipoclorito de sódio adicionadas ao meio de cultura, não reduzem as taxas de contaminação quando comparadas às taxas do controle, em ambas as variedades. Portanto, é desnecessária a utilização do mesmo nos meios de cultura.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

LEE, T.S.G. Micropropagation of sugarcane (*Saccharum* spp.). **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Dordrecht, v. 10, p. 47-55, 1987.

CHENGALRAYAN K.; GALLO-MEAGHER, M. Effect of various growth regulators on shoot regeneration of sugarcane. **In vitro Cellular and Developmental Biology-Plant**, Wallingford, v. 37, p. 434-439, 2001.

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

PALAVRAS-CHAVE: *Saccharum* sp, cana-de-açúcar, micropropagação, desinfestação *in vitro*, hipoclorito de sódio.

¹AGRADECIMENTOS

¹ USINA ESTIVAS, FINEP E UFRN (DBG)