

Efeito da solução NPK na micropropagação *in vitro* de cana-de-açúcar, objetivando reduzir custos de produção.

Dias, André Luís de França¹; Silva, Karime Soares da²; Rivas, Rebeca¹; Alves, Gilberto Dias¹; Houllo-Kido, Laureen Michelle³.

¹Universidade de Pernambuco (UPE) – Instituto de Ciências Biológicas (ICB), Av. Agamenon Magalhães, s/n, Santo Amaro, Recife/PE, CEP 50.100-010, fone (81) 3416-4000, email: andreluisfd@hotmail.com, rebecarivas@gmail.com, alvesgd@icb.upe.br; ²Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE) - Departamento de Agronomia, Av. Dom Manuel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos, Recife/PE, telefone: (81) 3320-6003, email: karyagronomia@hotmail.com. ³Pesquisadora da Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária (IPA), Laboratório de cultura de Tecidos Vegetais e Biologia Molecular, Av. Gal. San Martin, 1371, Bongí, CEP 50761-000, Recife/PE, Caixa Postal: 1022, fone (81) 2122-7200, email: laureenhk@yahoo.com.

INTRODUÇÃO

A cana-de-açúcar é um dos principais produtos agrícolas do Brasil, sendo desde a época da colonização intensamente cultivada. Os seus subprodutos industrializados são diversos, como: o açúcar nos mais variados tipos, o álcool (anidro e hidratado), o vinhoto e o bagaço. (http://infoener.iee.usp.br/scripts/biomassa/br_cana.asp). No Brasil, a média de produção é de 60 toneladas por hectares e, só no Estado de São Paulo, a média é de 74 toneladas por hectares (1983). O conteúdo de açúcar extraído é de 9 a 12% e o rendimento em álcool de 70 litros por tonelada (<http://br.geocities.com/atine50/cana/cana.htm>).

O nome científico dessa herbácea é *Saccharum officinarum*. É nativa do Sudeste Asiático e bastante implantada em ambientes de clima tropical e subtropical. Morfoanatomicamente, apresenta uma inflorescência do tipo espiga, o crescimento dos caules em colmos, suas folhas com lâminas de sílica nas bordas e uma bainha aberta (<http://pt.wikipedia.org/wiki/Cana-de-a%C3%A7%C3%BAcar>).

A vantagem da micropropagação *in vitro* é a rápida produção de alta qualidade, em curto espaço físico; garantia de um material saudável, livre de doenças; as atividades podem ser realizadas independentemente do clima ou das estações do ano, uma vez que as plântulas são multiplicadas sob um ambiente controlado. Mesmo com tantos benefícios, a tecnologia de micropropagação termina sendo mais cara do que os métodos tradicionais por conta da utilização de produtos químicos, meios de cultura, energia e mão-de-obra (IAEA, 2004). O grande valor comercial do nitrato de amônio, junto à dificuldade para sua obtenção, tem gerado realizações de trabalhos na busca de alternativas para a substituição dessa fonte de nitrogênio (FRÁGUAS, 2003).

Esta pesquisa objetivou avaliar o efeito da solução NPK como fonte de nitrogênio alternativa em meios de cultura na regeneração *in vitro* da cana-de-açúcar (cv. RB 932520), tentando reduzir os custos de produção.

MATERIAL E MÉTODO

O experimento foi conduzido no Laboratório de Cultura de Tecidos e Biologia Molecular da Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária (IPA), Estado de Pernambuco. Utilizou-se gemas axilares de cana-de-açúcar da cultivar BR932520, cultivadas *in vitro*.

Sob condições assépticas, as gemas axilares foram inoculadas em 5 meios de cultura diferentes. A composição básica de cada meio foi, inositol 0,1g.L⁻¹, glicina 0,002g.L⁻¹, BAP 0,2mg.L⁻¹, KIN 0,1mg.L⁻¹, sacarose 20 g.L⁻¹. A diferença entre os tratamentos é referente aos componentes à base de nitrogênio dos sais de MS (Murashigue & Skoog, 1962), que foram excluídos (NH₄NO₃, KNO₃ e KH₂PO₄) e substituídos pela solução NPK em diferentes concentrações (com exceção do tratamento 5, que foi meio padrão de cana-de-açúcar), como mostra a tabela a seguir.

Tabela 1. Concentrações de NPK que diferem nos tratamentos do experimento.

Tratamento	Concentração de NPK
1	50 g. L ⁻¹
2	25 g. L ⁻¹
3	15 g. L ⁻¹
4	0 g. L ⁻¹
5	Controle

O pH do meio de cultura foi ajustado em 5,8, antes da autoclavagem (15 minutos à temperatura de 120 °C). Os explantes foram mantidos em sala de crescimento em controle artificial de temperatura e fotoperíodo de 16 horas-luz. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado com 12 repetições por tratamento e 2 explantes por frasco. A cada 15 dias, os meios de cultura dos tratamentos foram trocados.

O experimento foi avaliado semanalmente observando os parâmetros: presença/ausência de brotação, número de brotos, presença/ausência de oxidação, morte do explante, presença/ausência de raiz. Nos parâmetros que apresentam presença/ausência foi atribuído valor 1 à presença e valor 0 à ausência. Os valores paramétricos foram transformados em dados que possibilitassem a análise estatística, através da fórmula $\sqrt{X + 0,5}$, onde X indica o valor paramétrico. Os dados foram submetidos à análise de variância, complementadas pelo teste de médias de Tukey, realizada com o auxílio do programa ASSISTAT versão 7.4 beta (2006).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na análise dos 5 tratamentos, o tratamento 3 (NPK 15 g.L⁻¹), a partir do 15º dia (Tabela 2), destacou-se positivamente na emissão de novas brotações, proporcionando a melhor média de novos brotos.

Gonzáles (2005), desenvolveu explantes de *Splachnum ampullaceum*, propagados *in vitro* em 10 tratamentos diferentes com fontes e índices distintos de nitrogênio com ou sem sacarose e/ou vitaminas B5. Tal experimento sugeriu que o melhor meio para a cultura em longo prazo dessa espécie foi o meio que continha amônia na concentração relativamente baixa, como o fosfato de amônio ou o sulfato, com as vitaminas B5 adicionadas, mas sem sacarose.

Na figura 1 pode ser observado comparativamente o desenvolvimento dos explantes em meios com diferentes concentrações da solução NPK. Os tratamentos mais bem sucedidos foi o 3 (NPK 25 g.L⁻¹) e 5 (meio padrão de cana-de-açúcar). A melhor porcentagem de brotação foi observada no tratamento 3 (NPK 15 g.L⁻¹), com média de 3,08 novas brotações por explante 91,66% dos explantes emitindo novas brotações com 15 dias de cultivo (Tabela 2). Não houve ocorrência de mortalidade, mas as plântulas do tratamento 1 (50 g.L⁻¹) apresentou menor média de brotos por explante, menor porcentagem de explantes emitindo novas brotação e início de clorose em todos os indivíduos. Esse fato sugere que elevada concentração de nitrogênio (solução NPK) reage de forma fitotóxica no desenvolvimento dos explantes de cana-de-açúcar. Fráguas (2003), concluiu que concentrações superiores a 20 mg.L de uréia são tóxicas ao cultivo *in vitro* de gloxínia.



FIF

Figura 1. Explantes de cana-de-açúcar (RB932520) multiplicadas *in vitro*, submetido a diferentes tratamentos: 1- NPK 50 g.L⁻¹; 2 – NPK 25 g.L⁻¹; 3 – NPK 15 g.L⁻¹; 4 - NPK 0 g.L⁻¹; 5 – meio padrão de cana-de-açúcar (controle)

O aumento no número de brotações foi observado em certas espécies multiplicadas em meio de propagação contendo uréia (Roy et al., 1996). Em contra partida contrapartida, Kirby et al.(1987) estabeleceu meios de cultura tendo a uréia como única fonte de nitrogênio e os propágulos multiplicaram mais lentamente que os micropropagados em meios de cultura contendo nitrato e amônio.

Os resultados obtidos nesta pesquisa indicam que uma solução comercial de NPK pode substituir as formas padrões de nitrogênio que são fornecidas no meio MS sem haver prejuízo para o desenvolvimento *in vitro* de cana-de-açúcar.

Tabela 2. Média de brotos, porcentagem de brotação, média de mortalidade, média de oxidação e porcentagem de enraizamento referentes ao 8º dia de cultivo *in vitro* de cana-de-açúcar (RB932520).

Tratamento	Média de brotos	Brotação (%)	Média da mortalidade	Enraizamento (%)
1	0,50 a	33,33	1,22 a	0
2	1,00 a	66,66	1,22 a	0
3	1,41 a	66,66	1,22 a	0
4	0,41 a	41,66	1,22 a	0
5	1,00 a	66,66	1,22 a	0

Médias seguidas de mesma letra na vertical não diferem estatisticamente entre si. Teste de Tukey, a 5% de significância.

Tabela 3. Média de brotos, porcentagem de brotação, média de mortalidade, média de oxidação e porcentagem de enraizamento referentes ao 15º dia de cultivo *in vitro* de cana-de-açúcar (RB932520).

Tratamento	Média de brotos	Brotação (%)	Média da mortalidade	Enraizamento (%)
1	0,58 b	41,66	1,22 a	0
2	1,66 b	83,33	1,22 a	0
3	3,08 a	91,66	1,22 a	0
4	1,08 b	66,66	1,22 a	0
5	1,58 b	83,33	1,22 a	0

Médias seguidas de mesma letra na vertical não diferem estatisticamente entre si. Teste de Tukey, a 5% de significância.

CONCLUSÃO

Pôde-se concluir que a solução NPK é uma fonte alternativa eficientemente absorvida quando substitui as formas de nitrogênio presentes no meio MS, apresentando, aparentemente, um efeito superior na indução de novos brotos em cana-de-açúcar (RB932520) quando comparada ao meio padrão de multiplicação de cana-de-açúcar.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

FRÁGUAS, B. C. et al. **MICROPROAGAÇÃO DE GLOXÍNIA EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE NITRATO DE AMÔNIO E URÉIA**. Ciênc. agrotec., Lavras. V.27, n.4, p.811-815, jul./ago., 2003.

GONZALES, M.L. et al. *In vitro* micropropagation and long-term conservation of the endangered moss *Splachnum ampullaceum*. **Biologia Plantarum**, 2005.

IEA, **Low Cost options for tissue culture technology in developing countries**, Viena 2004.

KIRBY, E. G.; LEUSTEK, T.; LEE, M. S. Nitrogen Nutrition. In: BONGA, J. M.; DURZAN, D. J. (Eds.). **Cell and Tissue Culture in Forestry**. Dordrecht: Martinus Nijhoff, 1987. v. 1, p. 67-88.

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.

ROY, P. K.; RAHMAN, M. M.; ROY, S. K. Clonal propagation of *Syzygium cumini* L. through *in vitro* culture. **Bangladesh Journal of Botany**, Bangladesh, v. 25, n. 2, p. 159-164, 1996.

PALAVRAS-CHAVE

Saccharum officinarum, cultivo *in vitro*, baixo-custo, fontes de nitrogênio.