

Assepsia de brotações de *Pinus tecunumanii* e *Pinus maximinoi* mantidos em casa-de-vegetação para estabelecimento de material no cultivo *in vitro*

Andressa Bill de Carvalho

Graduanda em Tecnologia em Bioprocessos e Biotecnologia, Universidade Tuiuti do Paraná

Juliana Degenhardt-Goldbach

Engenheira-agrônoma, Doutora, Pesquisadora da Embrapa Florestas,

juliana.degenhardt@embrapa.br

O gênero *Pinus* engloba mais de 100 espécies com madeira de excelente qualidade para diversas finalidades. No Brasil, várias espécies vêm sendo plantadas há mais de um século. Porém, sementes de alta qualidade genética ainda não estão disponíveis em quantidade suficiente para atender a demanda, principalmente das espécies de maior valor econômico. A cultura de tecidos é uma aliada na propagação vegetativa de materiais selecionados em programas de melhoramento genético de espécies florestais. Este experimento teve por objetivo desenvolver um protocolo de assepsia para as espécies *P. tecunumanii* e *P. maximinoi* para o estabelecimento *in vitro* do material. Foram utilizados como explantes brotações apicais de plantas de 2 anos das duas espécies mantidas em casa-de-vegetação. No laboratório, sob condições assépticas foram retiradas 60% das acículas e as brotações foram cortadas em segmentos de aproximadamente 3 cm. Para a assepsia, foram testados três tratamentos: T1 - imersão em 0,05% cloreto de mercúrio por 10 minutos; T2 – 0,1% cloreto de mercúrio por 5 minutos e T3 - 0,1% cloreto de mercúrio por 10 minutos. Em seguida, os explantes foram imersos em 0,5% hipoclorito de sódio acrescido de 0,1% tween 20, seguidos de lavagem tripla com água destilada e autoclavada. Os explantes foram inoculados em tubos contendo meio de cultura WV5 acrescido de 20 gL⁻¹ de sacarose, 7 gL⁻¹ de ágar com pH ajustado para 5,8. Foram utilizadas 75 repetições por tratamento. Os tratamentos foram eficientes no controle de contaminação por bactérias para as duas espécies. Para *P. tecunumanii*, observou-se que T1 possibilitou a eliminação quase total dos fungos, com baixa oxidação (16%), possibilitando 90% de estabelecimento dos explantes. Nos tratamentos com maior concentração do cloreto de mercúrio houve controle eficiente de fungos, mas a oxidação dos explantes foi de 25%. Para *P. maximinoi*, embora a contaminação por fungos tenha sido controlada (máximo de 15%), a perda por oxidação chegou a 35% na maior concentração do cloreto de mercúrio. No tratamento T1 foi possível o estabelecimento de 80% dos explantes. A assepsia com menor concentração de cloreto de mercúrio pode ser considerada eficiente na assepsia para estabelecimento *in vitro* das duas espécies.

Palavras-chave: introdução *in vitro*; cloreto de mercúrio; hipoclorito de sódio.

Apoio/financiamento: Embrapa.