



# simpósio estadual de AGROENERGIA

V reunião técnica de agroenergia - RS

## ESTABELECIMENTO *IN VITRO* DE CANA-DE-AÇÚCAR.

Paulo Sérgio Gomes da Rocha<sup>1</sup>; Antonio Sergio do Amaral<sup>1</sup>; Amito José Teixeira<sup>1</sup>, Mayara Luana Coser Zonin<sup>2</sup>; Sergio Delmar dos Anjos<sup>3</sup>.

### INTRODUÇÃO

O estabelecimento *in vitro* é uma das fases da micropropagação que tem como objetivo estabelecer *in vitro* os explantes para os subseqüentes experimentos de multiplicação, enraizamento ou produção de mudas. Um dos principais problemas desta fase de cultivo é a contaminação dos explantes por diversos microrganismos (fungos, bactérias e vírus), principalmente as contaminações causadas por fungos e bactérias endógenas, que sendo de crescimento lento, se difundem sobre os explantes após o material estar estabelecido ou em fase de multiplicação (COUTO et al., 2004).

Outro fator que pode dificultar a fase de estabelecimento é a oxidação dos explantes, ou seja, a liberação dos compostos fenólicos no meio de cultura, através das células lesionadas pelo corte. Em alguns casos, além do escurecimento provocado no meio de cultura, tais compostos podem causar toxidez, inibir o crescimento e ocasionar a morte do explante (GRATTAPAGLIA; MACHADO, 1998). Algumas técnicas podem ser utilizadas eficientemente no controle da oxidação, entre estas se destaca o uso de substâncias anti-oxidantes como ácido ascórbico, carvão ativado, formulação de meio de cultura mais diluído e o cultivo dos explantes no escuro por um período máximo de uma semana. Entretanto, o uso de carvão ativado no meio de cultura poderá dificultar a identificação de contaminação causada por bactéria (SILVA, 2003).

Dentre as diversas variedades de cana-de-açúcar utilizadas, a RB925345 destaca-se por possuir elevada produtividade agrícola com alta estabilidade de toneladas de colmo por hectare (TCH), crescimento rápido e hábito ereto. Em relação à suscetibilidade a doenças, apresenta suscetibilidade ao carvão (*Sporisorium scitamineum*), especialmente em ambientes desfavoráveis e moderada suscetibilidade a estrias vermelhas (*Acidovorax avenae* subsp. *avenae*) em ambiente de alta fertilidade.

---

<sup>1</sup> Eng. Agr., Dr. Professor do curso de Agronomia/ URI- Campus Erechim. E-mail: rocha@uricer.edu.br

<sup>2</sup> Acadêmico de Agronomia/URI-Campus Erechim. E-mail: giovani\_bols@hotmail.com

<sup>3</sup> Eng. Agr., Dr. Pesquisador/Embrapa Clima Temperado. E-mail: sergio.anjos@cpact.embrapa.br



# simpósio estadual de AGROENERGIA

V reunião técnica de agroenergia - RS

O presente trabalho teve como objetivo avaliar a porcentagem de contaminação na fase de estabelecimento *in vitro* da cana-de-açúcar variedade RB925345.

## MATERIAL E MÉTODOS

Para estabelecimento *in vitro* foram usadas ápice caulinar com aproximadamente 2 cm retirados de cana-de-açúcar com 10 meses de idade (Figura 1). Para a desinfestação dos explantes de cana-de-açúcar foi utilizado álcool 70 %, por 30 s, em seguida os materiais vegetais foram colocados em um Becker contendo solução de hipoclorito 1,5 % por 15 min. Após, realizou-se o tríplice enxague com água destilada autoclavada (Figura 2).

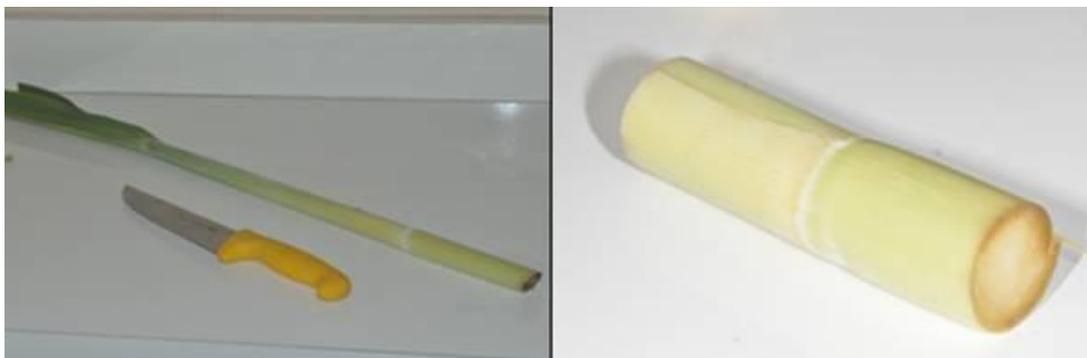


Figura 1. Segmento retirados da planta matriz de cana-de-açúcar para extração do ápice caulinar, ano. Local/RS.



Figura 2. Aspecto dos explantes submetidos à desinfestação e retirada do ápice caulinar

Os explantes foram inoculados em frascos 40 mL de meio de cultura MS e  $\frac{3}{4}$  MS



# simpósio estadual de AGROENERGIA

V reunião técnica de agroenergia - RS

(MURASHIGE & SKOOG, 1962), suplementado com  $30 \text{ g L}^{-1}$  de sacarose,  $100 \text{ mg L}^{-1}$  de mio-inositol e o pH foi ajustado para 5,8 antes da adição de  $7,0 \text{ g L}^{-1}$  de ágar. Os frascos com o meio de cultura foram previamente esterilizados em autoclave durante 20 min a  $120 \text{ }^\circ\text{C}$ . Após a inoculação dos explantes, o material foi colocado em ambiente escuro com temperatura de  $25 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ , por sete dias. Passado esse tempo, o material foi transferido para sala de crescimento com 16 h de fotoperíodo, com fluxo de fótons de  $25 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  e mesma temperatura. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado com 20 repetições por tratamento, sendo a unidade experimental, em cada repetição, composta um tubos de ensaio contendo um explante sobre 8 mL de meio de cultura MS. As variáveis analisadas ao final de 45 dias de cultivo foram: percentagem de contaminação (bacteriana e fúngica), percentagem de estabelecimento, tamanho médio da brotação formada e percentagem de oxidação.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A percentagem de estabelecimento *in vitro* da cana-de-açúcar pode ser considerada adequada, pois foram obtidos 96,5 % de explantes estabelecidos (Figura 3 e Tabela 1). Quanto a concentração dos sais do meio de cultura não houve diferença para as variáveis avaliadas. Em relação a percentagem de contaminação, não se verificou contaminação por bactéria. Já, a contaminação causada por fungos alcançou 3,5% dos explantes, podendo ser considerada baixa (Figura 3 e Tabela 1). Isto possibilita inferir que a concentração de hipoclorito de sódio (1,5 %) associada ao tempo de 15 min são adequados para a desinfestação dos segmentos de cana-de-açúcar para o isolamento do ápice caulinar.

Em relação a percentagem de oxidação dos explantes, esta foi nula. De modo geral, a oxidação dos explantes durante a fase de estabelecimento *in vitro* está relacionada com as espécies vegetais e também com o tamanho do explante, pois quanto menor o explante maior será a probabilidade de oxidação.



# simpósio estadual de AGROENERGIA

V reunião técnica de agroenergia - RS

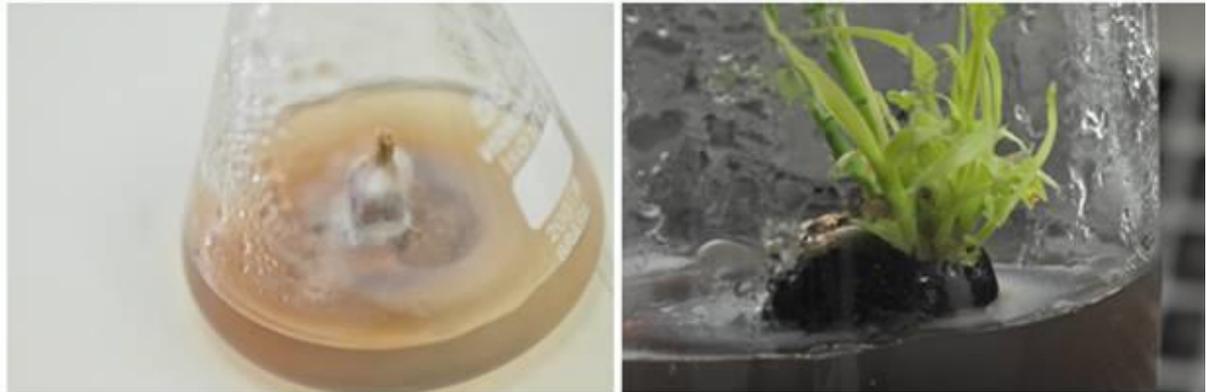


Figura 3. Aspecto do explante de cana-de-açúcar variedade RB925345 contaminada por fungo e brotações formadas a partir de ápice caulinar em meio MS.

## CONCLUSÃO

**Tabela 1** – Porcentagem de estabelecimento, contaminação (fúngica e bacteriana) e oxidação em explantes de cana-de-açúcar variedade RB925345 cultivado em meio MS e  $\frac{3}{4}$  MS.

Variáveis avaliadas	Tipo de meio de cultura		Média (%)
	MS	MS $\frac{3}{4}$	
% Contaminação bacteriana	0,0a	0,0a	0,0
% Contaminação fúngica	3,8a	3,1a	3,5
% Oxidação	0,0a	0,0a	0,00
% Estabelecimento	96,1a	96,9a	96,5

\*Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem significativamente pelo teste de Duncan ao nível de 5% de probabilidade.

## CONCLUSÕES

Para as condições usadas no presente trabalho, a porcentagem de contaminação pode ser considerada baixa, pois a mesma foi inferior a 5 %.

## REFERÊNCIAS

COUTO, M.; OLIVEIRA, R.P.; FORTES, G.R.L. Multiplicação *in vitro* dos porta-enxertos de *Prunus* sp. ‘Barrier’ e ‘Cadman’. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.26, n.1, p.5-7, 2004.

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M.A. Micropropagação. In: TORRES, A.C.; CALDAS, L.S.; BUSO, J.A. **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: Embrapa – SPI / Embrapa – CNPH, 1998. v.1, p.183–260.



# simpósio estadual de AGROENERGIA

V reunião técnica de agroenergia - RS

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

SILVA, A.L.; ROGALSK, M.; MORAES, L.K.A.; FESBILINO, C; CRESTANI, L.; GUERRA, M.P. Estabelecimento e multiplicação *in vitro* de porta-enxertos de *Prunus* sp. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.25, n.2, p.297-300, 2003.

SILVA, S.D.A.; GOMES, C.B.; UENO, B.; NAVA, D.E.; ALMEIDA, I.R.; THEISEN, G.; DUTRA, L.F.; VERISSIMO, M.A.A. **Recomendação de variedades de cana-de-açúcar para o estado do Rio Grande do Sul**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2012. 22p. (Comunicado Técnico, 292).