

DESINFESTAÇÃO SUPERFICIAL *in vitro* DE MICROESTACAS DE *Eucalyptus benthamii*¹

Ana Maria de Melo Pereira², Marcio Carlos Navroski³, Mariane de Oliveira Pereira⁴

¹ Vinculado ao projeto “Produção de miniestacas de *Eucalyptus* spp em resposta a suplementação de diferentes composições de luz LED (Light Emitting Diodes)”

² Acadêmica do Curso de Engenharia Florestal – CAV – Bolsista PIBIC/CNPq

³ Orientador, Departamento de Engenharia Florestal – CAV – marcio.navroski@udesc.br

⁴ Pesquisadora do Departamento de Engenharia Florestal – CAV

O setor florestal brasileiro tem sido destaque em nível mundial, sendo o gênero *Eucalyptus* um grande contribuidor em plantios florestais comerciais que visam a produção de papel, celulose, madeira e carvão, por apresentar crescimento rápido e ter se adaptado bem as condições edafoclimáticas do país. A cultura de tecidos tem se apresentado como uma das principais técnicas de propagação vegetativa, tendo importância as medidas de controle e prevenção de contaminação. Diversas técnicas e protocolos de micropropagação foram desenvolvidos para cultura de tecidos de eucalipto. Apesar dos avanços, a micropropagação de eucalipto tem encontrado sucesso e aplicabilidade limitados. Isso se deve à falta de estudos focados nos mecanismos, estratégias e interações de fatores internos e externos em condições *in vitro*.

O presente estudo teve como objetivo testar o estabelecimento inicial *in vitro* de *Eucalyptus benthamii* em função do grau de lignificação e diferentes concentrações de NaOCl na desinfestação superficial.

O material vegetal utilizado no experimento foi coletado de minicepas de *Eucalyptus benthamii* mantidas em vasos no Viveiro Florestal da UDESC. A coleta foi realizada em duas porções dos ramos, sendo uma porção mais basal, considerada mais lignificada e outra da porção mais apical, menos lignificada. Após a coleta das brotações, estas foram transportadas até o Laboratório de Propagação e Melhoramento Florestal e transformadas em microestacas de 2,0 a 2,5 cm as quais foram lavadas em água corrente, por cerca de 10 minutos, para promover lixiviação de substâncias fenólicas e a redução de contaminantes superficiais. Após esta limpeza inicial, as estacas foram submersas em álcool 70% por 30 segundos, a seguir, enxaguadas com água estéril por duas vezes. Na sequência, as microestacas foram imersas em solução de 1,0% de NaOCl por 5, 10, 15, 20 e 25 minutos (tratamentos) sob agitação constante, e novamente realizada lavagem tripla.

As microestacas foram inoculadas em frascos de vidro de 150 ml de capacidade, contendo 30 ml do meio de cultura MS (Murashige e Skoog) suplementado com 4,5 g L⁻¹ de ágar e 30 g L⁻¹ de sacarose e 800 mg L⁻¹ de PVP. Após os frascos foram mantidos em sala de cultivo com temperatura de 23°C ±2 °C, fotoperíodo de 16 horas e intensidade luminosa de 20 μmol m⁻² s⁻¹ fornecida por lâmpadas fluorescentes de cores branca.

Aos 23 dias após inoculação, foi realizada avaliação de porcentagem de oxidação fenólica e contaminação fúngica ou bacteriana. O experimento foi realizado em DIC, usando 8 repetições de 3 microestacas cada. O esquema adotado foi bifatorial 2 x 5, sendo dois graus de lignificação

(basal e apical) e 5 tempos de exposição ao NaOCl (1%).

Após testar a normalidade dos dados por meio do teste de Kolmogorov-Smirnov os dados foram submetidos à análise de variância. Quando o valor de “F” foi significativo, dados de tratamentos qualitativos tiveram as médias comparadas por meio do teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade de erro. O programa estatístico SISVAR foi utilizado para a análise estatística dos dados.

Não houve interação entre os fatores posição de coleta e tempo de exposição ao NaOCl. Da mesma forma, não houve diferença significativa entre os tratamentos nas posições de coleta. Porém, houve diferença entre os tempos de exposição ao NaOCl para a variável oxidação (%). Para a parte apical e basal, a porcentagem de contaminação foi de 100%, já para porcentagem de oxidação na parte apical os melhores tratamentos foram tempo de 5 min e 10 min com 25%, e para porção basal o tratamento de 10 min foi o menos oxidado com 25% (Figura 1).

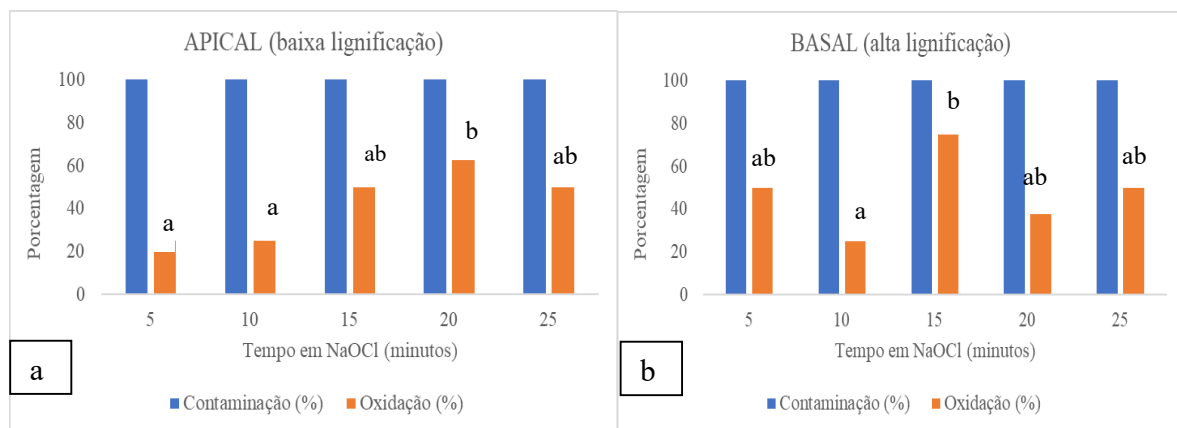


Figura 1. Porcentagem de contaminação e oxidação em microestacas apicais (a) e basais (b) de *Eucalyptus benthamii* submetidas a diferentes tempos de imersão em NaOCl. * Médias seguidas pela mesma letra não diferem pelo teste de Tukey a 5% de erro. Comparação somente para a variável oxidação (%).

A etapa de introdução de material vegetal em condições *in vitro* é complexa devido aos altos percentuais de contaminação pela proliferação de bactérias e fungos, difíceis de serem eliminados. O uso de substâncias desinfestantes como etanol, hipoclorito de sódio e de cálcio, peróxido de hidrogênio, ácido clorídrico, ácido sulfúrico são relatados como eficientes na descontaminação de diferentes explantes de espécies vegetais. Contudo, no presente estudo obteve-se contaminação total dos explantes, necessitando dessa forma adequação do protocolo de desinfestação. Além disso, protocolos de desinfestação prévia no material de coleta, como aplicação de fungicida.

Palavras – chave: Recalcitrância *in vitro*. Micropropagação. Hipoclorito de sódio.