

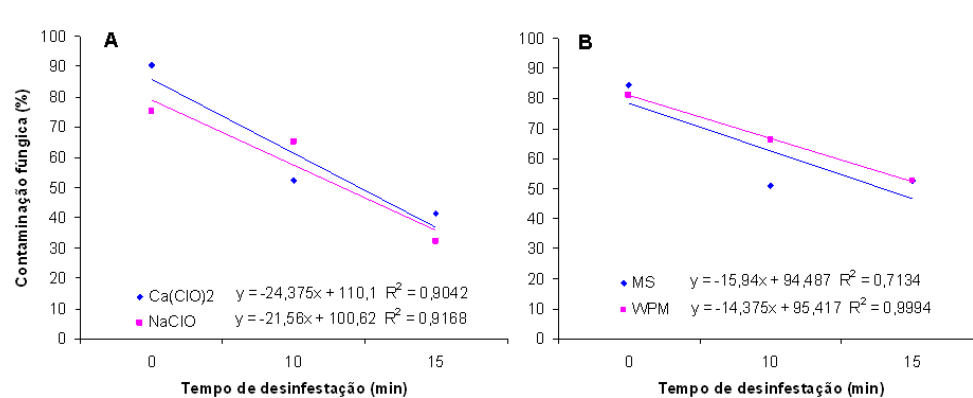


determinados, adicionados de Tween 20. Após a desinfestação o material foi lavado em água estéril por três vezes. Os tratamentos constituíram-se de dois tipos de desinfestantes a 2,5% (hipoclorito de sódio – NaClO e hipoclorito de cálcio  $\text{Ca}(\text{ClO})_2$ ), três tempos de exposição ao desinfestante (0, 10 e 15 minutos) e dois meio de cultura: MS (Murashige & Skoog, 1962) e WPM (Lloyd & McCown, 1980) totalizando 12 tratamentos. Cada tratamento constituiu-se de quatro repetições de 10 explantes cada, inoculados em tubos de ensaio contendo 5 mL de meio de cultura. Em ambos os meios de cultura adicionou-se mio-inositol ( $100 \text{ mg L}^{-1}$ ), sacarose ( $30 \text{ g L}^{-1}$ ). O pH foi ajustado para 5,8 antes da inclusão do ágar ( $7 \text{ g L}^{-1}$ ). Os meios de cultura foram posteriormente autoclavados a  $121^\circ\text{C}$  e 1,5 atm por 20 minutos. Após a inoculação, os explantes foram mantidos na condição de escuro por sete dias sendo então transferidos para sala de crescimento com intensidade luminosa de  $27 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ , fotoperíodo de 16 horas e temperatura de  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ .

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com fatorial  $2 \times 3 \times 2$ . As avaliações foram realizadas aos 7, 14, 21 e 45 dias. As variáveis analisadas foram porcentagem de contaminação fúngica, porcentagem de contaminação bacteriana a porcentagem de explantes oxidados e ao final de 45 dias de cultivo avaliou-se o número médio de folhas e o número médio e comprimento das brotações. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias dos tratamentos comparadas estatisticamente pelo teste de Duncan ( $P < 0,05$ ). O número de folhas e de brotações foram transformados em raiz quadrada de  $x+0,5$ , onde  $\bar{x}$  foi o valor obtido. Os dados de porcentagem foram transformados em arco seno da raiz quadrada de  $x/100$ .

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

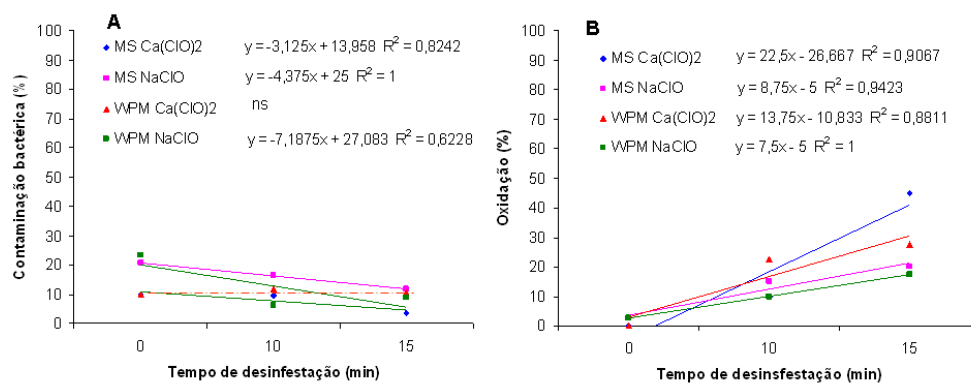
A porcentagem de contaminação fúngica foi dependente do tipo e do tempo de exposição ao desinfestante (Fig. 1A) e do meio de cultura e tempo de exposição ao desinfestante (Fig. 1B). Observou-se um comportamento linear decrescente da contaminação fúngica com o aumento do tempo de exposição ao desinfestante.



**Figura 1.** (A) Porcentagem de contaminação fúngica em função do tipo e do tempo de exposição ao desinfestante e (B) Porcentagem de contaminação fúngica em função do meio de cultura e do tempo de exposição ao desinfestante. FAEM/UFPEL, Pelotas, 2008.

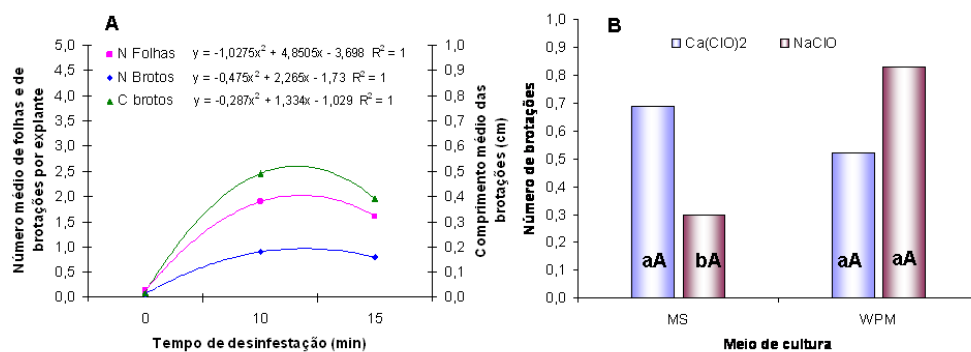
A contaminação bacteriana foi dependente do tipo de desinfestante, do tempo de exposição ao desinfestante e do meio de cultura. Exceto para

explantos tratados com hipoclorito de cálcio e cultivados em meio WPM, nos demais tratamentos, o aumento do tempo de exposição ao desinfestante, reduziu a porcentagem de contaminação bacteriana (Fig. 2A). O cloro, principal componente do hipoclorito, quando liberado em meio aquoso atua na inibição enzimática via desnaturação protéica e inativação de ácidos nucleicos, o que de acordo com Pasqual et AL. (2002), por inativar enzimas e agir como oxidante, tem ação bactericida, porém, apresenta baixa eficiência contra esporos. O efeito oxidativo do hipoclorito foi observado na porcentagem de oxidação (Fig. 2B), a qual aumenta linearmente com o aumento do tempo de exposição ao desinfestante. Nesta variável, ocorreu uma interação tripla entre os fatores estudados, sendo verificado em ambos os meios de cultura oxidação mais acentuada em explantes desinfestados com hipoclorito de cálcio por 15 minutos. Independentemente do tipo de hipoclorito (cálcio ou de sódio), sabe-se que, ambos, em solução aquosa produzem ácido hipocloroso, o qual tem como característica, elevado poder oxidante, explicando desta forma os resultados obtidos nesta variável.



**Figura 2.** (A) Porcentagem de contaminação bacteriana em função do meio de cultura, desinfestante e do tempo de exposição ao desinfestante e (B) porcentagem de oxidação em função do meio de cultura, desinfestante e do tempo de exposição ao desinfestante. FAEM/UFPEL, Pelotas, 2008.

Para número de folhas, brotações e comprimento das brotações, observou-se um efeito isolado do tempo de exposição ao desinfestante, obtendo-se resultados superiores em explantes desinfestados por 10 minutos, porém este não estatisticamente de 15 minutos (Fig. 3A).



**Figura 3. (A)** Número médio de folhas, brotações e comprimento das brotações em função do tempo de exposição ao desinfestante e **(B)** Número médio de brotações em função do tipo de meio e desinfestante.

Letras distintas (minúsculas comparam meio de cultura em cada desinfestante e maiúsculas comparam desinfestante em cada meio de cultura) diferem entre si pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade de erro. FAEM/UFPEL, Pelotas, 2008.

O efeito positivo da desinfestação por 10 minutos também foi verificado em abacaxizeiro por Moraes et al. (2007) e em marmeleiro por Bianchi et al. (2003). Os mesmos autores verificaram que a desinfestação por 10 minutos utilizando hipoclorito de sódio a 2%, proporciona maior sobrevivência de gemas. O número de brotações (Fig. 3B) apresentou interação significativa entre o tipo de desinfestante e o meio de cultivo utilizado. Explantes desinfestados com hipoclorito de sódio e cultivados em meio MS apresentaram o menor número de brotações, enquanto que o maior número foi verificado em meio WPM e em explantes desinfestados com hipoclorito de sódio, porém este não diferiu estatisticamente do hipoclorito de cálcio.

#### 4. CONCLUSÃO

Concluí-se que a desinfestação por 15 minutos é mais eficiente no controle da contaminação fúngica e bacteriana e não interfere no desenvolvimento das folhas, gemas e brotações.

Aconselha-se a desinfestação com hipoclorito de sódio, por apresentar menor oxidação e como meio de cultura WPM, por promover maior número de brotações.

#### 5. AGRADECIMENTOS

Este trabalho foi desenvolvido com o apoio do Ministério da Ciência e Tecnologia; Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico; Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul.

#### 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDRADE, R.N.B.; FERREIRA, A.G. Germinação e armazenamento de sementes de uvaia (*Eugenia pyriformis* Camb.) - Myrtaceae. **Revista Brasileira de Sementes**, São Paulo, v.22, n.2, p.118-125, 2000.
- BIANCHI, V.J.; CHAVES, A. da C.; SCHUCH, M.W.; FACHINELLO, J.C. Estabelecimento *in vitro* de marmeleiro: efeito do tipo de explante e tempo de imersão em hipoclorito de sódio. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v.9, n.2, p.177-179, 2003.
- FRANZON, R. Frutíferas Nativas do Sul do Brasil. In: II SIMPÓSIO NACIONAL DO MORANGO E I ENCONTRO DE PEQUENAS FRUTAS E FRUTAS NATIVAS DO MERCOSUL. **Palestras ...** Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2004. p.252-265. (Embrapa Clima Temperado. Documentos, 124).
- JUSTO, C.F., ALVARENGA, A.A. DE, ALVES, E., GUIMARÃES, R.M., STRASSBURG, R.C. Efeito da secagem, do armazenamento e da germinação sobre a micromorfologia de sementes de *Eugenia pyriformis* Camb. **Acta Botânica Brasílica**, São Paulo, v.21, n.3, p.539-551, 2007.
- LLOYD, G.; McCOWN, B. Commercially feasible micropropagation of mountain laurel (*Kalmia latifolia*) by use of shoot-tip culture. **Proceedings of the International Plant Propagation Society**, Seattle, v.30, p.421-427, 1980.

MORAES, A. M. DE; ALMEIDA, F. DE A.C.; CAZÉ FILHO, J. Desinfestação e estabelecimento *in vitro* de gemas axilares de abacaxizeiro. **Tecnologia & Ciência Agropecuária**, João Pessoa, v.1, n.2, p.39-44, 2007.

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

PASQUAL, M., MACIEL, A. L. DE R., CAMPOS, K.P. DE, SANTOS, E.C., CAMPOS, R.J. C. DE Indução de calos em anteras de café (*Coffea arabica* L.) cultivadas *in vitro*. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.26, n.1, p.71-76, 2002.