



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PAMPA
CAMPUS ITAQUI
CURSO DE GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**

**ESTERILIZAÇÃO QUÍMICA COMO ALTERNATIVA À
AUTOCLAVAGEM NO CULTIVO *IN VITRO* DE
BATATA (*Solanum tuberosum* L.)**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

Luciano William do Carmo

Itaqui, RS, Brasil

2011

**ESTERILIZAÇÃO QUÍMICA COMO ALTERNATIVA À
AUTOCLAVAGEM NO CULTIVO *IN VITRO* DE
BATATA (*Solanum tuberosum* L.)**

por

Luciano William do Carmo

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Graduação em Agronomia, Área de Concentração em Cultura de Tecidos, da Universidade Federal do Pampa (Unipampa, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de **Engenheiro Agrônomo**.

Orientador: Clevison Luiz Giacobbo

Co-orientador: Leonardo Ferreira Dutra

Itaqui, RS, Brasil

2011

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PAMPA
CAMPUS ITAQUI
CURSO DE GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

A Comissão Examinadora, abaixo assinada, aprova o Trabalho de
Conclusão de Curso

**ESTERILIZAÇÃO QUÍMICA COMO ALTERNATIVA À
AUTOCLAVAGEM NO CULTIVO *IN VITRO* DE BATATA (*Solanum
tuberosum* L.)**

elaborado por
Luciano William do Carmo (a)

como requisito parcial para obtenção do grau de
Engenheiro Agrônomo

COMISSÃO EXAMINADORA:

Prof. Dr Clevison Luiz Giacobbo
nome
(Presidente/Orientador)

Prof. Dr Leocir José Welter
nome

Prof. Dr^a Luciana Zago Ethur
nome

Itaqui , 29 de junho de 2011.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus pela fé e força para enfrentar as adversidades, à minha mãe pelo incansável apoio e incentivo em todos os momentos, sempre me ajudando, para que pudesse realizar o curso. Agradeço a todos os meus colegas e professores que transmitiram seu conhecimento. Ao professor orientador do Trabalho de Conclusão de Curso Clevison Luiz Giacobbo e ao professor co-orientador do Trabalho de Conclusão de Curso Leonardo Ferreira Dutra. Às bolsistas Kerley Cristina de Assis Mayer, Lorena Pastorini Donini e Natália Dias Gomes da Silva aos funcionários Antonio Fernando Pacheco Nino, Francisco Osmi Xavier da Silva, Francisco Carlos Budjarck Vieira pelos conhecimentos, atenção, disponibilidade e dedicação durante a realização do referido trabalho e a todos aqueles que convivi durante a realização desse trabalho.

RESUMO

Trabalho de Conclusão de Curso
Curso de Graduação em Agronomia
Universidade Federal do Pampa

ESTERILIZAÇÃO QUÍMICA COMO ALTERNATIVA À AUTOCLAVAGEM NO CULTIVO *IN VITRO* DE BATATA (*Solanum tuberosum* L.)

Autor: Luciano William do Carmo

Orientador: Clevison Luiz Giacobbo

Co-orientador: Leonardo Ferreira Dutra

Data: Itaqui, 29 de junho de 2011.

A micropropagação de plantas possui várias aplicações de importância agrônômica. Como a produção de mudas de alta qualidade sanitária e geneticamente idênticas a planta mãe. Através do isolamento de meristemas se obtém plantas que tem desenvolvimento mais uniforme e principalmente livres de viroses. Por se tratar de cultivo sob condições assépticas, as atividades de obtenção de mudas através da micropropagação exigem elevada quantidade de equipamentos e utensílios, que necessitam ser esterilizados por meio do processo de autoclavagem, com o uso de autoclave (equipamento esse que produz calor seco ou úmido a uma pressão de 1,05 Kg/cm², temperatura de 121°C), o que demanda tempo e custos. É um processo oneroso, devido ao elevado consumo de energia e água, além disso, pode causar a decomposição de componentes do meio de cultura, como por exemplo, a sacarose e alterar o pH do meio. O objetivo desse trabalho foi avaliar a eficiência do hipoclorito de sódio no controle da contaminação no cultivo *in vitro* da batata, adicionado junto ao meio de cultura. Foram realizados 3 tratamentos utilizando o NaOCl (hipoclorito de sódio) no meio de cultura em diferentes concentrações (0,001%, 0,003% e 0,005%), testemunha (sem autoclavagem) e meio de cultura autoclavado, totalizando 5 tratamentos. Após 30 dias do início do experimento, constatou-se que o tratamento testemunha e o com o meio autoclavado obtiveram 5% e 10% de explantes mortos. O tratamento com concentração de 0,001% obteve menor porcentagem de explantes mortos 15%. Já os tratamentos com 0,003% e 0,005% de NaOCl tiveram respectivamente 20% e 30% de explantes mortos. Em todos os tratamentos os explantes apresentaram bom desenvolvimento de raízes e parte aérea. Não foi constatada a presença de contaminação por fungo, bactéria ou oxidação. Por fim constatou-se que a utilização do hipoclorito de sódio pode ser uma alternativa para esterilização do meio de cultura, entretanto novos estudos devem ser realizados para comprovar o uso dessa técnica.

Palavras-chave: *Solanum tuberosum*, autoclavagem, micropropagação.

**CHEMICAL STERILIZATION TO AUTOCLAVING ALTERNATIVE IN VITRO
CULTURE OF POTATO (*Solanum tuberosum* L.)**

Author: Luciano William do Carmo

Advisor: Clevison Luiz Giacobbo

Co-advisor: Leonardo Ferreira Dutra

Date: Itaqui-RS, June 20, 2011 .

Micropropagation of plants has several applications of agronomic importance, such as seedling production, high quality sanitary and genetically identical to mother plant. Through the isolation of plant meristems is obtained that is uniform and mostly free of viruses. In the case of cultivation under aseptic conditions, the activities of the seedling production through micropropagation require high quantity of equipment and utensils that need to be sterilized by means of autoclaving process using an autoclave (equipment that produces dry or humid heat and a pressure of 1.05 kg/cm², 121 ° C), which requires time and costs. It is a costly process due to the high consumption of energy and water also can cause the decomposition of components of the culture medium, for example, sucrose and change the pH. The objective of this study was to evaluate the efficiency of sodium hypochlorite to control contamination in vitro cultivation of the potato, added together to the culture medium. 3 treatments were performed using NaOCl (sodium hypochlorite) in the culture medium in different concentrations (0.001%, 0.003% and 0.005%), control (without autoclave) and culture media autoclaved, totalizing five treatments. After 30 days into the experiment it was observed that treatment with the control and the autoclaved medium obtained 5% and 10% of explants killed. While treatment with concentration of 0.001% obtained a lower percentage of killed explants 15%. Since the treatments with 0.003% and 0.005% NaOCl had respectively 20% and 30% of explants killed. In all the treatments the explants presented good development of roots and aerial part. There was observed the presence of contamination by fungus, bacteria or oxidation. Finally it was observed that the use of sodium hypochlorite can be an alternative for sterilization of culture medium, but new studies should be performed to confirm the use of this technique.

Key words: *Solanum tuberosum*, autoclaving, micropropagation

LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 1** – Autoclave do tipo horizontal equipamento utilizado para esterilização de utensílios e meio de cultura.....6
- FIGURA 2** – Clone 12-2 multiplicado em meio MS. Pelotas, Embrapa Clima Temperado, 2010.....8
- FIGURA 3** – Multiplicação de batata Clone 12-2 em meio MS com diferentes tratamentos de esterilização. Pelotas, Embrapa Clima Temperado, 2010.....9
- FIGURA 4** – Inoculação de explantes de batata CL 12-2 em meio MS na câmara de fluxo laminar. Pelotas, Embrapa Clima Temperado, 2010.10
- FIGURA 5** – Tubos de ensaio mantidos em sala de crescimento sob temperatura de $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ e intensidade luminosa de $25 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Pelotas, Embrapa Clima Temperado, 2010.....10
- FIGURA 6** – CL 12-2 multiplicado em meios de culturas com diferentes tipos de esterilização química aos 30 dias de cultivo. Pelotas, Embrapa Clima Temperado, 2010..... 12

LISTA DE TABELAS

TABELA 1. Tempo mínimo de esterilização em autoclave (121°C; 1 bar) para meios de cultura.....6

TABELA 2. Porcentagem de explantes sobreviventes do clone 12-2 de batata, em meio de cultura sob diferentes tratamentos de esterilização química..... 11

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	4
3. MATERIAL E MÉTODOS	8
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	12
5. CONCLUSÕES	13
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	14

1. INTRODUÇÃO

A batata (*Solanum tuberosum*) é originária dos Andes peruanos e bolivianos, onde é cultivada há mais de 7.000 anos. Foi introduzida na Europa antes de 1520, sendo responsável pela primeira revolução verde no velho continente. Onde os ingleses incendiavam os trigais e matavam os porcos criados pelos irlandeses, levando o povo à miséria, entretanto a batata resistia ao pisoteamento das tropas, às geadas e ficavam armazenadas no solo (PASTORINI, 2003).

No século 18 já era considerado um alimento popular naquele continente e deste, foi levado a outras regiões do mundo. Num passado recente, a expansão de seu cultivo por todo o mundo se deu principalmente a avanços tecnológicos em seu cultivo (PASTORINI, 2003). Em 1845, a requeima, doença causada pelo fungo *Phytophthora infestans*, dizimou as lavouras, e matou por inanição um milhão de pessoas na Irlanda, fazendo emigrar outros dois milhões (ABBA, 2011).

A batata é o quarto alimento mais importante produzido no mundo, com mais de 3,14 milhões de toneladas produzidas em 2006, em 149 diferentes países de todos os continentes. Hoje, os quatro maiores produtores são a China, a Rússia, a Índia e os Estados Unidos (BRADSHAWA & RAMSAY, 2009).

Esta cultura é considerada uma valiosa fonte de proteínas, aminoácidos essenciais, carboidratos, fibras, potássio e vitaminas, especialmente vitamina C, vitamina B₆, folatos e carotenóides e glicoalcalóides (ABBA, 2011; NAVARRE et. al, 2009).

A proteína presente nos tubérculos de batata é de boa qualidade e a relação entre proteínas e calorias indica que a batata é uma das melhores alternativas alimentares para os povos, tanto dos países subdesenvolvidos quanto dos desenvolvidos (ABBA, 2011). Novas pesquisas têm demonstrado propriedades promotoras de saúde em alguns glicoalcalóides, principalmente efeitos anticancerígenos.

Considerando a sua importância no cenário mundial, sobretudo com o crescimento populacional e dos problemas dele decorrentes, a FAO (Organização das Nações Unidas para a Agricultura e Alimentação) declarou 2008 como o “Ano Internacional da Batata”, realizando esse ato com o objetivo de apontar a importância desse alimento como estratégia para a segurança alimentar na redução da fome e da pobreza mundial. Nutricionistas da FAO afirmam que uma dieta composta de batata e leite poderia suprir, em caráter de emergência, todos os nutrientes de que o organismo humano precisa para se manter.

Diferentemente do que ocorre com outros alimentos, a maior parte da produção é destinada ao consumo local, favorecendo o cultivo por pequenos e médios produtores, sendo o preço final do produto relacionado apenas aos custos locais (FAO, 2008).

Segundo (ANUÁRIO DA AGRICULTURA BRASILEIRA, 2008) a previsão de produção brasileira de batata foi estimada em mais de 3,4 milhões de toneladas. Com uma área colhida de 144 mil hectares. Já o consumo médio brasileiro per capita situa-se em 13 kg/ano, enquanto europeus e norte-americanos consomem o quántuplo.

O cultivo de batata concentra-se nos estados da região sul no Paraná e Rio Grande do Sul, e na região sudeste em Minas Gerais e São Paulo. Um terço da produção nacional é mineira (AGRIANUAL, 2008).

Já as regiões nordeste e centro-oeste do Brasil apresentam menores áreas de produção de batata.

Quanto à morfologia, a batata é uma planta que possui caules aéreos e subterrâneos especializados. Os caules aéreos são herbáceos, eretos, de secção angulosa e ramificação simpodial. O tubérculo é um caule modificado que se forma na extremidade de um estolho, acumula amido como substância de reserva e possui entrenós cujas gemas se distinguem por olhos. Uma vez maduro o tubérculo possui periderme (casca), córtex, anel vascular e medula central (ALMEIDA, 2006).

A forma é geralmente redonda e oval alongada. A cor da polpa geralmente é branca ou amarela. A cor da casca varia de castanho-claro, vermelho ou violeta (ALMEIDA, 2006) dependendo da cultivar.

Para a produção de batata semente o armazenamento em galpões com luz difusa que causa o esverdeamento do tubérculo e evita o estiolamento excessivo dos brotos é uma forma alternativa de armazenamento, pois este procedimento aumenta a resistência dos tubérculos a doenças e melhora a conservação da batata-semente (FRIEDMAN & M'CDONALD, 1997).

Já a batata para consumo, no entanto, nunca deverá ser exposta a luz, visto que na batata esverdeada é comum o acúmulo da substância tóxica denominada solanina (FRIEDMAN & MCDONALD, 1997). Isso ocorre nos supermercados, onde as batatas ficam expostas à luz nas gôndolas.

2. REVISÃO DE LITERATURA

A batata é propagada vegetativamente via tubérculos semente, o que facilita a transmissão de doenças causadas por viroses. Embora este tipo de infecção normalmente não leve as plantas à morte, provocam degenerescência e causam redução de até 90% na produtividade da batata.

De acordo com DANIELS E SCHONS (2003), os danos causados pelas viroses em batata são de difícil determinação, dependendo da cultivar, do vírus ou da estirpe, das condições ambientais e de cultivo, da época e da incidência da infecção.

Um dos fatores mais limitantes da cultura da batata (*Solanum tuberosum* L.) é a sua suscetibilidade a grande número de doenças. Por ser cultura propagada vegetativamente, uma vez infectados, os tubérculos-semente levam à degenerescência da cultura com influências diretas sobre a produtividade (ASSIS, 1999; LOPES & REIFSCHNEIDER, 1999).

Se por um lado, o controle de fungos e bactérias pode ser feito por meio de produtos químicos, o mesmo não acontece com as viroses, devido à interação dos vírus com as células da planta (FORTES & PEREIRA, 2003). Como não existem métodos de cura para as viroses da batata, a sanidade somente pode ser obtida com medidas preventivas.

Neste sentido, a implantação de sistemas eficientes de produção de batata-semente isentos de patógenos é fundamental (DANIELS e SCHONS, 2003).

Uma forma de se obter material propagativo isento de viroses é o cultivo de sementes verdadeiras ou botânicas, visto que a maioria das viroses não é transmitida pelas sementes (FORTES & PEREIRA, 2003). Outra forma é o cultivo de meristemas in vitro (MARANI e PISI, 1977; RESENDE e PAIVA, 1985; BONIN, 1988).

A micropropagação ou cultura de tecidos é uma técnica de grande aplicação na agricultura, que consiste na retirada de explantes, que são pequenos fragmentos de tecido vivo isolados de um organismo vegetal, desinfestados e cultivados assepticamente em meio de cultura apropriado, por um período indefinido de tempo (TORRES et al. 2000).

A micropropagação de plantas vem sendo rotineiramente aplicada a inúmeras espécies vegetais, pela possibilidade de manutenção da identidade genética dos indivíduos, obtenção de grande número de plantas saudáveis e de alta qualidade em pequeno espaço físico e em curto espaço de tempo, independentemente da época do ano.

Por sua vez, o uso comercial da cultura de tecidos é ainda limitado, principalmente pelo elevado custo dos reagentes e equipamentos utilizados e pela baixa eficiência no desenvolvimento e multiplicação de algumas espécies (ZIV, 1995; KOZAY et al., 1997; GUERRA et al., 1999).

Em relação à cultura da batata (*Solanum tuberosum* L.), a micropropagação vem sendo amplamente utilizada, especialmente na produção de material propagativo com elevada qualidade fitossanitária, o que tem proporcionado benefícios diretos aos produtores, pelo conseqüente aumento nos níveis de produtividade da cultura (ASSIS, 1999).

O objetivo da micropropagação é obter uma nova planta idêntica a original, ou seja, é realizada a clonagem vegetal, que é definida como uma propagação assexuada de células ou organismos, resultando em um novo indivíduo idêntico ao que lhe deu origem (TORRES et al. 2000) Figura 1.

O método de autoclavagem é, geralmente, utilizado em laboratórios para esterilização de equipamentos, instrumentos, vidrarias e meios de cultura. Entretanto, além de uma operação dispendiosa e de alto custo, esta provoca a degradação de alguns componentes do meio de cultura, como a sacarose, alguns reguladores de crescimento, além de alterar o pH do meio (RIBEIRO; TEIXEIRA, 2008).



Figura 1. Autoclave do tipo horizontal equipamento utilizado para esterilização de utensílios e meio de cultura. Pelotas, Embrapa Clima Temperado, 2010.

A substituição desta técnica por alguma outra, que diminua o tempo de esterilização e que não degrade os componentes do meio de cultura, como a sacarose, os reguladores de crescimento, as substâncias orgânicas termolábeis, e que não altere o pH (STREET & LOWE, 1950; BALL, 1953), são uma alternativa de grande importância na cultura de tecidos, reduzindo assim os custos do processo.

Uma alternativa à técnica de autoclavagem é a esterilização química pela adição de hipoclorito de sódio (NaOCl) no meio de cultura e o uso do mesmo na desinfestação dos utensílios utilizados na preparação e armazenamento dos meios (TEIXEIRA et al., 2008).

Tabela 1. Tempo mínimo de esterilização em autoclave (121°C; 1 bar) para meios de cultura.

Volume do recipiente (ml)	Tempo mínimo de autoclavagem (min)	Volume do meio por recipiente (ml)	Tempo mínimo de autoclavagem (ml)
25	20	500	35
50	25	1000	40
100	28	2000	48
250	31	4000	63

Trabalhos utilizando esterilizantes químicos têm demonstrado a viabilidade do emprego desta técnica em *Ananas comosus* L. (TEIXEIRA et al., 2006), *Eucalyptus pellita* L. (TEIXEIRA et al., 2008) e *Anthurium andraeanum* (CARDOSO, 2009) morangueiro (DUTRA et al., 2010) e amoreira-preta (SILVA et al., 2010).

Com isso o objetivo desse trabalho foi avaliar a eficiência da técnica de esterilização química com adição do hipoclorito de sódio no controle da contaminação no cultivo in vitro da batata, em substituição à autoclavagem.

3. MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho foi realizado no Laboratório de Cultura de Tecidos, na Embrapa Clima Temperado, Pelotas-RS. Utilizou-se o clone 12-2 como material propagativo de batata que se encontrava sob multiplicação em meio de cultura MS (MURASHIGE & SKOOG, 1962); composto de 100 mgL^{-1} de mio-inositol, 30 gL^{-1} de sacarose e 6 gL^{-1} de ágar, com pH ajustado para $5,8 \pm 0,1$ antes da adição do ágar e autoclavagem.

O material estava acondicionado em sala de crescimento a temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, fotoperíodo de 16 horas de luz e intensidade luminosa de $25 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, fornecida por lâmpadas frias fluorescentes brancas (Figura 2).



Figura 2. Clone 12-2 multiplicado em meio MS. Pelotas, Embrapa Clima Temperado, 2010.

Inicialmente foram preparados 1,5L de meio de cultura MS, dos quais foram retirados 200ml de meio para preencher os tubos de ensaio, sendo que foram adicionados 10ml por tubo para a testemunha (sem adição de NaOCl e sem autoclavagem) e para o tratamento 2 (Autoclavado).

Para a preparação das soluções de NaOCl retirou-se 250ml de meio de cultura e calculou-se a quantidade necessária de NaOCl. O hipoclorito de sódio utilizado continha a concentração de 2% de cloro ativo.

Para calcular o volume de hipoclorito de sódio a ser adicionado junto aos meios de cultura, realizou-se regra de três simples em que 1000ml de NaOCl possuía a concentração de 2% de cloro ativo, então 250ml de meio deve conter a quantia de 0,125ml NaOCl.

Para o tratamento 3 (0,001% NaOCl), 0,375ml NaOCl de tratamento 4 (0,003% NaOCl) e 0,625ml de NaOCl para o tratamento 5(0,005% NaOCl).

Foi adicionado 10ml do meio de cultivo com a adição do hipoclorito de sódio por tubo de ensaio.

Os tratamentos foram constituídos de testemunha (sem adição de hipoclorito de sódio e sem autoclavagem), autoclavado sem adição de NaOCl, e diferentes concentrações de NaOCl 0,001%; 0,003%; 0,005%, adicionadas ao meio de cultura, totalizando 5 tratamentos.

A esterilização química das tampas e dos tubos de ensaio foi realizada com solução de hipoclorito de sódio (2% de cloro ativo).

Para facilitar a visualização dos tratamentos foram utilizadas tampas de cores diferentes aos tubos de ensaio. Tratamento 1: sem autoclavagem e sem hipoclorito de sódio (tampa branca), Tratamento 2: meio autoclavado (tampa azul), Tratamento 3: 0,001% de hipoclorito de sódio (tampa amarela), Tratamento 4: 0,003% de hipoclorito de sódio (tampa verde), Tratamento 5: 0,005% de hipoclorito de sódio (tampa vermelha) (Figura 3).



Figura 3. Multiplicação de batata Clone 12-2 em meio MS com diferentes tratamentos de esterilização. Pelotas, Embrapa Clima Temperado, 2010.

Em câmara de fluxo laminar, explantes do clone 12-2 oriundos das plantas pré-estabelecidas de batata cultivadas *in vitro*, e com aproximadamente 1 cm de tamanho foram inoculados nos tubos de ensaio, contendo os 10ml de meio de cultivo MS, conforme os respectivos tratamentos (Figura 4).



Figura 4. Inoculação de explantes de batata CL 12-2 em meio MS na câmara de fluxo laminar. Pelotas, Embrapa Clima Temperado, 2010.

Cada tratamento foi constituído de 20 repetições, onde foi utilizado delineamento inteiramente casualizado. Após a inoculação do material vegetal, os tubos de ensaio foram mantidos em sala de crescimento, com fotoperíodo de 16 horas luz, intensidade luminosa de $25 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$ (Figura 5).



Figura 5. Tubos de ensaio mantidos em sala de crescimento sob temperatura de $25^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$ e intensidade luminosa de $25 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Pelotas, Embrapa Clima Temperado, 2010.

As avaliações foram realizadas semanalmente e consistiram na verificação de contaminações fúngica, bacteriana e oxidação.

Os resultados dos dados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey à 5% de probabilidade com o auxílio do software SISVAR (FERREIRA, 2003). Tabela 2.

Tabela 2. Porcentagem de explantes sobreviventes de clone 12-2 de batata, em meios de cultura sob diferentes tratamentos de esterilização química.

Tratamentos	Explantes vivos após 30 dias (%)
Autoclavado	90,00
Sem autoclavagem	95,00
0,001% NaOCl	85,00
0,003% NaOCl	80,00
0,005% NaOCl	70,00
Média geral	84,00
CV	43,53

ns- não significativo

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Através da análise das médias pode-se observar que não houve diferenças estatísticas entre os tratamentos. Todavia constatou-se que o tratamento testemunha e o sem autoclavagem em valores absolutos apresentaram maior número de explantes sobreviventes, em que a testemunha teve 95% e o sem autoclavagem 90%. Dos tratamentos que tiveram adição de hipoclorito de sódio no meio de cultura pode-se observar que a concentração de 0,001% de NaOCl proporcionou menor número de explantes mortos com relação aos outros tratamentos em que foi adicionado NaOCl, tendo 15 % dos explantes mortos. Já os tratamentos com concentrações de 0,003% e 0,005% de NaOCl tiveram 20 % e 30 % dos explantes mortos.

Pode-se constatar ainda que em nenhum tratamento foi evidenciada a presença de contaminação por fungo, bactéria ou oxidação e que em todos os tratamentos os explantes de batata apresentaram bom desenvolvimento de raízes e parte aérea (Figura 6).



Figura 6. CI 12-2 multiplicado em meios com diferentes tipos de esterilização química aos 30 dias de cultivo. Pelotas, Embrapa Clima Temperado, 2010.

5. CONCLUSÕES

A utilização da esterilização química para desinfestação do meio de cultivo não interferiu no desenvolvimento dos explantes de batata e pode ser uma alternativa ao método de autoclavagem.

Entretanto novos trabalhos utilizando essa técnica devem ser realizados para que seja comprovada sua eficácia para que possa substituir a autoclavagem.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBA. <http://www.abbabatatabrasileira.com.br/2011/abatata.asp>, acesso em 09/03/11.

AGRIANUAL 2008. **Anuário da Agricultura Brasileira**. São Paulo, FNP Consultoria, 2007.

ASSIS, M. Novas tecnologias na propagação de batata. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 20, n. 197, p. 30-33, 1999.

BRADSHAW, J. E., RAMSAY, G. Potato Origin and Production. **Advances in Potato Chemistry and Technology**, Academic Press, San Diego, Pages 1-26. , 2009

CARDOSO, J. C. Esterilização química de meio de cultura no cultivo *in vitro* de antúrio. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 44, p. 785-788, 2009.

DOMINGOS ALMEIDA. **Manual de Culturas Hortícolas**, Vol. 2, 2006.

DUTRA, L. F.; SILVA, N. D. G. da; ASSIS, K. C. **Esterilização química no cultivo *in vitro* do morangueiro 'campinas'** Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS, Brasil V Simpósio Nacional do Morango e IV Encontro sobre Pequenas Frutas e Frutas Nativas do Mercosul 2010.

GUERRA, M. P.; DAL VESCO, L. L.; PESCADOR, R.;SCHUELTER, A. R.; NODARI, R. O. Estabelecimento de um protocolo regenerativo para a micropropagação do abacaxizeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 34, n. 9, p. 1557-1563, set. 1999.

FERREIRA, D. F. **Sisvar** – versão 4,3. DEX/UFLA. Lavras, MG, 2003.

FRIEDMAN, M.; MCDONALD, G.M. Potato glycoalkaloids: chemistry, analysis, safety, and plant physiology. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v. 16, n. 1, p. 55-132, 1997.

KOZAY, T.; KUBOTA, C.; JEONG, B. R. Environmental control for the large-scale production of plants through *in vitro* techniques. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Dordrecht, v. 51, p. 49-56, 1997.

NAVARRE, D. A., A. Goyer, R. Shakya, Nutritional Value of Potatoes: Vitamin, Phytonutrient, and Mineral Content, In: Jaspreet Singh and Lovedeep Kaur, Editor(s), **Advances in Potato Chemistry and Technology**, Academic Press, San Diego, 2009, Pages 395-424.

OLIVEIRA, R. P.; NINO, A. F. P.; SILVA, F. O. X. **Produção de mudas de amoreira-preta por meio de cultura de tecidos**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2004. 23p. (Sistemas de Produção, 6).

OLIVEIRA, R. P. de; NINO, A. F. P.; FERREIRA, L. V. **Multiplicação *in vitro* de cultivares de amoreira-preta**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2006, 7p. (Embrapa Clima Temperado. Comunicado Técnico, 154).

OLIVEIRA, R. P. de; NINO, A. F. P.; FERREIRA, L. V. Potencial de multiplicação *in vitro* de cultivares de amoreira-preta. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.30, n. 3, p. 585-589, 2008.

PASTORINI, L. H. **Produção e teor de carboidratos não estruturais em tubérculos de batata obtidos em duas épocas de plantio**. *Hortic. Bras*, 2003, Volume 21, n. 4.

RIBEIRO, J. M.; TEIXEIRA, S. L. **Esterilização química de meios nutritivos para o cultivo *in vitro* de plantas**. Petrolina: Embrapa Semi-Árido, 2008, 4p. (Embrapa Semi-Árido. Comunicado Técnico, 136).

SILVA, N. D. G. da; ASSIS, K. C., DUTRA, L. F **Esterilização química no cultivo *in vitro* de amoreira-preta 'tupy'** Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS, Brasil 2010. V Simpósio Nacional do Morango e IV Encontro sobre Pequenas Frutas e Frutas Nativas do Mercosul 2010.

TEIXEIRA, S. L.; RIBEIRO, J. M.; TEIXEIRA, M. T. Influence of NaClO on nutrient medium sterilization and on pineapple (*Ananas comosus* cv Smooth cayenne) behavior. **Plant Cell Tissue and Organ Culture**, Dordrecht, v.86, n. 3, p. 375-378, 2006.

TEIXEIRA, S. L.; RIBEIRO, J. M.; TEIXEIRA, M. T. Utilização de hipoclorito de sódio na esterilização de meio de cultura para multiplicação *in vitro* de *Eucalyptus pellita* L. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 18, n. 2, p. 185-191, 2008.

ZIV, M. The control of bioreactor environment for plant propagation in liquid culture. **Acta Horticulturae**, Wageningen, v. 393, p. 25-38, 1995.