



ASSEPSIA DE SEMENTES E ESTABELECIMENTO IN VITRO DE *Vicia faba* L.

Daniela Michelin^{1*}, Rafael André Mergener¹

¹Universidade do Oeste de Santa Catarina, Campos Novos, SC;

*E-mail para correspondência do autor expositor/apresentador:
danimichelon54@gmail.com

RESUMO: Durante o cultivo in vitro a contaminação é um dos principais problemas que podem comprometer todo o experimento, sendo necessário que o material vegetal passe por processo de assepsia antes da inoculação. Uma das formas mais comuns de realizar a assepsia é com solução de cloro ativo, todavia ainda é necessário aprimorar qual a concentração ideal dessa solução para cada espécie para que a germinação e desenvolvimento não sejam prejudicados. Nesse sentido, o objetivo desse trabalho foi testar diferentes concentrações de cloro ativo na assepsia de sementes de *Vicia faba* L. e seu efeito na germinação e desenvolvimento in vitro. O Experimento foi conduzido no laboratório de sementes da Unoesc - Campos Novos. Foi realizada assepsia das sementes com diferentes concentrações de cloro ativo (0%, 0,5%, 1%, 1,5% e 2%) durante 15 minutos. Após, as sementes foram inoculadas em meio de cultura Vacin & Went e permaneceram em sala de germinação durante 20 dias e posteriormente foram avaliados número de sementes germinadas, número de sementes contaminadas, altura de parte aérea, número de folhas, comprimento da maior raiz, número de raízes e matéria fresca. Todas as variáveis analisadas diferiram estatisticamente em função das concentrações de cloro ativo. A concentração de 1,5 % de cloro ativo apresentou as melhores respostas para as variáveis analisadas de germinação e desenvolvimento das sementes e promoveu menor percentual de contaminação.

PALAVRAS-CHAVE: Fava; Desinfestação; Germinação; Cloro ativo.

INTRODUÇÃO

Vicia faba L., conhecida como feijão fava, é uma leguminosa de ciclo anual, de estação fria, plantada no outono (BILALIS et al., 2003 apud KARKANIS et al., 2018). Uma grande barreira atualmente é a obtenção de sementes de fava livres de patógenos e que ainda tenha um alto potencial produtivo e sejam de alta qualidade. As técnicas de cultura de tecidos podem oferecer muitas soluções nos processos de desenvolvimento de cultivares e programas de melhoramento (ANDRADE, 2002). Durante o cultivo in vitro a contaminação do meio de cultura ou do material vegetal é um dos principais problemas (SOUSA et al., 2007) e assim, antes de serem inoculados os explantes precisam passar por um processo de desinfestação para eliminar os microrganismos presentes (ANDRADE, 2002). Para realizar a desinfestação das sementes, pode ser utilizada uma solução aquosa de hipoclorito de sódio (SORGATO, 2006), que pode, entretanto afetar a germinação das sementes (CARNELOSSI; LAMOUNIER; RANAL, 1995).

OBJETIVO

O presente trabalho teve por objetivo testar diferentes concentrações de cloro ativo na assepsia de sementes de *Vicia faba* L. e seu efeito na germinação e desenvolvimento in vitro.



MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no laboratório de sementes da Unoesc Campos Novos. Os tratamentos experimentais foram constituídos por soluções com diferentes concentrações de cloro ativo, sendo eles: T1: água destilada; T2: 0,5% de cloro ativo; T3: 1% de cloro ativo; T4: 1,5% de cloro ativo e T5: 2% de cloro ativo. O meio de cultura utilizado foi Vacin & Went, acrescido de 30g/L de sacarose e 7g/L de ágar, com pH 5,8. As sementes foram submetidas a assepsia em solução líquida de cloro ativo por 15 minutos. Posteriormente foram levadas para ambiente asséptico de câmara de fluxo laminar, onde a solução de hipoclorito de sódio foi descartada e as sementes passaram por 3 lavagens consecutivas em água destilada e auto clavada. Com auxílio de pinça, adicionou-se a cada frasco duas sementes. Os frascos foram acondicionados em sala de germinação com 16 horas de luz e 8 horas de escuro e temperatura controlada de $25 \pm 2^\circ\text{C}$. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com cinco tratamentos e dez repetições, onde cada frasco representou uma repetição. As avaliações foram realizadas 20 dias após a inoculação. Foram avaliadas germinação, crescimento e desenvolvimento das sementes com as seguintes variáveis: número de sementes germinadas, número de sementes contaminadas, altura de parte aérea (APA), número de folhas, (NF), comprimento da maior raiz (CMR), número de raízes (NR) e matéria fresca (MF). Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância F e, quando detectadas variações significativas, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os tratamentos assépticos contendo 1% e 1,5% de cloro ativo apresentaram os menores percentuais de contaminação por microorganismos (Tabela 1). Em relação a germinação de sementes o uso de 1,5% de cloro ativo apresentou o melhor percentual de germinação, com 88%, enquanto a testemunha apresentou menor porcentagem de germinação com 49% de sementes germinadas. PINHEIRO *et al.* (2016) constatou que o maior índice de germinação pode estar relacionado ao menor índice de incidência de fungos.

Tabela 1 - Percentual de germinação e contaminação e resultados médios de número de folhas por plântula (NF), comprimento da parte aérea (CPA), número de raízes por plântula (NR), comprimento da maior raiz (CMR) e matéria fresca por plântula (MF) de sementes de *Vicia faba* L. submetidas a assepsia com diferentes concentrações de cloro ativo 20 dias após a inoculação.

Tratamentos	Germinação (%)	Contaminação (%)	NF	CPA (cm)	NR	CMR (cm)	MF (g)
T1 (Testemunha)	49 c	71,5 b	0,66 c	1,77 b	1,28 b	0,86 d	2,05 c
T2 (0,5% de cloro ativo)	58 bc	52,5 ab	1,78 b	4,98 a	2,09 b	3,36 c	2,73 c
T3 (1% de cloro ativo)	66 abc	34 a	2,24 b	4,82 a	3,64 b	4,38 bc	4,24 b
T4 (1,5% de cloro ativo)	88 a	27 a	3,48 a	6,83 a	10,38 a	7,77 a	5,87 a
T5 (2% de cloro ativo)	78 ab	48 ab	3,38 a	5,24 a	11,00 a	6,22 ab	4,27 b
CV (%)	29,98	60,97	41,98	50,41	87,33	58,63	44,74

*Valores seguidos de letras iguais nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Fonte: O autor

Donini *et al.* (2005) relatam que o aumento na concentração de cloro ativo pode acarretar em um aumento no pH da solução desinfestante. O aumento do pH da solução utilizada para assepsia favorece o desenvolvimento dos mecanismos de defesa de bactérias, fazendo com que se desenvolvam mesmo em altas concentrações de cloro ativo (HITARA; MANCINI, 2002). Este fato explica o motivo



do tratamento com 2% de cloro ativo ter apresentado maior contaminação, que os tratamentos com 1% e 1,5% de cloro ativo.

Com relação as variáveis de desenvolvimento de plântulas foram observadas diferenças entre os tratamentos assépticos. O tratamento testemunha, sem uso de cloro ativo, apresentou resultados inferiores em todas as variáveis. Durante o cultivo in vitro a contaminação do meio de cultura ou do material vegetal é um dos principais problemas, pois os microrganismos, como fungos e bactérias, competem com o explante por nutrientes e também produzem substâncias tóxicas que podem inibir o desenvolvimento do mesmo (SOUSA et al., 2007).

A concentração de 1,5% e 2% de cloro ativo apresentou o maior número de folhas/plântula, com média de 3,48 e 3,38 folhas/plântula. Luz et al. (2014) obtiveram resultados semelhantes ao encontrado neste trabalho, com o número de folhas crescente à medida que se elevou a concentração de cloro ativo na assepsia de segmentos nodais de erva cidreira (*Lippia alba*). O comprimento da parte aérea na testemunha (T1) apresentou menor tamanho, com média de 1,66 cm. Nos demais tratamentos houve crescimento da parte área semelhante, não havendo diferenças entre as concentrações testadas.

Segundo Silva et al. (2007) o maior número de folhas proporciona produção de foto assimilados e consequentemente maior alocação para os drenos destes foto assimilados, favorecendo o crescimento em altura da planta. Esse fato pode ser observado no presente trabalho, onde a concentração de 1,5 % de cloro ativo que obteve o maior número de folhas (3,48) apresentou também o maior comprimento de parte aérea (6,83 cm). Oliveira et al. (2009) explica que sementes que desenvolvem plântulas com maior comprimento são mais vigorosas e que maiores taxas de crescimento iniciais nas plântulas geram melhor desenvolvimento de processos fisiológicos, o que propicia maior chance de sucesso no estabelecimento da mesma (GUEDES et al. 2015).

Em relação a variável número de raízes os tratamentos T4 e T5 apresentaram as maiores médias, 10,38 e 11 raízes, respectivamente. Para a variável comprimento da raiz a concentração de 1,5% alcançou a melhor média com 7,77 cm (Tabela 2). Para Santos-Serejo et al. (2006) um sistema radicular bem desenvolvido e uniforme oferece um bom suporte para as mudas sendo isso essencial para um bom desenvolvimento e sobrevivência das mudas na fase de aclimação e por isso é primordial no desenvolvimento in vitro. Para a matéria fresca de plântulas observou-se diferenças significativas entre os tratamentos, com a maior média no tratamento com 1,5% de cloro ativo que foi de 5,87g. Tomazi et al. (2019) com sementes de feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) inoculadas com *Penicillium* sp. obtiveram, obtiveram maiores massa fresca de raiz e também de parte área utilizando hipoclorito de sódio com 2% de cloro ativo.

CONCLUSÕES

A concentração de 1,5 % de cloro ativo utilizada na assepsia de sementes de *Vicia faba* L proporcionou maior percentual de germinação e desenvolvimento das plântulas e promoveu menor percentual de contaminação das sementes.

REFERÊNCIAS

ANDRADE, S. R. M. **Princípios da Cultura de Tecidos Vegetais**. Planaltina, Embrapa Cerrados, 2002. 16p. (Documentos, 58).

CARNELOSSI, M. A. G.; LAMOUNIER, L.; RANAL, M. A. Efeito da luz, hipoclorito de sódio, escarificação e estratificação na germinação de sementes de alface (*Lactuca sativa* L.), c.v. Maioba e Moreninha-de-Uberlândia. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 30, n. 6, p. 779-787, jun. 1995.

II SEMINÁRIO DE SEMENTES EM SANTA CATARINA

Tecnologia e Inovação na Produção de Sementes

Online: 26 a 29 de Outubro de 2021



DONINI, L. P. *et al.* Preparo de lâminas foliares de aráceas ornamentais: desinfestação com diferentes concentrações de hipoclorito. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.72, n.4, p.517-522, out. /dez. 2005.

GUEDES, R. S. *et al.* Teste de comprimento de plântula na avaliação da qualidade fisiológica de sementes de *Amburana cearensis* (Allemão) A.C. Smith. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 36, n. 4, p. 2373-2382, jul-ago. 2015.

HIRATA, M. H. H.; MANCINI FILHO, J. **Manual de biossegurança**. Barueri: Manole, 2002. 496p.

KARKANIS, A. *et al.* Faba Bean Cultivation: Revealing novel managing practices for more sustainable and competitive european cropping systems. **Frontiers in Plant Science**, Itália, v. 9, artigo 1115, ago. 2018.

LUZ, J. M. Q. *et al.* Estabelecimento in vitro e aclimatização de *Lippia alba* (Mill.) N. E. Brown. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Campinas, v.16, n.2, supl. I, p.444-449, 2014.

OLIVERIA, A. C. S. *et al.* Testes de vigor em sementes baseados no desempenho de plântulas. **Inter Science Place**, Campos dos Goytacazes, v. 1, n. 4, jan, 2009.

PINHEIRO, C. G. *et al.* Efeito da assepsia superficial na germinação e incidência de fungos em sementes de espécies florestais. **Pesquisa Florestal Brasileira**, Colombo, v. 36, n. 87, p. 253-260, jul./set. 2016.

SANTOS-SEREJO, J.Á. *et al.* Meios nutritivos para micropropagação de plantas. In: SOUZA, A.S.; JUNGHANS, T.G (Org.). **Introdução à micropropagação de plantas**. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical. 2006.

SILVA, R.R. da *et al.* Desenvolvimento inicial de plântulas de *Theobroma grandiflorum* (Willd. ex Spreng.) Schum. sob influência de sombreamento. **ACTA Amazônica**, Manaus, v. 37, n. 3, p. 365-370, 2007.

SORGATO, J. C. **Protocolo de germinação em meios assimióticos para *Dendrobium nobile* Lindl. e *Dendrobium phalaenopsis* Fitzg.** 2016. Tese (Doutorado em Agronomia – Produção Vegetal) – Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, 2016.

SOUSA, G. C. *et al.* Contaminação Microbiana na Propagação in vitro de *Cattleya walkeriana* e *Schomburgkia crispa*. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 5, supl. 1, p. 405-407, jul. 2007.

TOMAZI, Y. *et al.* Métodos de assepsia em sementes de feijão. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, Pombal, v. 14, n.2, p.229-237, abr./jun. 2019.

Realização:



LAGES · CAV
CENTRO DE CIÊNCIAS
AGROVETERINÁRIAS

Organização:



DECLARAÇÃO DE AUTORIA E ORIGINALIDADE DO TRABALHO

TÍTULO DO RESUMO: ASSEPSIA DE SEMENTES E ESTABELECIMENTO IN VITRO DE *Vicia faba* L.

PALAVRAS-CHAVE: Fava; Desinfestação; Germinação; Cloro ativo.

AUTORES (Na ordem do resumo, e indicar qual é o autor *correspondente/apresentador):

1º. Nome: Daniela Michelon*

E-mail: danimichelon54@gmail.com

CPF: 026.348.510-22

2º. Nome: Rafael André Mergener

E-mail: rafael.mergener@unoesc.edu.br

CPF:031.849.349-77

3º. Nome:

E-mail:

CPF:

4º. Nome:

E-mail:

CPF:

5º. Nome:

E-mail:

CPF:

*Indicar sublinhando o nome do autor

Assinale seu interesse caso seja selecionado para apresentação oral no dia do evento:

<input type="checkbox"/>	SIM
<input checked="" type="checkbox"/>	NÃO

Declaramos que as informações acima apresentadas são verdadeiras, que a contribuição é original e inédita, e não está sendo avaliada para publicação em outro evento. Autorizamos a publicação do trabalho na forma de pôster e anais no site e redes sociais do evento. Estamos cientes das normas para elaboração de resumos e diretrizes para os autores e do que o não cumprimento das mesmas poderá acarretar.

Assinatura do autor correspondente:

Local e Data: Campos Novos, 20/09/2021.

Os dados pessoais informados neste evento serão utilizados única e exclusivamente para a confecção dos certificados via Universidade do Estado de Santa Catarina, não sendo disponibilizados para outras finalidades ou terceiros.

