

## DESINFESTAÇÃO *IN VITRO* DE SEGMENTOS NODAIS DE CAMU-CAMU

Maria da Conceição da Rocha Araújo<sup>1</sup>, Edvan Alves Chagas<sup>2</sup>, Marcio Akira Couceiro<sup>3</sup>, Lorena Pastorini Donini<sup>2\*</sup>, Rafael Pio<sup>4</sup>, Júlio Augusto Melo Schwengber<sup>3\*</sup>, Alberto Moura de Castro<sup>3</sup>, Wellington Faria Araújo<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Mestranda do Curso de Agronomia (POSAGRO) da Universidade Federal de Roraima/Embrapa, nilmacoly@hotmail.com; <sup>2</sup>Pesquisador da EMBRAPA RORAIMA, echagas@cpafrr.embrapa.br, \*Pós-Doutoranda Programa PNPd (CAPES/FINEP), lorenadonini@yahoo.com.br; <sup>3</sup>Prof. da Universidade Federal de Roraima (UFRR), biofabrica@hotmail.com, wellingtonufr@gmail.com, diretoria-pos@prppg.ufr.br; <sup>4</sup>Prof. da Universidade Federal de Lavras (DAG/UFLA), rafaelpio@dag.ufla.br

### Introdução

O Brasil é um dos principais centros de diversidade genética de espécies frutíferas. No Norte do Brasil existe uma grande diversidade de fruteiras nativas, dentre as quais se destaca o camu-camu, uma frutífera com alto valor nutritivo, e grande potencial econômico, devido seu alto teor de ácido ascórbico (2.880mg/100g), sendo três vezes superior a acerola que é considerada uma das frutas mais ricas em ácido ascórbico no Brasil (SEBRAE, 1996). Através de análise desta espécie constatou-se que além da grande quantidade de Vitamina C, o fruto é um poderoso antioxidante que combatem radicais livres, o qual retarda o envelhecimento. Também possui alto teor de flavonóides, cerca de 6%, que são substâncias antimutagênicas, isto é, impedem a alteração do código genético celular.

A crescente demanda por alimento e produtos saudáveis, vem contribuindo para aumentar a importância do camu-camu na produção de concentrados e suplementos naturais de vitamina C, por ter um apelo como fonte natural desta vitamina, principalmente no mercado de produtos naturais. Contudo, verifica-se uma enorme carência de informações técnicas sobre seu sistema de cultivo o que vem inviabilizando a sua exploração de forma sustentável e econômica. Um desses gargalos é a produção de mudas de qualidade, em face a dificuldade de propagação pelos métodos convencionais.

Assim, o objetivo da pesquisa é o obter o estabelecimento *in vitro* e, posteriormente, a micropropagação de camu-camuzero. Tal intento, além de possibilitar a produção de uma maior quantidade de mudas a ser disponibilizados aos produtores, pode contribuir para a sua reposição através de plantios, contribuindo para a conservação da espécie e diminuindo assim a pressão suas sobre as populações naturais. Mas para que se obtenha sucesso na micropropagação de camu-camu é necessário que se consiga, inicialmente o

estabelecimento da espécie *in vitro*, o que pode ser obtido através do estudo de eficientes protocolos de desinfestação dos explante de camu-camu.

## **Materiais e Método**

Os experimentos foram realizados no laboratório de Cultura de Tecidos (Biofábrica) da Universidade Federal de Roraima, (UFRR) em parceria com a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA Roraima).

Segmentos nodais foram coletados de plantas matrizes oriundas de população nativa situada às margens do rio Cauamé na região de Boa Vista. Foram utilizados 320 explantes, sendo 16 tratamentos com 4 repetições e cada repetição com 5 tubos. Portanto os tratamentos consistiram no uso de diferentes concentrações de hipoclorito de sódio comercial (0,5; 1,0; 1,5 ou 2,0% do principio ativo) e tempo de imersão (5, 10, 15 ou 20 min.).

Os explantes foram lavados em água corrente por 5 minutos, depois ficaram imersos em álcool etílico comercial na concentração 70%, por um período de 3 minutos, seguido de imersão com hipoclorito de sódio nas concentrações e tempo de acordo com cada tratamento, seguido de 3 lavagens com água destilada estéril. Os mesmos foram inoculados em tubos de ensaio (20x150 mm), contendo 6 mL de meio de cultura constituído pelos sais e vitaminas do MS (Murashige e Skoog, 1962), acrescido de 100 mg L<sup>-1</sup> de inositol, 30 g L<sup>-1</sup> de sacarose e 8 g.L<sup>-1</sup> de agar. O pH (5,8) foi ajustado antes da inclusão do ágar e, em seguida, o meio foi autoclavado a 121°C e 1,5 atm por 20 minutos.

O delineamento experimental utilizado em ambos os experimento foi inteiramente casualizado em esquema fatorial, com 4 repetições por tratamento, onde cada repetição constitui-se de 5 tubos, com um explante cada.

Após análise, os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas através de regressão polinomial. Os dados de percentagem foram transformados em raiz quadrada de  $x + 0,5$ , em que  $x$  corresponde ao valor obtido, conforme recomendado por Gomes (2000). As análises foram realizadas pelo programa computacional SISVAR (Ferreira, 2000).

## **Resultados e Discussão**

Avaliando-se diferentes concentrações de hipoclorito de sódio e tempos de imersão na contaminação de explantes de camu-camu, observou-se que para porcentagem de contaminação fúngica houve efeito significativo da interação entre os fatores testados. Verificou-se que as menores porcentagens de contaminações fúngicas foram obtidas

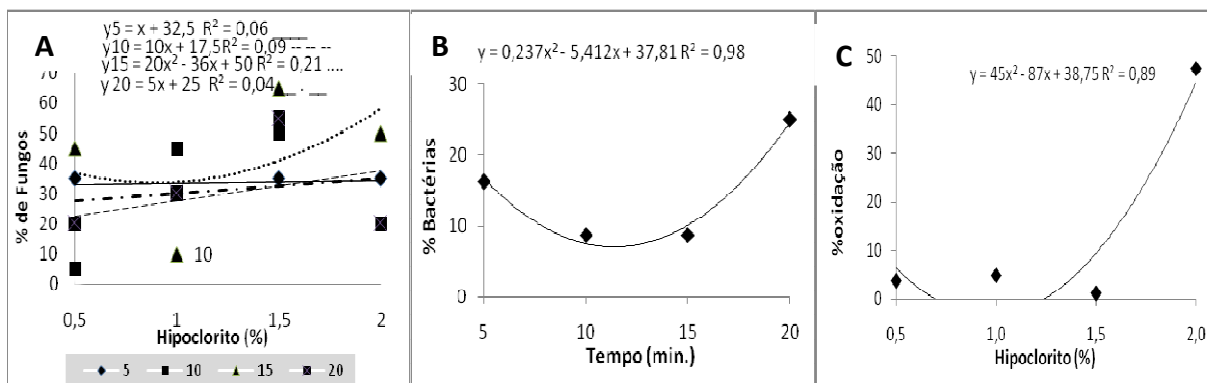
quando os explantes foram submetidos a baixas concentrações de hipoclorito para praticamente todos os tempos testados (Figura 1A). Para os tratamentos com tempo de imersão de 5, 10 e 20 minutos, observou-se que houve um aumento na porcentagem de contaminação fúngica a medida que se aumentou a concentração de hipoclorito no meio de cultura. Já para o tempo de 15 minutos, houve uma diminuição na porcentagem de contaminação (33,8%) até a concentração de 0,9 % de hipoclorito de sódio, elevando-se a contaminação no meio de cultura a partir dessa concentração.

De maneira geral, constatou-se que os melhores resultados para a descontaminação dos explantes de camu-camu *in vitro*, ocorreram quando expostos a 0,5 % de hipoclorito por 10 minutos.

Na desinfestação de aráceas ornamentais, Donini et al. (2005) observaram que também índices de contaminação com o aumento da concentração de cloro ativo. Estes autores atribuem tal ocorrência ao fato de que o aumento da concentração de cloro ativo faz com que ocorra o aumento de pH da solução desinfestante. A alta contaminação fúngica também pode ter ocorrido por ter-se utilizado brotações de material coletado à campo, o que ocorre normalmente com as plantas nativas, onde a planta matriz não sofre nenhum pré-tratamento com fungicidas e antibióticos, assim, contendo elevada concentração de microrganismos (Sato et al., 2004).

Para contaminação bacteriana, houve efeito significativo apenas para o fator tempo de exposição dos explantes. Verificou-se que houve uma diminuição da contaminação a medida em que se aumentou o tempo de exposição dos explantes até 11,41 minutos com média de 6,91% de contaminação bacteriana (Figura 1B).

Para porcentagem de explantes oxidados verificou-se que houve uma diminuição na oxidação até a utilização de 1 % de hipoclorito de sódio, a partir do qual, verificou-se um aumento na porcentagem de explantes oxidados (Figura 1C). Esse aumento de explantes oxidados pode ter ocorrido pela alta concentração de hipoclorito de sódio, que mesmo com as lavagens para retirada do produto pode deixar resíduos, e estes podem ser tóxicos ao explante. De acordo com Flores et al. (1998), um dos fatores que mais dificulta o êxito do estabelecimento *in vitro* é a oxidação de compostos fenólicos presentes nos tecidos vegetais, o que provavelmente pode ter contribuído para esses resultados.



**Figura 1:** Porcentagens de contaminação fúngica (A), contaminação bacteriana (B), e oxidação (C), em explantes quando submetidos à diferentes concentrações de hipoclorito de sódio em diferentes tempo de imersão em meio de cultura MS, aos 21 dias.

### Conclusão

Com base nos resultados obtidos, melhor desinfestação de camu-camu para início da micropropagação é obtido utilizando-se a concentração de 0,5% de hipoclorito de sódio com tempo de imersão de 10 minutos.

### Referências

- DONINI, L. P., SOUZA, J. A., MOURA, I. F., GUISSO, A. P., VIÉGAS, J. Preparo de lâminas foliares de Aráceas ornamentais: desinfestação com diferentes concentrações de hipoclorito de sódio. *Arquivos do Instituto Biológico*, v.72, p.517- 522, 2005.
- FERREIRA, D.F. Análise estatística por meio do SISVAR (Sistema para Análise de Variância) para Windows versão 4.0. In: Reunião Anual da Região Brasileira da Sociedade Internacional de Biometria, 45. São Carlos. Anais... São Carlos: UFSCar. p.255-258, 2000.
- FLORES, R.; STEFANELLO, S.; FRANCO, E.T.H.; MONTOVANI, I.N. Regeneração *in vitro* de espinheira-santa (*Maytenus ilicifolia* mart.). **Revista Brasileira de Agrociência**, v.4, n.3, p.201-205, 1998.
- GOMES, F.P. Curso de estatística experimental. 14 ed. Piracicaba: USP/ESALQ. 477p, 2000.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and biossay with tabacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum, Kobenhavn**, v. 15, p. 473-497, 1962.
- SATO, A.Y.; DIAS, H.C.T.; ANDRADE, L.A.; SOUZA, V.C.; DORMELLAS, G.V. Controle da contaminação e oxidação na micropropagação de Pau d'alho (*Gallesia gorazema* Moq.). **Agropecuária Técnica**, v.25, n.2, p.65-70, 2004.
- SEBRAE. Produtos potenciais da Amazônia. Brasília. 1996, p87, 1996.