

ESTABELECIMENTO *IN VITRO* DE CAMU-CAMU

Lorena Pastorini Donini¹, Edvan Alves Chagas², Marcio Akira Couceiro³, Júlio Augusto Melo Schwengber⁴, Flávia Antunes^{3*}, Marcela Liege da Silva⁴, Wellington Faria Araújo³

*Pesquisadora Pós-Doutoranda do Programa PNPd (CAPES/FINEP), lorenadonini@yahoo.com.br; ²Pesquisador da EMBRAPA RORAIMA, echagas@cpafrr.embrapa.br; ³Prof. da Universidade Federal de Roraima, biofabrica@hotmail.com, wellingtonufr@gmail.com, *Pós-Doutoranda Bolsista PRODOC/CAPES, antunes.flavia@bol.com.br; ⁴Mestrando do Curso de Agronomia (POSAGRO) da Universidade Federal de Roraima/Embrapa, julioaugustosch@gmail.com, marcelaliege@hotmail.com

INTRODUÇÃO

A Amazônia possui uma grande diversidade de fruteiras nativas, na qual estão incluídas espécies vegetais com grande potencial econômico ainda não domesticadas, como é o caso do camu-camu (*Myrciaria dubia* (H.B.K.) McVaugh, Myrtaceae), que é uma fruteira nativa de porte arbustivo, encontrado nas margens inundáveis dos rios e lagos da Bacia Amazônica (Villachica 1996). A grande importância do camu-camu como alimento deve-se ao seu elevado teor de vitamina C bastante superior a maioria das fruteiras cultivadas.

A cultura de tecidos compreende um conjunto de técnicas nas quais um explante é isolado e cultivado sob condições de plena assepsia, em um meio nutritivo artificial (Pasqual, 2001). Assim, esta técnica permitirá a micropropagação de camu-camuzeiro, além de possibilitar a produção de uma maior quantidade de mudas a serem disponibilizadas aos produtores, o que ainda não tem sido possível através das técnicas convencionais, pode contribuir para a sua reposição através de plantios, contribuindo para a conservação da espécie e diminuindo assim a pressão sobre suas populações naturais. Grattapaglia e Machado (1998) relatam que uma das maiores dificuldades no estabelecimento *in vitro* de espécies lenhosas está na obtenção de tecidos livres de contaminação por fungos e bactérias. Assim, antes da micropropagação de uma espécie, a primeira etapa é o estabelecimento *in vitro* de plantas, que começa com a seleção dos explantes mais adequados para a micropropagação e termina com a obtenção de uma cultura livre de contaminantes visíveis e, suficientemente, adaptada às condições *in vitro*.

Dessa forma, o presente trabalho teve como objetivo estabelecimento *in vitro* de camu-camu através da avaliação de diferentes tratamentos de desinfestação de segmento nodais.

MATERIAIS E MÉTODOS

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. Os tratamentos consistiram no uso de diferentes concentrações de hipoclorito de sódio comercial (0,5; 1,0; 1,5 ou 2,0% do princípio 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⁻¹ de inositol, 30 g L⁻¹ de sacarose e 8 g.L⁻¹ 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. Avaliou-se aos 45 dias de cultivo, à percentagem de sobrevivência, indicada pela coloração verde do segmento nodal; à percentagem de estabelecimento, que é determinado pelo desenvolvimento de primórdios foliares (presença de folhas ou brotações); número de brotações; comprimento de brotações e número de folhas/brotação.

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

Com relação à percentagem de explantes sobreviventes, verificou-se que houve uma diminuição na percentagem de sobreviventes à medida que se aumentou a concentração de hipoclorito no meio de cultura. Maiores percentagens de sobreviventes foram obtidos quando os explantes foram submetidos a concentrações menores do descontaminantes (Figura 1A). Já em relação ao tempo, verificou-se a diminuição de explantes sobreviventes com o aumento do tempo de imersão nas soluções desinfestantes (Figura 1B). De acordo com Grattapaglia e Machado (1998), a concentração das soluções desinfestantes e o tempo

de exposição do tecido variam de espécie para espécie e de tecido para tecido. No presente trabalho, constatou-se que os melhores resultados foram obtidos em menores concentrações de hipoclorito e também de tempo de exposição dos explantes.

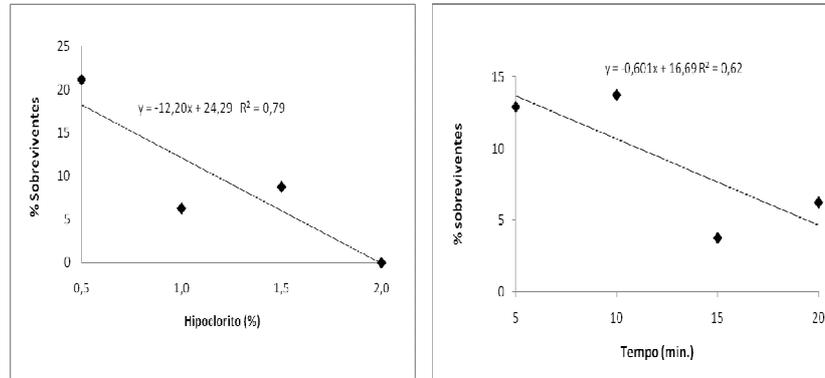


Figura 1: Porcentagem de explantes sobreviventes de camu-camu quando submetido a diferentes concentrações de hipoclorito de sódio (A) e tempos de imersão (B) em meio de cultura MS, aos 45 dias.

Para porcentagem de explantes estabelecidos, observou-se o mesmo comportamento, a diminuição das médias com o aumento da concentração de hipoclorito (2A).

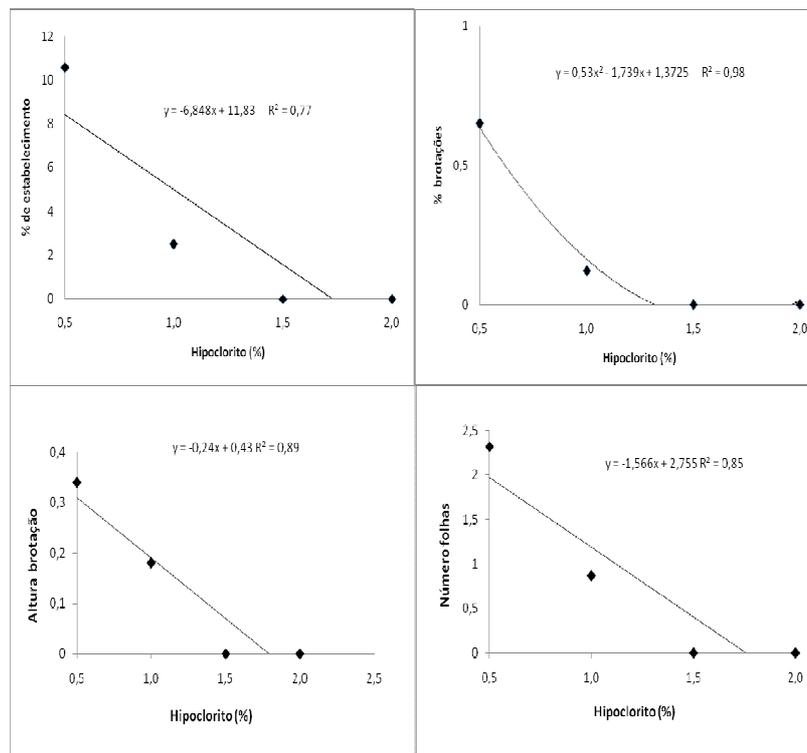


Figura 2: Porcentagem de explantes estabelecidos (A), número de brotações (B), altura de brotação (cm) (C) e número médio de folhas por brotação (D) por explante de camu-camu quando submetido a diferentes concentrações de hipoclorito de sódio e tempos de imersão em meio de cultura MS, aos 45 dias.

De acordo com Sato et al. (2001) e Erig e Schuch (2003) o estabelecimento *in vitro* de plantas nativas e frutíferas, como o caso do camu-camu, no presente trabalho, apresenta problemas em função de suas características peculiares, tais como contaminação e oxidação. Para as variáveis número de brotações, altura de brotação e número de folhas por brotação, também observou-se que o aumento da concentração de hipoclorito de sódio propiciou a diminuição nos valores médios destas variáveis (Figuras 2B, 2C, 2D). Para ambas as variáveis, constatou-se que os melhores resultados foram obtidos em concentrações menores de hipoclorito no meio de cultura.

CONCLUSÃO

Maior sucesso na descontaminação e estabelecimento de *in vitro* de camu-camu, via utilização de segmentos nodais, é obtido utilizando-se 0,5 % de hipoclorito de sódio.

REFERÊNCIAS

- ERIG, A.C.; SCHUCH, M.W. Tipo de explante e controle da contaminação e oxidação no estabelecimento *in vitro* de plantas de macieira (*Malus domestica* BORKH.) cvs. Galaxy, Maxigala e Mastergala. **Revista Brasileira de Agrociência**, v.9, n.3, p.221-227, 2003.
- 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.
- GOMES, F.P. Curso de estatística experimental. 14 ed. Piracicaba: USP/ESALQ. 477p, 2000.
- GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M.A. **Micropropagação**. In: Torres, A.C.; Caldas, L. S. Cultura de Tecidos e transformação genética de plantas. Brasília: EMBRAPA- CNPH. p.183-260, 1998.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum, Kobenhavn**, v. 15, p. 473-497, 1962.
- PASQUAL, M. **Introdução: fundamentos básicos**. Lavras: UFLA/FAEPE. 97p. 2001.
- 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'álho (*Galesia gorazema* Moq.). **Agropecuária Técnica**, v.25, n.2, p.65-70, 2004.
- VILLACHICA L., H. El cultivo Del camu camu (*Myrciaria dubia* H.B.K. McVaugh) em La Amazonia Peruana. In: Inquitos: Tratado de Cooperación Amazonica, 1996.