

Desinfestação de Explantes Caulinares de Umbu-Cajazeira por Hipoclorito de Sódio e Biclreto de Mercúrio^[1]

Eduardo Magno Pereira da Silva^[2], Valdomiro Aurélio Barbosa de Souza^[3], Kaesel Jackson Damasceno e Silva^[4] e Fabrício Napoleão Andrade²

Introdução

O umbu-cajazeira é uma espécie do gênero *Spondias* resultante do cruzamento natural entre a cajazeira (*Spondias mombin*) e o umbuzeiro (*Spondias tuberosa*). Assim como a cajazeira e o umbuzeiro, é uma fruteira tropical que apresenta grandes perspectivas de inserção no mercado interno e externo de frutas exóticas.

A diversidade genética em populações nativas de umbu-cajazeira presentes no Nordeste do Brasil é ampla, porém, encontra-se ameaçada por um processo indiscriminado de exploração das áreas de ocorrência das mesmas, particularmente, pela prática de formação de pastagens, comprometendo a preservação desse patrimônio genético de valor incalculável.

A forma de propagação das *Spondias*, como a maioria das fruteiras tropicais, ocorre pelos métodos sexuais e assexuais. O umbu-cajazeira, com cerca de 90% dos endocarpos desprovidos de sementes (Souza et al. 1997), é mais eficientemente propagado por via assexual, sendo a micropropagação uma alternativa a ser estudada.

A micropropagação tem como princípio básico a totipotência que, na definição de Steward (1963), é a capacidade da célula vegetal gerar uma nova planta normal quando lhe são propiciadas as condições adequadas de nutrição e ambiente. Em espécies lenhosas, uma das limitações para o uso dessa técnica é a dificuldade de se fazer o isolamento asséptico de material adulto proveniente do campo (Pierik, 1990). Devido a essa dificuldade, a grande maioria dos estudos são realizados utilizando plantas jovens obtidas de sementes e mantidas em casa de vegetação (Quraishi et al. 1996).

Em espécies, onde os níveis de contaminação são elevados, as alternativas mais comuns para conter a proliferação de microorganismos, consistem em se aumentar a concentração do agente desinfestante ou o tempo de exposição ao mesmo. Entretanto, ambas as alternativas podem comprometer a integridade do tecido objeto do tratamento (Medeiros, 1999), surgindo assim, a necessidade de se desenvolver estudos para cada espécie de interesse.

Este trabalho teve por objetivo avaliar o efeito de diferentes tempos de imersão em solução de hipoclorito de sódio e de biclreto de mercúrio na desinfestação de explantes caulinares de umbu-cajazeira.

Material e Métodos

Este estudo foi desenvolvido no período de setembro a novembro de 2000, no Laboratório de Cultura de Tecidos da Embrapa Meio-Norte, em Teresina, PI.

Como fonte de explantes, utilizou-se ápices caulinares provenientes de plantas de umbu-cajazeira, de aproximadamente dois anos de idade, mantidas em condições de viveiro protegido. Após coletados, os segmentos de ramos contendo os ápices caulinares foram colocados por 30 minutos em recipiente com água corrente. Posteriormente, foram imersos em álcool etílico 70% por 30 segundos. Em seguida, aplicou-se os tratamentos, que consistiram de cinco tempos de imersão (0, 5, 10, 15 e 20 minutos) dos explantes em dois desinfestantes (hipoclorito de sódio a 1% e biclreto de mercúrio a 0,02%). Todo o procedimento de desinfestação foi realizado em câmara de fluxo laminar.

Após a assepsia, segmentos de ramos foram lavados três vezes consecutivas em água destilada estéril e, em seguida, os explantes foram extraídos e transferidos para tubos de ensaio contendo o meio de cultura MS (Murashige & Skoog, 1962), acrescido de 30 g.L⁻¹ de sacarose, 8 g.L⁻¹ de ágar, 0,1 mg.L⁻¹ de BAP e 0,1 mg.L⁻¹ de AIB. O pH do meio de cultura foi ajustado para 5,8 antes da autoclavagem em vapor úmido por 15 minutos, com temperatura de 121°C e 1 atm de pressão. A incubação dos explantes foi feita em sala de crescimento sob condições controladas, com 16 horas de fotoperíodo em luz branca fria de 1000 lux de intensidade luminosa e temperatura de 26°C ± 1°C.

O experimento foi conduzido utilizando-se o delineamento experimental inteiramente ao acaso, em arranjo fatorial 5 x 2, com seis repetições, sendo cada unidade experimental constituída de quatro tubos com um explante por tubo.

Realizou-se avaliações semanais até os 30 dias de incubação dos explantes, avaliando-se os níveis de contaminação por meio de uma escala de notas variando de 0 a 10, onde 0 = 0% de contaminação e 10 = 91-100% de contaminação. Submeteu-se os dados à análise de variância, sendo as médias comparadas pelo teste de Duncan a 5%.

Resultados e Discussão

A análise de variância indicou efeito significativo ($P < 0,05$) de tratamento com desinfestantes em todas as avaliações realizadas. Tanto o hipoclorito de sódio como o bicloreto de mercúrio resultaram em índices de contaminação bem inferiores ao tratamento controle, indicando que os mesmos foram eficientes em remover os agentes contaminantes (Tabela 1). Em estudo semelhante com cajazeira, Carvalho et al. (1997) obtiveram alta eficiência na assepsia de gemas axilares, quando utilizaram o bicloreto de mercúrio.

Tabela 1. Níveis de contaminação de explantes caulinares de umbu-cajazeira tratados com hipoclorito de sódio e bicloreto de mercúrio. Embrapa Meio-Norte, Teresina, PI, 2001.

Desinfestante	Período de avaliação em semanas ¹			
	1 ^a	2 ^a	3 ^a	4 ^a
	----- Médias de contaminação ----- (%)			
Hipoclorito de sódio (1%)	29,38 b	34,04 b	37,50 b	45,26 b
Bicloreto de mercúrio (0,02%)	28,28 b	34,60 b	40,21 b	44,80 b
Controle	59,45 a	68,25 a	75,50 a	80,35 a
C.V. (%)	25,19	22,45	19,79	21,76

¹ Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Duncan ($P > 0,05$).

Os percentuais médios de contaminação de 45,26% (hipoclorito de sódio) e 44,8% (bicloreto de mercúrio) obtidos neste trabalho, após a quarta semana de incubação, foram inferiores ao obtido pelo melhor tratamento no estudo de Medeiros (1999), com explantes nodais de cajazeira.

Houve efeito significativo de tempo de imersão e da interação desinfestante x tempo de imersão e, por isso, a análise foi decomposta por desinfestante. Os resultados estão apresentados na Tabela 2. Em todas as avaliações, a maior eficiência do hipoclorito de sódio ocorreu no controle da infestação para o tempo de imersão de 5 minutos, enquanto que para o tempo de imersão de 15

minutos verificou-se as maiores taxas de contaminação. Quanto ao bicloreto de mercúrio, a maior eficiência foi obtida com a imersão por 10 minutos, que, no entanto, não diferiu significativamente dos tempos de imersão por 15 e 20 minutos. Em cajazeira, Souza et al. (2000) obtiveram resultados semelhantes com ambos os desinfestantes. Por sua vez, Andrade et al. (2002) obtiveram maior eficiência para os tempos de imersão de 10 e 15 minutos em bicloreto de mercúrio e hipoclorito de sódio, respectivamente. O tempo de imersão por 5 minutos em bicloreto de mercúrio resultou, desde a primeira semana de incubação, na menor eficiência e não diferiu do tratamento controle.

Tabela 2. Níveis de contaminação de explantes caulinares de umbu-cajazeira submetidos a diferentes tempos de imersão (T.I.) em hipoclorito de sódio e bicloreto de mercúrio. Embrapa Meio-Norte, Teresina, PI, 2001.

Desinfestantes	T.I. (min)	Período de avaliação em semanas ¹			
		1 ^a	2 ^a	3 ^a	4 ^a
		----- Médias de contaminação ----- (%)			
Hipoclorito de sódio (1%)	0	59,45 a	68,25 a	75,50 a	80,35 a
	5	10,50 c	15,47 c	18,21 c	26,30 c
	10	35,00 b	39,75 b	45,50 b	52,25 b
	15	48,50 ab	53,15 ab	56,79 b	64,12 ab
	20	23,50 bc	27,20 bc	29,50 bc	38,35 bc
C.V. (%)		27,61	31,11	29,47	21,19
Bicloreto de mercúrio (0,02%)	0	59,45 a	68,25 a	75,50 a	80,35 a
	5	55,20 a	63,24 a	69,12 a	77,27 a
	10	17,11 b	21,30 b	27,10 b	29,55 b
	15	23,35 b	29,13 b	34,40 b	37,28 b
	20	17,46 b	24,72 b	30,21 b	35,10 b
C.V. (%)		23,15	24,67	26,09	18,35

¹ Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Duncan (P > 0,05).

Conclusões

1. Tanto o hipoclorito de sódio como o bicloreto de mercúrio apresentaram boa eficiência no controle da infestação em explantes caulinares de umbu-cajazeira.
1. A imersão em solução de hipoclorito de sódio a 1% por 5 minutos e em bicloreto de mercúrio a 0,02% por 10 minutos foram os tratamentos mais eficientes em promover a desinfestação em explantes caulinares de umbu-cajazeira.

Referências Bibliográficas

- ANDRADE, F.N.; SOUZA, V.A.B. de; SILVA, K.J.D. e; SILVA, E.M.P. de. Efeito de diferentes tempos de imersão em hipoclorito de sódio e bicloreto de mercúrio na desinfestação de explantes caulinares de bacurizeiro. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 17., 2002, Belém. **Anais ...** Belém: Sociedade Brasileiro de Fruticultura: Embrapa Amazônia Oriental, 2002. CD-ROM.
- CARVALHO, C.P. da S.; CORREIA, D.; BENBADIS, A.K.; LUZ, J.M.Q. Estabelecimento de condições *in vitro* para indução de gemas axilares de *Spondias mombin* L. In: ENCONTRO BRASILEIRO DE BIOTECNOLOGIA VEGETAL, 2., 1997, Gramado. **Programas e resumos...** Gramado: REDBIO, 1997. p.28.
- MEDEIROS, C.P.C. de. **Indução *in vitro* de respostas morfogenéticas em explantes nodais de cajazeira (*Spondias mombin* L.).** 1999. 79 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and biossays with tabacco tissue culture. **Physiologia Plantarum**, v.15, p.473-497, 1962.
- PIERIK, R.L.M. Vegetative propagation. In: *IN VITRO* culture of higher plants. [S.l.]: Intenational Association for Plant Tissue Culture, 1990. p.183-230.
- QURASHI, A.; KOCHE, V.; MISHRA, S.K. *In vitro* micropropagation from nodal segments of *Cleistanthus collinus*. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v.45, p.87-91, 1996.

SOUZA, F.X. de; SOUSA, F.H.L.; FREITAS, J.B.S. Caracterização morfológica de umbu-cajá. In: CONGRESSO NACIONAL DE BOTÂNICA, 48., 1997, Crato, CE. **Resumos ...** Fortaleza: SBB: BN, 1997. p.121.

SOUZA, V.A.B. de; SOUZA, C.L.C. de; OLIVEIRA, D.B. de. Efeito de diferentes tempos de imersão em hipoclorito de sódio e bicloreto de mercúrio na desinfestação de explantes de cajazeira. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 16., 2000, Fortaleza. **Anais ...** Fortaleza: Sociedade e Brasileira de Fruticultura: Embrapa Agroindústria Tropical, 2000. CD-ROM.

STEWART, F.C. The control of growth in plant cells. **Scientific America**, v.10, p.1-11, 1963.

[1] Pesquisa desenvolvida com apoio financeiro do Banco do Nordeste.

[2] Aluno de Engenharia Agrônoma da UFPI, Bolsista do CNPq-FAPEPI/Embrapa Meio-Norte. Cx. Postal 1, 64006-220, Teresina, PI.

[3] Eng. Agr., Ph.D., Pesquisador da Embrapa Meio-Norte. Cx. Postal 1, 64006-220, Teresina, PI. E-mail: valdo@cpamn.embrapa.br

[4] Aluno de Engenharia Agrônoma da UFPI, Bolsista PIBIC/CNPq. E-mail: kdamasceno@yahoo.com.br.