

Desenvolvimento de protocolo de descontaminação e controle de crescimento de fungos em meio de inoculados com gemas laterais de mangueira

Solange Rocha Monteiro de Andrade

Fábio Gelape Faleiro

30/Jun/2010

A manga, principal fruta *in natura* que o Brasil exporta, tem uma produção crescente. De 2004 a 2008 a produção passou de 950.000 t para 1.155.000 t, representando 21% de aumento. O programa de melhoramento da Embrapa tem como objetivo desenvolver novas cultivares com melhor qualidade de fruto, resistente a pragas e doenças e adaptadas aos diversos ambientes. Entretanto, os objetivos do melhoramento de manga são de longo prazo, devido ao seu longo período juvenil. A cultura de tecidos pode apoiar o programa de melhoramento através da multiplicação rápida dos genótipos de interesse, mantendo a identidade genética e diminuindo o tempo de obtenção de clones para avaliações com várias repetições e em diferentes ambientes. Atualmente, a embriogênese somática é o único método descrito de micropropagação de manga. O método apresenta alguns problemas como a limitação da época de inoculação no meio de cultura ao período de frutificação, longo período para obtenção de embriões somáticos e alto índice de variação somaclonal. O desenvolvimento de protocolos de micropropagação por gemas laterais e ápices caulinares tem sido tentado por diversos pesquisadores, mas ainda sem nenhum sucesso. Os principais problemas são a intensa contaminação endógena dos explantes e a exsudação de fenóis no meio de cultivo. Assim, a Embrapa desenvolveu um projeto que visava obter um protocolo para controlar o desenvolvimento de microorganismos em meio de cultura.

Os resultados demonstraram que para diminuir a contaminação por fungos os explantes precisavam de uma limpeza inicial em água de torneira com detergente neutro, seguido de tratamento em solução de hipoclorito de sódio 1% e Tween 80, finalizando com sonicação de 15 segundo em 500 mg.L⁻¹ Benomyl (Benlate) e suspensão de 30 minutos na mesma solução. No entanto, persistiu o problema de contaminação por fungos. Assim, foram realizados estudos para isolar e identificar os microrganismos que desenvolvem no meio de cultura após a inoculação do explante visando obter um controle melhor da contaminação fúngica.

Os principais gêneros de fungos identificados foram: *Curvularia* sp., *Fusarium* sp. e *Aspergillus* sp., *Alternaria* sp., *Helminthosporium* sp., *Cladosporium* sp., *Colletotrichum* sp., *Gliocadium* sp., *Penicillium* sp. e fungos do grupo de leveduras. Verificou-se também que a contaminação por fungos é proveniente de fragmentos de tecido externos. Com o objetivo de diminuir a quantidade de inóculo desses fungos submetemos as matrizes de Tommy Atkins do campo experimental a tratamentos com diferentes tipos de fungicidas. Foram testados 20 mg.L⁻¹ de Tebuconazole (Folicur 200 CE[®]), Mancozeb (Manzate 800[®]) e Procimidona (Sialex 500[®]). Embora o fungicida Mancozeb (Manzate[®]) tenha apresentado os menores índices de contaminação, não houve diferença significativa entre os tratamentos. No entanto, sugerimos o tratamento das matrizes com o objetivo de diminuir a quantidade de inóculo de fungos.

Com o intuito de controlar o desenvolvimento dos fungos em meio de cultura foi avaliado o efeito in vitro de fungicidas e de Sulfato de Cobre. Segmentos nodais da cultivar Tommy Atkins foram inoculados em meio MS contendo 2 g.L⁻¹ dos seguintes fungicidas Tebuconazole (Folicur 200 CE[®]), Mancozeb (Manzate 800[®]), Procimidona (Sialex 500[®]) e Benzimidazol (Derosal[®]) e testemunha sem fungicida. As análises estatísticas demonstraram que houve diferença significativa no efeito dos fungicidas, e que o princípio Tebuconazole apresentou maior eficiência no controle de fungos. Também foram realizados estudos com concentrações crescentes de sulfato de cobre, variando de 100 a 2.000 vezes a concentração sugerida para meio MS, e verificamos uma queda na contaminação por fungos, principalmente nos tratamentos de 25 e 50 mg.L⁻¹ de sulfato de cobre, o que seria esperado considerando que o sulfato de cobre é o componente ativo de vários fungicidas comerciais. Com isso, o Tebuconazole passou a ser adicionado ao meio de cultivo juntamente com 25 mg.L⁻¹ de Sulfato de Cobre.

Com o intuito de identificar um substituto para o Benomyl, que não é mais fabricado, foram comparados o efeito dos seguintes fungicidas na descontaminação superficial: 500 mg.L⁻¹ Benomyl (Benlate), 500 mg.L⁻¹ Clorotalonil + Tiofanato-metílico (Cerconil) e 500 mg.L⁻¹ Carbendazin (Derosal). Embora os fungicidas sejam do mesmo grupo químico (benzimidazol) e possuam o mesmo modo de ação (sistêmico), o princípio ativo Carbendazin apresentou o melhor resultado,

sendo incorporado ao protocolo de desinfestação superficial.

Por fim, a metodologia foi eficiente para diminuir a contaminação fúngica em meios inoculados com explantes de mangueira e também pode ser utilizada para outras espécies lenhosas, que apresentam dificuldades muito similares para o estabelecimento de protocolos de cultivo in vitro.

Solange Rocha Monteiro de Andrade (Pesquisador - solange@cpac.embrapa.br), Fábio Gelape Faleiro (Pesquisador) trabalha(m) na Embrapa CERRADOS.