



ESTUDO PRELIMINAR DO ESTABELECIMENTO *IN VITRO* DE (*Campomanesiaguazumifolia*[Cambess.] O. Berg) - MYRTACEAE

FAGUNDES, Laidines S.^{1*}; BERNARDY, Katieli¹; KOEFENDER, Jana²,
GOLLE, Diego Pascoal^{3,4}

Palavras-Chave: Sete-capotes, Fruteiras nativas, Segmento apical, Segmento nodal.

Introdução

Espécies nativas podem ser exploradas comercialmente em propriedades pequenas, oportunizando uma fonte adicional de renda aos agricultores (BARBIERI et al., 2005). Neste contexto, pode-se destacar o sete-capotes (*Campomanesiaguazumifolia*[Cambess.] O. Berg. – Myrtaceae), que possui grande potencial frutífero, além das características necessárias à produção de lenha e carvão (CARVALHO, 2011).

Todavia, um dos entraves à propagação desta espécie são suas sementes, que apresentam recalcitrância. Métodos de propagação vegetativa, como a cultura de tecidos, podem propiciar a produção adequada de mudas. Porém, inicialmente, é necessário sanar problemas de oxidação e contaminação, peculiares do cultivo *in vitro* de espécies lenhosas (SATO et al., 2001). Além disso, outros fatores, como o meio de cultura, interferem no sucesso do estabelecimento de protocolos (SILVA et al., 2006). O objetivo desse estudo foi avaliar o efeito de diferentes meios de cultura, concentrações de agente desinfestante e tempos de assepsia no estabelecimento *in vitro* de *C. guazumifolia*.

Material e Métodos

O trabalho foi realizado no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais *in vitro*, da Universidade de Cruz Alta-RS. Este experimento foi desenvolvido em delineamento inteiramente casualizado, seguindo-se esquema trifatorial 2 x 2 x 5, onde os níveis do fator “A” foram compostos pelos meios nutritivos MS e WPM (MURASHIGE; SKOOG, 1962, LLOYD; MCCOWN, 1981), os níveis do fator “B” por diferentes concentrações de

¹ Alunas do curso de Ciências Biológicas da UNICRUZ. E-mail: laidines@ibest.com.br, katibernardy@hotmail.com (* bolsista PIBIC/ CNPq/ UNICRUZ 2011/2012)

² Professora, Dr^a, Universidade de Cruz Alta. E-mail: jkoefender@unicruz.edu.br

³ Professor, Orientador, Dr., Universidade de Cruz Alta. E-mail: dgolle@unicruz.edu.br

⁴ Polo de Inovação Tecnológica do Alto Jacuí, Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais “in vitro”, Prédio 1, Sala 111, Campus, UNICRUZ, Cruz Alta, RS, Brasil. Cep: 98.020-290.

Apoio: PIBIC/CNPq/UNICRUZ 2011/2012



hipoclorito de sódio – NaOCl - (2,5 e 5% v/v), e os níveis do fator “C” por cinco diferentes tempos de imersão dos explantes em solução desinfestante (0, 5, 10, 15 e 20 min.). O experimento totalizou 20 tratamentos com cinco repetições, cada uma composta por cinco explantes, em um total de 100 unidades experimentais e 500 explantes inoculados. Aos 60 dias, foram avaliadas as variáveis: contaminação fúngica (%) e contaminação bacteriana (%) e, aos 30 dias de cultivo, oxidação fenólica (%) e estabelecimento (%).

O teste de Kolmogorov-Smirnov foi utilizado para avaliar a normalidade dos resíduos experimentais e a homogeneidade de variâncias foi avaliada pelo teste de Bartlett. Os dados foram submetidos à análise de variância e, posteriormente, se necessário, seguiu-se com os desdobramentos pertinentes, utilizando-se análise de regressão polinomial para dados quantitativos e teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro para dados quantitativos.

Resultados e Discussão

No que se refere a variável oxidação fenólica, observou-se diferenças apenas para os níveis isolados do fator meio de cultura ($P=0,0409$), onde ficou claro que o meio WPM ocasionou maior taxa de oxidação em relação ao meio MS (TABELA 1); entretanto, ambos apresentaram altos índices oxidativos. Segundo Teixeira (2001), alguns gêneros de plantas são mais suscetíveis à oxidação que outros. Gollet al. (2012), no seu trabalho com *Eugenia involucrata*, também evidenciaram a presença de oxidação, entretanto, os processos oxidativos não inviabilizaram o estabelecimento e desenvolvimento das culturas.

Quanto à contaminação fúngica, somente os níveis do fator “meio” apresentaram diferenças entre si ($P=0,0031$), sendo mais evidente a ocorrência de fungos no meio WPM (TABELA 1). A ocorrência de fungos em determinado meio não é fato comum na cultura de tecidos, já que geralmente a presença destes microrganismos está associada à desinfestação ineficiente ou ao excesso de contaminantes nos explantes, contaminantes endógenos ou manuseio. Todavia, permite inferir que talvez o meio WPM tenha fornecido condições que favoreceram o desenvolvimento das hifas fúngicas. Um dos maiores problemas no estabelecimento *in vitro* de espécies lenhosas está na dificuldade de obter explantes livres de contaminação de fungos e bactérias (GRATTAPAGLIA & MACHADO, 1998), o que muitas vezes dificulta os processos iniciais da cultura de tecidos de diversas espécies de plantas.

Não se observou diferenças para contaminação bacteriana, a qual ocorreu em 0,41% dos explantes. Pode-se considerar um percentual baixo de contaminação. Souza et al (2007) verificou baixa infestação de fungos e bactérias no estabelecimento *in vitro* de pitangueira (*Eugenia uniflora*), segundo o mesmo autor, a baixa contaminação pode ser devido às



pulverizações semanais com bactericida e fungicida. Para a variável estabelecimento, foram significativas, isoladamente, as fontes de variação “Meio” ($P=0,0007$) e concentração de NaOCl ($P=0,0397$). O meio WPM foi mais favorável ao estabelecimento *in vitro* de sete-capotes, mostrando que embora permita maior contaminação e maior oxidação fenólica, ainda deve ser mantido como escolha preferencial. Estes dados podem ser observados na Tabela 1.

TABELA 1 – Influência do meio nutritivo no estabelecimento *in vitro* de cultivos assépticos de *Campomanesiaguazumifolia* O. Berg (Myrtaceae) após 60 dias de cultivo. Foram analisadas as variáveis, em porcentagem: contaminação fúngica (CF), oxidação fenólica (OF) e estabelecimento (EBT). Cruz Alta, RS, UNICRUZ, 2012.

Fontes de Variação	Variáveis Analisadas		
	CF (%)	OF (%)	EBT (%)
Meio MS	60,00 a*	92,50 a	10,00 b
Meio WPM	92,50 b	98,33 b	28,33 a
CV (%)**	20,74	3,75	13,72

*Médias seguidas de letras diferentes, na coluna, diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

**Coeficiente de variação expresso em porcentagem.

Já no que se refere ao índice de estabelecimento de acordo com o percentual de agente desinfestante (FIGURA 1), o tratamento testemunha não diferiu do uso de desinfestante a 5%, mas foi superior ao uso de desinfestante a 2,5% o qual, por sua vez, também não diferiu do uso a 5%, dificultando a compreensão desta dado, o que requer repetição experimental para obtenção de novos resultados.

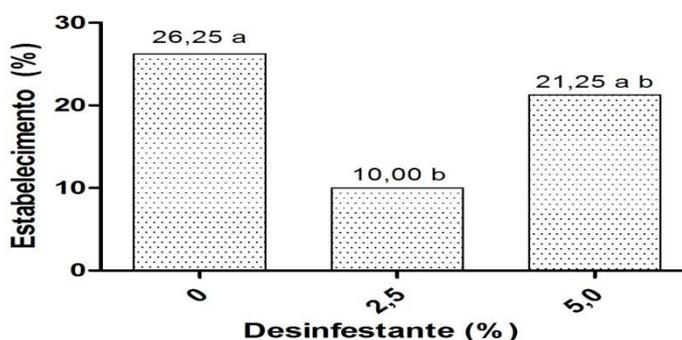


FIGURA 1 – Influência do percentual de agente desinfestante (NaOCl) no estabelecimento *in vitro* de *C. guazumifolia*. Cruz Alta, RS, UNICRUZ, 2012.



Conclusão

É possível estabelecer cultivos assépticos de *C. guazumifolia*, entretanto, os tratamentos testados não inibiram a oxidação e as taxas de contaminação foram extremamente elevadas, sendo necessários experimentos adicionais para a obtenção de resultados mais conclusivos. Observa-se, claramente, que o meio WPM oferece melhores resultados no estabelecimento da espécie.

Referências

- BARBIERI, L.R. et al. Conservação *ex situ* de recursos genéticos vegetais na Embrapa Clima Temperado. Pelotas: **Embrapa Clima Temperado**, p. 11-27, 2005.
- BRUM, G. R. **Micropropagação da figueira (*Ficus carica* L.)** 2001, 41p. Dissertação de (Mestrado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2001.
- CARVALHO, P. E. R. Seta-capotes (*Campomanesiaguazumifolia*). Agência de informações EMBRAPA – espécies arbóreas brasileiras. Acesso em: 04/08/2011. <http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/especies_arboreas_brasileiras/arvore/CONT000fuli7dcd02wyi6spxlav9/html>.
- GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M.A. Micropropagação. In: TORRES, A.C.; CALDAS, L.S.; BUSO, J.A. **Cultura detecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: SPI/Embrapa - CNPH, 1998, 1, p. 183-260.
- GOLLE, D.P et al. Estabelecimento e Desenvolvimento In vitro de *Eugenia involucrate* DC.: Influência do tipo de explante e do meio nutritivo. **Ciência Florestal**, Santa Maria. v.22, n.1, p.207-214, 2012.
- SATO, A.Y et al. Micropropagação de *Celtis* sp.: controle da contaminação e oxidação. Lavras. **Cerne**. v.7, n.2, p.117-123, 2001.
- SILVA, C.L et al. Meio nutritivo, reguladores de crescimento e frio no estabelecimento *in vitro* de Mirtillo (*Vaccinium ashei* Reade) Cv. Delite. **R. Bras. Agrociência**. Pelotas. v.12, n.14, p.401-408, 2006. SOUZA et al. Solidificante no meio de cultura e tamanho do explante no estabelecimento da propagação *in vitro* de Pitangueira (*Eugenia uniflora* L.) **R. Bras. Agrociência**, Pelotas. v.13, n.1, p-115-118, 2007.
- TEIXEIRA, J.B. Limitações ao processo de cultivo *in vitro* de espécies lenhosas. **In: ENCONTRO LATINOAMERICANO DE BIOTECNOLOGIA VEGETAL**, 4., 2001, Goiânia, Simpósios... Goiânia: REDBIO, 2001.
- VALLILO, I.M et al. Composição química dos frutos de *Campomanesia adamantium* (Cambessídes) O.Berg. **Ciênc. Tecnol. Aliment**. Campinas v.26, n.4, p.805-810, 2006.