

DESINFESTAÇÃO E GERMINAÇÃO *IN VITRO* DE SEMENTES DE MANDACARU SEM ESPINHO

Magali Haideé Pereira Martínez¹; Darlyson Tavares Guimarães¹; Marina Medeiros de Araújo Silva²; Lais Tomaz Ferreira²

¹Universidade Federal de Campina Grande, magali_haidee@hotmail.com, darlyson_lima@hotmail.com

²Instituto Nacional do Semiárido, laistomazpe@hotmail.com, marinamedeirosas@yahoo.com.br

RESUMO: O mandacaru (*Cereus jamaracu*) é um dos principais representantes dos cactos da Caatinga, apresentando potencial ornamental, forrageiro, medicinal e industrial. A germinação *in vitro* desta espécie pode auxiliar na sua multiplicação e conservação; portanto, é necessário o estabelecimento de protocolos eficientes de desinfestação do material a ser introduzido *in vitro*. Objetivou-se definir o tipo e a concentração de desinfestante para a assepsia de sementes de mandacaru sem espinho. As sementes foram separadas da polpa, submetidas à imersão em hipoclorito de sódio ou de cálcio em concentrações de 1,25 e 2,5%, e posteriormente inoculadas em meio simplificado. Após sete dias de cultivo o tratamento com hipoclorito de cálcio a 1,25% contaminou 100%, o que inviabilizou a germinação das sementes; e ao final de 45 dias o tratamento com hipoclorito de sódio, em ambas as concentrações, apresentou os menores valores de contaminação e os maiores valores quanto à taxa de germinação, mostrando-se, portanto, ser o mais eficiente para a desinfestação de sementes de mandacaru sem espinho.

INTRODUÇÃO

Dentre as espécies existentes na Caatinga, as representantes da família Cactaceae desenvolveram adaptações para sobreviver em ambientes áridos, que tem como principal fator limitante a água. Algumas destas plantas pertencem ao gênero *Cereus*, representado principalmente por *Cereus jamaracu* DC, conhecido popularmente como mandacaru; um cacto colunar que, dependendo do genótipo, pode ou não apresentar espinhos (CORREIA et al., 2010; 2012).

O mandacaru tem grande importância ecológica, pois seus caules servem de substrato para ninhos de vespas, os frutos são consumidos por animais e suas flores são visitadas por abelhas melíferas (LEAL SALES et al., 2014). Destaca-se ainda pelo seu potencial ornamental, forrageiro, medicinal e industrial (LUCENA et al., 2012). Contudo, o desmatamento, o desenvolvimento agrícola e o pisoteio animal vem causando a fragmentação do habitat natural das cactáceas. Além disso, existe a coleta extrativista e ilegal de grandes quantidades de sementes e plantas para o abastecimento do mercado ornamental (ZAPPI et al., 2011).

A propagação das cactáceas pode ocorrer via sementes ou vegetativamente, por estacas ou brotos. A germinação de sementes *in vivo* ou *in vitro*, além de ser uma alternativa à multiplicação da espécie, também favorece a manutenção da variabilidade genética e aumento da disponibilidade de mudas para os viveiristas e pecuaristas ou para a conservação (ROJAS-ARÉCHIGA; VÁZQUEZ-YANES, 2000).

O sucesso da aplicação das técnicas de cultivo *in vitro* depende, em parte, do controle e prevenção da contaminação do material vegetal por microrganismos patogênicos, como fungos e bactérias (SILVA et al., 2003), sendo necessário determinar métodos eficazes de desinfestação que não interfiram no desenvolvimento e na obtenção de plantas saudáveis. Para tanto, são aplicados compostos a base de cloro que possuem ação germicida, sendo o hipoclorito de sódio e o de cálcio os mais utilizados (COUTO et al., 2004). São determinantes para se obter êxito na etapa de desinfestação: o tipo e a concentração do desinfestante, assim como o tempo de exposição do explante ao mesmo, sendo também de extrema importância a adequação dos protocolos de desinfestação à cultura estudada (MORAES et al., 2007).

O objetivo deste trabalho foi definir o tipo e a concentração de desinfestante mais eficiente para a assepsia de sementes de mandacaru a serem cultivadas *in vitro*.

METODOLOGIA

O experimento foi realizado no Laboratório de Cultivo *in vitro* de Plantas (LaCIP) e os frutos de *Cereus jamacaru* foram coletados de plantas sem espinhos (Figura 1A), mantidas na área da Estação Experimental do Instituto Nacional do Semiárido (INSA), em Campina Grande/PB. A extração das sementes foi realizada mediante a abertura dos frutos e retirada da polpa, a qual foi friccionada em uma peneira metálica sob água corrente até ser eliminada. As sementes foram, então, secas à sombra e temperatura ambiente.

Posteriormente, as sementes foram lavadas com água e detergente neutro e, em seguida, submetidas à desinfestação em câmara de fluxo laminar, com imersão em álcool 70%, por um minuto, seguido de imersão em hipoclorito de sódio (NaOCl) ou de cálcio (CaOCl₂) nas concentrações de 1,25 e 2,5% adicionado de 1 mL de Tween 20, durante 15 minutos. Após o triplice enxágue com água destilada estéril, as sementes foram inoculadas em meio de cultura simplificado, composto pelos fertilizantes Calcinit e Kristalon, em substituição aos macro e micronutrientes comumente utilizados, e suplementado com 3% de sacarose. O pH foi ajustado para 5,8 e gelificado com 6,5 g L⁻¹ de ágar, antes da autoclavagem.

Os cultivos foram mantidos em sala de crescimento, sob fotoperíodo de 16 h de luz, intensidade luminosa de 52 $\mu\text{mol m}^2 \text{s}^{-1}$ e temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$. Após 45 dias de cultivo *in vitro* foram contabilizados os percentuais de germinação e contaminação. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2 x 2 (tipo de hipoclorito x concentração de hipoclorito). Os dados obtidos por contagem foram transformados em $(x+0,5)^{0,5}$ e foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, utilizando o programa estatístico Assistat.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O hipoclorito de sódio foi eficiente na desinfestação das sementes de mandacaru cultivadas *in vitro*, contudo, as concentrações estudadas não diferiram estatisticamente (Tabela 1). Já o hipoclorito de cálcio se mostrou menos eficiente que o de sódio, em ambas as concentrações testadas, chegando a apresentar 100% de contaminação em apenas uma semana de cultivo, quando utilizado em 1,25% (Tabela 1). Rêgo et al. (2009) obtiveram menor percentual de contaminação em sementes de mandacaru utilizando 1% de hipoclorito de sódio, e observaram atividade fitotóxica, com redução da taxa de germinação, quando utilizada a concentração de 2%.

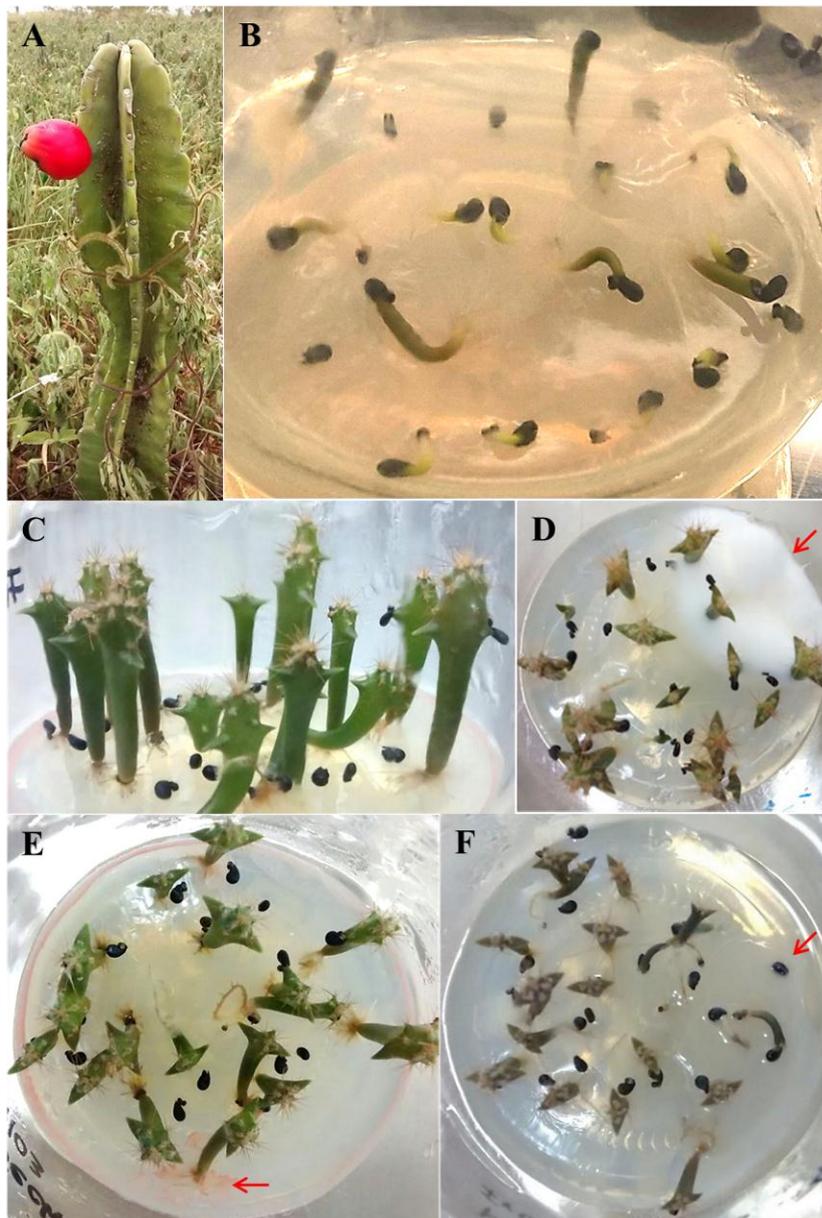


Figura 1. Germinação *in vitro* de sementes de mandacaru sem espinho submetidas a diferentes tipos e concentrações de desinfestantes: coleta do material em campo (A), início da germinação *in vitro* (B), plântulas saudias cultivadas *in vitro* (C), cultivo apresentando contaminação fúngica (D) e bacteriana (E e F).

A contaminação presente nas sementes tratadas com 1,25% de hipoclorito de sódio e de cálcio foi proveniente de fungos (Figura 1D) e surgiu ainda na primeira semana de cultivo, enquanto a encontrada em sementes tratadas com a maior concentração de ambos os desinfestantes (2,5%) foi decorrente de bactérias (Figura 1E e F), provavelmente endofíticas, já que surgiram apenas ao final dos 45 dias de cultivo. Tais resultados demonstram que os desinfestantes testados na concentração mais baixa (1,25%) não foram eficientes para eliminar os contaminantes superficiais (exógenos) presentes nas sementes, diferentemente da concentração mais elevada, onde não foi detectada contaminação fúngica. Contudo, neste tratamento, a presença de bactérias como prováveis contaminantes endógenos pode vir a acarretar perdas caso as plantas sejam mantidas *in vitro*, uma

vez que, não sendo eliminadas pelas substâncias utilizadas na assepsia, elas podem permanecer latentes (Pereira et al., 2003; 2010) e, posteriormente, contaminarem o material. Desse modo, poderiam inviabilizar o seu uso como explante secundário para a etapa de multiplicação *in vitro*.

Tabela 1. Percentual de germinação e contaminação de sementes de *Cereus jamacaru* cultivadas *in vitro*.

Desinfestante	Contaminação (%)		Germinação (%)	
	1,25%	2,5%	1,25%	2,5%
Hipoclorito de cálcio	100 aA	60 aA	0 bB	83,75 aA
Hipoclorito de sódio	40 bA	20 bA	86,25 aA	91,25 aA

Médias seguidas de letras iguais, minúsculas para tipo de hipoclorito e maiúsculas para concentração, não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).

A germinação do mandacaru iniciou após sete dias de inoculação (Figura 1B) e teve fim aos 34 dias (Figura 1C). A maior taxa de germinação (91,25%) foi obtida no tratamento com hipoclorito de sódio a 2,5%, mas este não diferiu estatisticamente dos demais; com exceção do tratamento com 1,25% de hipoclorito de cálcio, em que a germinação foi comprometida uma vez que houve 100% de contaminação fúngica. Os altos percentuais de germinação obtidos demonstram que os desinfestantes testados, mesmo quando usados em maior concentração, não apresentaram fitotoxicidade, não interferindo na germinação e nem no desenvolvimento das plantas cultivadas *in vitro*, apesar de ter sido utilizado um meio de cultura simplificado. Correia et al. (2011) obtiveram 92,6% de germinação em sementes de mandacaru desinfestadas com hipoclorito de sódio (1%) durante 20 minutos e cultivadas em meio JADS, enquanto Rêgo et al. (2009) obteve 60% de germinação utilizando o meio MS.

CONCLUSÕES

Diante do exposto, recomenda-se que para a introdução de sementes de mandacaru ao cultivo *in vitro* seja utilizado como desinfestante o hipoclorito de sódio na concentração de 2,5%, uma vez que este apresentou o menor percentual de contaminação e a maior taxa de germinação das sementes.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CORREIA, D. et al. **Introdução e multiplicação de Mandacaru sem espinho**. In: Anais do Congresso brasileiro de recursos genéticos, 2010, Salvador. Resumos... Salvador, 2010. p.164.

CORREIA, D. et al. **Propagação de mandacaru sem espinhos** (Boletim de pesquisa e desenvolvimento 55). Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2011. 18p.

CORREIA, D. et al. **Produção de mudas de Mandacaru** (Circular técnica 39). Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2012. 6p.

COUTO, J.M.F. et al. Desinfestação e germinação *in vitro* de sementes de mogno (*Swietenia macrophylla* King). **Revista Árvore**, v.28, n.5, p.633-642, 2004.

LEAL SALES, M.S. et al. *Cereus jamacaru* de candolle (cactaceae), o mandacaru do Nordeste brasileiro. **Publ. UEPG Ci. Biol. Saúde**, v.20, n.2, p.135-142, 2014.

LUCENA, C.M.D. et al. Conhecimento local sobre cactáceas em comunidades rurais na mesorregião do sertão da Paraíba (Nordeste, Brasil). **Biotemas**, v.25, n.3, p.281- 291, 2012.

MORAES, A.M.; ALMEIDA, F.A.C.; CAZÉ FILHO, J. Desinfestação e estabelecimento *in vitro* de gemas axilares de abacaxizeiro. **Rev. Tecnol. Ciên. Agropec.**, v.1, n.2, p.39-44, 2007.

PEREIRA, G.A. et al. Controle de contaminação em explantes de bananeira ‘Grande Naine’ na micropropagação *in vitro*. **Rev. Tecnol. Ciên. Agropec.**, v.4, n.2, p.35-39, 2010.

PEREIRA, J.E.S.; MATTOS, M.L.T.; FORTES, G.R.L. Identificação e controle com antibióticos de bactérias endofíticas contaminantes em explantes de batata micropropagados. **Rev. Bras. Agrocienc.**, v.38, n.7, p.827-834, 2003.

RÊGO, M.M. et al. *In vitro* seed germination of mandacaru (*Cereus jamararu* DC.). **Revista Caatinga**, v.22, n.4, p.34-38, 2009.

ROJAS-ARÉCHIGA, M.; VÁZQUEZ-YANES, C. Cactus seed germination: a review. **Journal of Arid Environments**, v.44, n.1, p.85-104, 2000.

SILVA, R.M.S.; BLANK, M.F.A.; ÂNGELO, P.C.S. **Desinfestação de explantes de inhame roxo (*Dioscorea rotundata*. Poir) coletados no campo para micropropagação.** In: Anais do XIV Congresso brasileiro de floricultura e plantas Ornamentais & I Congresso brasileiro de cultura de tecidos, 2003. Resumos... Lavras: UFLA/FAEPE, 2003. p.329.

ZAPPI, D. et al. **Plano de ação nacional para conservação das Cactáceas.** Brasília: Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade, 2011. 113p.