

INFLUÊNCIA DE DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE SOLUÇÃO DESINFESTANTE NO ESTABELECIMENTO *IN VITRO* DE SEMENTES DE MARACUJÁ DOCE

Moises Zucoloto, Francisco José Brandão Torres, Juliano Gonçalves dos Santos, Rone Batista de Oliveira, Fabiola Lacerda de Souza Barros, Edilson Romais Schimit

CCA–UFES/Departamento de Produção Vegetal, Alto Universitário, Alegre
moiseszucoloto@hotmail.com, fajob_torres54@yahoo.com.br, juliano_agronomia@hotmail.com
rone-ms@cca.ufes.br, fabiolaagro@yahoo.com.br, edilson@cca.ufes.br

Resumo- O maracujá-doce (*Passiflora alata* Dryander), embora originário do Brasil ainda é pouco conhecido pelos brasileiros, isto demonstra a necessidade de estudos para as diversas etapas do processo produtivo, incluindo processo de cultivo *in vitro*. O presente trabalho teve como objetivo comparar o efeito da solução desinfestante em cinco concentrações para o estabelecimento *in vitro* de sementes de *Passiflora alata* Dryander. Para isso, utilizou-se hipoclorito de sódio, nas concentrações de 0,0%, 0,5%, 1,0%, 1,5% e 2,0%. O meio utilizado foi o MS, acrescido de 60g. L⁻¹ de sacarose e 100 mg. L⁻¹ de mio-inositol, e ágar na concentração de 7g.L⁻¹, sendo o pH ajustado para 5,8. As sementes foram colocadas 3 minutos em álcool, 15 minutos nas soluções desinfestantes, posteriormente lavadas com água e finalmente inoculadas em tubo de ensaio com 15 ml de meio de cultura. A cada 6 dias foram verificadas as taxas de contaminações tanto fúngicas como bacterianas, ao longo de 30 dias. No cultivo foi constatado que nas concentrações da solução desinfestante 0,5%, 1,0%, 1,5% e 2,0% não apresentaram nenhuma contaminação, desta maneira o álcool não foi eficiente na desinfestação tendo há necessidade no uso de hipoclorito de sódio.

Palavras chaves: Maracujá doce, *Passiflora alata* Dryander, micropropagação, semente, desinfestação.

Área do Conhecimento: Ciências Agrárias

Introdução

A espécie *Passiflora alata* Dryander, conhecida popularmente por maracujá doce, maracujá de refresco, maracujá de comer, maracujá-alado ou maracujá-guaçu, é considerada nativa do Brasil e se caracteriza por apresentar frutos com elevado valor nutritivo, boas qualidades gustativas, tamanho e aparência externa de grande aceitação, mostrando ser uma opção apropriada para ocupar não somente o mercado interno, como também o mercado externo de frutos *in natura*.

O cultivo *in vitro* de células e tecidos, constitui uma estratégia de extraordinária importância para solucionar problemas não apenas no âmbito da propagação, como também do melhoramento genético clássico e da biotecnologia das plantas, no gênero *Passiflorae*. A utilização de técnicas para cultura de tecidos, engenharia genética e transferência de DNA possibilitam a multiplicação massiva de novos clones e a introdução de genes visando à obtenção de plantas resistentes (PETERS et al. 2001).

Entretanto, para que os estudos nesta área possam avançar, faz-se necessário a elaboração de um eficiente protocolo de morfogênese de células, tecidos e órgãos, o qual depende do controle de diferentes fatores.

Dentre estes fatores, destacam-se o processo de desinfestação das sementes, sendo o etanol e os compostos à base de cloro as substâncias com

ação germicida mais utilizados neste processo. O uso de diferentes agentes germicidas é fundamental para a redução da contaminação das sementes durante o estabelecimento *in vitro*. Além disso, as concentrações das soluções desinfestantes e a combinação dos princípios ativos podem variar muito (MONTARROYOS, 2000), sendo necessária à adequação de acordo com cada espécie.

Desta forma, este trabalho teve como objetivo identificar um protocolo para desinfestação de sementes de *Passiflora alata* Dryander, visando à obtenção de elevada taxa de germinação com os menores níveis de contaminação possível.

Materiais e Métodos

O experimento foi conduzido no Laboratório de Culturas de Tecidos do Departamento de Fitotecnia, da Universidade Federal do Espírito Santo, ES. As sementes utilizadas foram extraídas de frutos colhidos de plantas cultivadas na área experimental da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Na coleta do material as sementes foram retiradas com auxílio de um liquidificador em baixa rotação, e em seguida secadas à sombra por 72 horas e foram acondicionadas em saco plástico conservado em geladeira. As sementes foram inicialmente lavadas com água corrente, logo após colocadas por 5 minutos em álcool a 70% v/v e posteriormente

submetidas ao tratamento com hipoclorito nas diferentes concentrações, permanecendo por 15 minutos na solução desinfestante, em seguida lavadas com água e finalmente inoculadas em tubo de ensaio com 15 ml de meio de cultura.

O meio de cultura utilizado foi o MS, acrescido de 100 mg.L⁻¹ de mio-Inositol, 60g.L⁻¹ de sacarose, 7g.L⁻¹ de ágar e o pH ajustado para 5,8, e posteriormente autoclavado a 121°C e 1,5 atm por 20 minutos.

Após a inoculação as sementes, foram mantidas em uma sala de crescimento com 16 horas de fotoperíodo, densidade de fluxo luminoso de 40 μmol.^{M⁻² s⁻¹} a uma temperatura de 23 ± 2 °C por um período de 30 dias.

Utilizou-se um delineamento inteiramente casualizado com 5 tratamentos e 5 repetições com 5 tubos por repetição. Ao longo dos 30 dias foram avaliadas a cada 6 dias contaminação bacteriana, fúngica e total.

Resultados

A análise da Tabela 1 permite observar que os tratamentos em que foi utilizado hipoclorito de sódio em todos os níveis de concentração associado ao álcool, se mostraram eficientes no controle da contaminação, sem registro de nenhum tipo de contaminante durante o período de avaliação. Comportamento diferente foi observado para o tratamento 1 em que as sementes foram desinfestadas apenas com álcool 70% quando registrou-se uma alta taxa de contaminantes, principalmente de fungo. Resultados semelhantes foram observados por Gondim et al. (2001), na desinfestação de sementes de *Apuleia leiocarpa*, os quais não registraram contaminação utilizando hipoclorito de sódio.

Tabela 1 - Efeito de diferentes concentrações, na taxa de contaminação de sementes, tanto por fungo quanto por bactéria.

Trat.	Cont. fúngica (%)	Cont. bacteriana (%)	Cont. Total (%)
T1	40	12,50	52,50
T2	0,00	0,00	0,00
T3	0,00	0,00	0,00
T4	0,00	0,00	0,00
T5	0,00	0,00	0,00

T1: Álcool 70%;

T2: Álcool 70% + Hipoclorito 0,5%;

T3: Álcool + Hipoclorito 1,0%;

T4: Álcool + Hipoclorito 1,5% e

T5: Álcool + Hipoclorito 2,0%.

Um outro aspecto analisado foi contaminação fúngica e bacteriana a longo do tempo, sendo analisado a cada 6 dias nos 30 dias do experimento, onde pode ser verificado na tabela 2, onde a maior parte das contaminações tanto fúngicas como bacterianas ocorreu nos primeiros dias de inoculação.

Tabela 2 - Contaminação tanto fúngica como bacteriana ao longo do tempo (Dias).

Contam.	1-6	7-12	13-18	19-23	24-30
Fung.(%)	30	10	0,00	0,00	0,00
Bact. (%)	7,50	5,00	0,00	0,00	0,00
Total (%)	37,50	15,00	0,00	0,00	0,00

Discussão

Considerando as contaminações um dos principais problemas do cultivo *in vitro*, o hipoclorito, pela ausência de contaminação observada neste ensaio, se apresenta como alternativa viável para a desinfestação das sementes de *Passiflora alata* Dryander. O álcool não foi eficiente para a desinfestação. Em relação ao período de contaminação nota-se que elas ocorreram nos primeiros dias, portanto deve-se tomar maior precaução possível neste período, com eliminação do material contaminado e para caso de multiplicação sem efeito de experimentação repõe-se o material.

Conclusão

Com base nos resultados conclui-se que o hipoclorito de sódio é eficiente para desinfestação das sementes do *Passiflora alata* Dryander, para cultivo *in vitro* e álcool não é eficiente para desinfestação das sementes.

Referências

- GONDIM, L. C.; MENDANHA, A.B.L.; TORES, R.A.A.; BLUMENSCHIN, A. Micropropagação de *Apuleia leiocarpa* (GARAPA) *in vitro*. ENCONTRO LATINO AMERICANO DE BIOTECNOLOGIA, 2001. Goiânia, GO. **Programas e Resumos...** Goiânia: Red Bio, 2001. p. 114.

- MANTARROYOS, A.V.V. Contaminação *in vitro*. **ABCTP Notícias**, Brasília, n.36/37, p.5-10, 2000.

- PETERS, J.A.; PEREIRA, A.B.; SOARES, V.L.F.; SOUZA-NETO, N.N. Embriogênese somática de

cacaueiro (*Theobroma cacao* L). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FISILOGIA VEGETAL, 8, 2001, **Anais...** Ilhéus, 2001.