

## DESINFESTAÇÃO DE EXPLANTES DE *Passiflora mucronata*

Taísa de Fátima Rodrigues de Almeida<sup>1</sup>, Simone Wellita Simão de Carvalho<sup>2</sup>, Tamyris de Mello<sup>3</sup>, Paula Aparecida Muniz de Lima<sup>1</sup>, Gilma Rosa do Nascimento<sup>1</sup>, Rodrigo Sobreira Alexandre<sup>3</sup>, José Carlos Lopes<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Universidade do Federal do Espírito Santo/Centro de Ciências Agrárias e Engenharias/Departamento de Agronomia, 29500-000 Alegre-ES, Brasil, aalmeida049@gmail.com, aluap-lima@hotmail.com, gilmarosanascimento@hotmail.com, jcufes@bol.com.br.

<sup>2</sup>Universidade Federal do Espírito Santo/Centro de Ciências Agrárias e Engenharias/Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento (PPGGM), 29550-000 Alegre-ES, Brasil, simonewellita@gmail.com.

<sup>3</sup>Universidade Federal do Espírito Santo/Centro de Ciências Agrárias e Engenharias/Departamento de Ciências Florestais e da Madeira, 29550-000 Jerônimo Monteiro-ES, Brasil, tamyrisdemello@gmail.com, rodrigossobreiraalexandre@gmail.com.

### Resumo

A espécie *Passiflora mucronata* apresenta como principais características o potencial ornamental, medicinal e resistência à bacteriose nas folhas, além de ser altamente resistente à antracnose nos frutos e ramos. Assim, objetiva-se testar diferentes métodos de desinfestação de explantes de *Passiflora mucronata* para o seu enraizamento *in vitro*. Os segmentos nodais de *P. mucronata* foram submetidos a cinco concentrações diferentes (10, 15, 20, 25 e 30 mL L<sup>-1</sup>) do fungicida Across<sup>®</sup>. O experimento foi montado em delineamento inteiramente casualizado, totalizando cinco tratamentos, com 20 micro-estacas por tratamento. Os segmentos nodais de *P. mucronata* apresentam grande incidência de fungos e bactérias, sendo que os fungos prevalecem. O tratamento com Across<sup>®</sup> nas diferentes concentrações não foi eficiente para a redução de contaminação nos explantes de *P. mucronata in vitro*, sendo que a concentração de 15 mg L<sup>-1</sup> foi a que desencadeou menor porcentagem de contaminação.

**Palavras-chave:** Maracujazeiro de restinga. *In vitro*. Fungicida.

**Área do Conhecimento:** Engenharia Agrônômica

### Introdução

*Passiflora* é o mais rico e abundante gênero da família Passifloraceae. Além disso, é o maior gênero de trepadeiras da região Neotropical. Os representantes brasileiros de *Passiflora* são conhecidos popularmente pelo nome indígena "maracujá". A produção brasileira de maracujá é de aproximadamente 697.859 toneladas por ano em uma área de 45.602 hectares. Essa produção representa, aproximadamente, 70% da produção mundial, o que confere ao Brasil o *status* de maior produtor e consumidor mundial, com rendimento médio de 15.303 kg ha<sup>-1</sup> (EMBRAPA, 2023).

*Passiflora mucronata* Lam. é uma espécie silvestre com potenciais medicinais, ornamentais e agrônômicos, em que suas folhas são resistentes à bacteriose, enquanto seus frutos e ramos são resistentes à antracnose (JUNQUEIRA et al., 2005). Dadas essas características, *P. mucronata* pode ser hospedeira de gene(s) candidato(s) para o controle da fusariose, doença causada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae* e *Fusarium solani* (CORREIA et al., 2022).

O maracujazeiro é uma cultura bem estudada *in vitro*, não se mostrando recalcitrante e respondendo bem à aplicação de reguladores de crescimento, já tendo sido possível completar o ciclo de propagação *in vitro* (GRATTAPAGLIA et al., 1991; APPEZZATO-DA-GLÓRIA et al., 2005). No entanto, ressalta-se que o potencial propagativo do gênero *Passiflora* depende da espécie e da fonte de explante utilizada (APPEZZATO-DA-GLÓRIA et al., 1999).

Para *P. mucronata*, espécie objeto do presente estudo, ainda não se encontra na literatura, relatos de cultura de tecidos para a mesma. Por se tratar de uma frutífera pouco cultivada, porém, com alto

interesse, tanto para fins medicinais, ornamentais e agrônômicos, têm-se a necessidade de desenvolver novas tecnologias e protocolos de propagação, contribuindo com a exploração da cultura. Assim, objetiva-se com este trabalho testar diferentes concentrações de fungicida na desinfestação de explantes de *Passiflora mucronata in vitro*.

## Metodologia

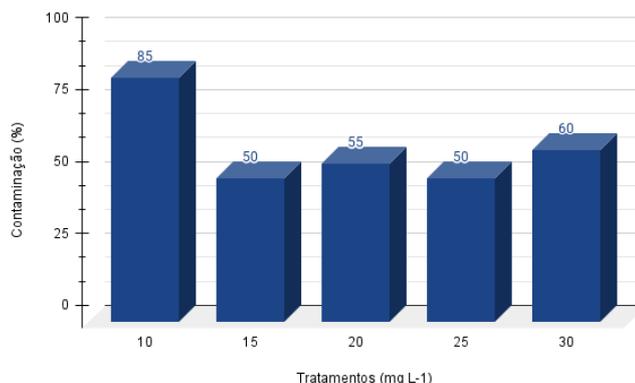
Os experimentos foram realizados no Laboratório de Análise de Sementes, Laboratório Interdisciplinar de Ciências do Espírito Santo (LICES), e no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais (LCTV), do Departamento de Ciências Florestais e da Madeira, do Centro de Ciências Agrárias e Engenharias, da Universidade Federal do Espírito Santo (UFES), em Jerônimo Monteiro, ES, Brasil. Estacas de maracujazeiro *Passiflora mucronata* Lam. foram obtidas de cultivo em casa de vegetação localizada no Viveiro de Espécies Florestais da Universidade Federal do Espírito Santo em Jerônimo Monteiro - ES. As estacas foram coletadas e segmentadas em segmentos nodais contendo uma gema cada, posteriormente foram higienizadas com detergente líquido e lavadas na água corrente. O estudo comparou cinco concentrações do fungicida Across<sup>®</sup> nas estacas: 10, 15, 20, 25 e 30 mL L<sup>-1</sup>.

Em câmara de fluxo laminar, os explantes foram imersos em álcool 70% por um minuto, seguida de solução de hipoclorito de sódio comercial (Candura<sup>®</sup>) emulsionada com Tween 20 (3 gotas/100ml) por 20 minutos, e posteriormente, os explantes foram expostos ao antibiótico amoxicilina (6 g L<sup>-1</sup> - União Química<sup>®</sup>) por 30 minutos, sendo que após cada procedimento foi realizado a tríplex lavagem, e então tratadas com Across<sup>®</sup> nas concentrações de 10, 15, 20, 25 e 30 mL L<sup>-1</sup> por 30 minutos, sem lavagem. Posteriormente, os explantes com os tratamentos foram inoculados em tubos de ensaio contendo 5 mL de meio MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962), mio-inositol (100 mg L<sup>-1</sup> - Sigma<sup>®</sup>), sacarose (30 g L<sup>-1</sup> - Dinâmica<sup>®</sup>) e ágar (6 g L<sup>-1</sup> - Kasvi<sup>®</sup>), pH ajustado para 5,7±0,1, antes da adição do ágar. Os tubos de ensaio então foram mantidos em sala de crescimento com fotoperíodo e temperatura 27±2 °C. O experimento foi montado em delineamento inteiramente casualizado, totalizando cinco tratamentos, com 20 micro-estacas por tratamento. Foram analisadas a porcentagem de contaminação por fungos e bactérias e a eficiência da desinfestação com fungicida Across<sup>®</sup> nos explantes de *P. mucronata*.

## Resultados

Foram realizados cinco tratamentos de assepsia testando diferentes concentrações de fungicida para a desinfestação dos segmentos nodais de *P. mucronata*, cujos resultados evidenciaram que todos os tratamentos não foram 100% eficientes para eliminação dos microrganismos, principalmente porque houve contaminação, nas diferentes proporções testadas, dez dias após a inoculação dos explantes (Figura 1).

Figura 1 – Porcentagem de contaminação bacteriana e fúngica de segmentos nodais de *Passiflora mucronata* tratadas com diferentes concentrações de Across<sup>®</sup>, dez dias após a inoculação dos explantes.



Fonte: a autora

Através dos resultados foi possível constatar que com as concentrações de 15 e 25 mg L<sup>-1</sup> de fungicida, os explantes apresentaram menor porcentagem de contaminação (50%), porém não se pode

considerar como eficaz, pelo fato de que ocorre uma perda de metade do tratamento. Além disso, desse percentual de contaminação em sua maioria é ocasionada por fungos (Tabela 1), tornando ineficiente a ação do fungicida nessas concentrações testadas. Após sete dias de inoculação dos explantes já houve o surgimento de fungos e bactérias em todas as concentrações e tempos de exposição testados.

Tabela 1 – Porcentagem de contaminação total, contaminação fúngica e contaminação bacteriana de explantes de *Passiflora mucronata* tratadas com diferentes concentrações de Across®, dez dias após a inoculação.

| Tratamentos | Contaminação Total (%) | Contaminação Fúngica (%) | Contaminação bacteriana (%) |
|-------------|------------------------|--------------------------|-----------------------------|
| 10 ml L-1   | 85                     | 60                       | 25                          |
| 15 ml L-1   | 50                     | 35                       | 15                          |
| 20 ml L-1   | 55                     | 45                       | 10                          |
| 25 ml L-1   | 50                     | 45                       | 5                           |
| 30 ml L-1   | 60                     | 35                       | 25                          |

Fonte: a autora

## Discussão

A etapa de desinfestação de explantes para a propagação *in vitro* é a mais crucial, pois se não for estabelecido um protocolo de desinfestação eficaz, todo o estudo pode ser perdido. Assim como para outras culturas, a desinfestação de *P. mucronata* vem se mostrando uma etapa crucial na propagação *in vitro*, sendo necessário a continuação dos estudos, com diferentes fungicidas e métodos, com intuito de obter uma desinfestação eficaz para esses explantes.

A presença de microrganismos, principalmente fungos e bactérias, pode afetar a força germinativa e levar à formação de plântulas anormais ou à morte de plântulas. Portanto, é importante utilizar um método de assepsia adequado e eficaz para que as mudas possam servir como fonte de explantes livres de contaminação (COUTO et al., 2004).

Ao observar os resultados de contaminação de explantes de *P. mucronata* (Tabela 1), nota-se que o uso de amoxicilina se mostrou eficiente, diminuindo a contaminação dos explantes. Donato et al. (2005) concluíram que a amoxicilina foi o antibiótico mais eficiente na inibição do crescimento das bactérias *Acetobacter diazotrophicus* e *Herbaspirillum* spp.

O agente químico hipoclorito de sódio é utilizado para esterilização de superfícies, frutas, hortaliças, água, entre outros. No entanto, para esta espécie não apresentou efeito significativo na desinfestação de segmentos nodais. Emmanuel et al. (2004) relataram que a utilização em larga escala foi atribuída ao seu vasto espectro de atividade biocida contra bactérias, fungos e vírus.

O fungicida testado não inibiu a proliferação de fungos nos explantes de *P. mucronata*. Isso pode ser explicado pela dificuldade de desinfestação de segmentos nodais dessa espécie, levando a possibilidade da associação dos microrganismos com as sementes do material. Essa associação pode fornecer ao patógeno um modo de sobreviver a longo prazo, em que esporos de muitas espécies fúngicas podem permanecer protegidos no tegumento da semente; propágulos fúngicos também podem sobreviver em condições de baixa umidade e baixa colonização interna e transmitida como uma infecção, caso ocorra uma colonização externa em temperaturas como as utilizadas no armazenamento das sementes (INGLIS 1980; MACLAUGHLIN; MARTYN, 1982). Levando a possibilidade desse material genético se propagar infectado por longo prazo.

Torna-se necessário novos estudos, com diferentes fungicidas e doses, a fim de encontrar um protocolo de desinfestação *in vitro* eficaz para a espécie *P. mucronata*.

## Conclusão

A amoxicilina é eficiente para a redução de contaminação bacteriana em explantes de *Passiflora mucronata in vitro*.

As concentrações de 15 e 25 mL L<sup>-1</sup> de fungicida apresentaram menores porcentagem de contaminação total em explantes de *Passiflora mucronata in vitro*.

As concentrações de 10, 15, 20, 25 e 30 mL L<sup>-1</sup> de fungicida não foram eficientes para inibir a contaminação fúngica em explantes de *Passiflora mucronata in vitro*.

Há necessidade de mais estudos para a desinfestação de explantes de *Passiflora mucronata*.

## Referências

APPEZZATO-DA-GLÓRIA, B.; VIEIRA, M.L.C.; DORNELAS, M.C. Anatomical studies of in vitro morphogenesis in leaf explants of passion fruit. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 34, p. 2007-2013, 1999.

APPEZZATO-DA-GLÓRIA, B.; FERNANDO, J.A.; MACHADO, S.R.; VIEIRA, M.L.C. Estudos morfológicos, anatômicos, histoquímicos e ultra-estruturais da organogênese *in vitro* de maracujazeiro. In: FALEIRO, F.G.; JUNQUEIRA, N.T.V.; BRAGA, M.V. (eds) **Maracujá: germoplasma e melhoramento genético**. Planaltina: Embrapa Cerrados. 2005. p. 387- 407.

CORREIA, A.; ALEXANDRE, R.S.; PFENNING, L.H.; CABANEZ, P.A.; FERREIRA, A.; DA SILVA FERREIRA, M.F.; LIMA, P.A.M.; MELLO, T.; OTONI, W.C.; LOPES, J.C. *Passiflora mucronata*, a passion fruit wild species resistant to fusariosis and a potential rootstock for commercial varieties. **Scientia Horticulturae**, v. 302, p. 111174, 2022.

COUTO, J.M.F.; OTONI, W.C.; PINHEIRO, A.L.; FONSECA, E.P. Desinfestação e germinação *in vitro* de sementes de Mogno (*Swietenia macrophylla* King). **Revista Árvore**, v. 5, p. 633-642, 2004.

DONATO, V. M. T. S.; ANDRADE, A. G. D.; TAKAKI, G. M. D. C.; MARIANO, R. D. L. R.; MACIEL, G. A. Plantas de cana-de-açúcar cultivadas *in vitro* com antibióticos. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 29, p. 134-141, 2005.

EMMANUEL, E.; KECK, G.; BLANCHARD, J.M.; VERMANDEB, P.; PERRODINA, Y. Toxicological effects of disinfection using sodium hypochlorite on aquatic organisms and its contribution to AOX formation in hospital wastewater. **Environment International**, v. 30, p. 891-900, 2004.

EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Embrapa Mandioca e Fruticultura: **Maracujá**. Parque Estação Biológica - PqEB, s/nº, Brasília, DF, 2023. Disponível em: <https://www.embrapa.br/mandioca-e-fruticultura/cultivos/maracuja>. Acesso em 12 ago. 2024.

GRATTAPAGLIA, D.; CALDAS, L.S.; SILVA, J.R.; MACHADO, M.A. Cultura de tecidos do Maracujá. In: SÃO JOSÉ A.R.; FERREIRA F.R.; VAZ R.L. (eds) **A cultura do maracujá no Brasil**. Jaboticabal: FUNEP. 1991. p. 61-77.

INGLIS, D.A. Contamination of asparagus seed by *Fusarium oxysporum* f. sp. *asparagi* and *Fusarium moniliforme*. **Plant Disease**, v. 6. p. 74-76, 1980.

JUNQUEIRA, N.T.V.; BRAGA, M.F.; FALEIRO, F.G.; PEIXOTO, J.R.; BERNACCI, L.C. Potencial de espécies silvestres de maracujazeiro como fonte de resistência a doenças. In: FALEIRO, F.G.; JUNQUEIRA, N.T.V.; BRAGA, M.F. **Maracujá: germoplasma e melhoramento genético**. Planaltina: Embrapa Cerrados. 2005. p. 81-106.

MCLAUGHLIN, R.; MARTYN, R.D. Identification and pathogenicity of *Fusarium* species isolates from surface disinfested watermelon seed. **Journal of Seed Technology**, v. 7, p. 97-107, 1982.

## Agradecimentos

Os autores agradecem à Universidade Federal do Espírito Santo pelo fornecimento de instalações e equipamentos disponibilizados à pesquisa; à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão de bolsa de mestrado e de doutorado à primeira e quinta autoras, respectivamente; ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo suporte financeiro e bolsas de produtividade em pesquisa aos dois últimos autores; à Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Espírito Santo (FAPES), pela concessão taxa de pesquisa ao último autor (Edital FAPES N° 19/2018 – Taxa de pesquisa - Processo FAPES n° 82195510), pela concessão de bolsa de doutorado à segunda autora, e pela bolsa de Fixação e Aperfeiçoamento de Doutores no Espírito Santo à terceira e quarta autora (Edital Fapes n° 15/2022 – Fixação, Aperfeiçoamento de Doutores no Espírito Santo - PROFIX 2022); Edital Fapes N° 21/2022 Apoio à Infraestrutura de Pesquisa, Desenvolvimento e Inovação em Laboratórios Interdisciplinares-Laboratório Interdisciplinar de Ciências do Espírito Santo (LICES).