



**11ª Jornada Científica e
Tecnológica do IFSULDEMINAS**
& **8º Simpósio de
Pós-Graduação**

ASSEPSIA DE SEMENTES DE CANELA SASSAFRÁS (*Ocotea odorifera* Vellozo)

**Bárbara C. MARCONDES¹; Amanda K. dos R. ALFEU²; Ana M. dos S.
FERREIRA³; Daniele N. dos REIS⁴; Carolina M. MOREIRA⁵**

RESUMO

A *Ocotea odorifera*, angiosperma da família Lauraceae, é uma planta que está em risco de extinção devido à intensa exploração do seu óleo, o safrol. Além de possuir maturação sexual tardia, seu cultivo no ambiente natural muitas vezes não apresenta sucesso, pois possui desenvolvimento lento e dificuldade na germinação das sementes devido à presença do óleo que oxida a mesma, dificultando, assim, a propagação da espécie e justificando a necessidade de estudos *in vitro*. Nesse contexto, o objetivo do presente trabalho foi identificar qual metodologia de assepsia viabiliza a menor taxa de contaminação e oxidação *in vitro* de sementes de *O. odorifera*. Os métodos utilizados foram diferentes concentrações de hipoclorito de sódio e diferentes tempos de imersão nas soluções. Os resultados permitiram concluir que a maior eficiência dentre os tratamentos testados foi a imersão dos explantes na solução com concentração de 10% de hipoclorito de sódio por 10 minutos. Para a variável oxidação dos explantes não se observou notórias diferenças estatísticas entre os tratamentos, considerando então a baixa toxicidade dos mesmos para os explantes.

Palavras-chave:

In vitro; Hipoclorito de sódio; Tempo de imersão; Contaminação; Oxidação.

1. INTRODUÇÃO

A *Ocotea odorifera*, popularmente conhecida como canela sassafrás é endêmica da Mata Atlântica e do Cerrado. A árvore é uma Angiosperma da família Lauraceae, citada na lista vermelha da IUCN, que está em risco de extinção desde 2012 (CARVALHO, 2005). A intensa exploração do seu óleo que contém safrol e a exploração excessiva de sua madeira para construção civil e móveis de luxo ocasionou a considerável redução de indivíduos da espécie, sendo que quase não sobraram exemplares.

A árvore atinge a maturidade sexual aos 20 de idade, sendo tardia comparada a outras espécies. O cultivo no ambiente natural da planta muitas vezes não se obtém sucesso, pois a mesma possui um desenvolvimento muito lento e a presença do safrol dificulta a germinação da semente, devido à oxidação, justificando, assim, os estudos de cultivo *in vitro* (CARVALHO, 2005; MORITZ et al., 2009).

¹PIVIC, IFSULDEMINAS – *Campus* Poços de Caldas. E-mail: barbaracmarcondes@gmail.com.

²PIVIC, IFSULDEMINAS – *Campus* Poços de Caldas. E-mail: amandareisalfeu@outlook.com

³PIVIC, IFSULDEMINAS – *Campus* Poços de Caldas. E-mail: ninhaf2158@gmail.com

⁴Coorientador, Fundação Jardim Botânico de Poços de Caldas. E-mail: danielle.nog@gmail.com

⁵Orientadora, IFSULDEMINAS – *Campus* Poços de Caldas. E-mail: carolina.moreira@ifsuldeminas.edu.br

A primeira etapa para o estabelecimento de uma planta *in vitro* é a assepsia dos explantes, visto que o cultivo *in vitro* proporciona um ambiente favorável para o crescimento de microrganismos como bactérias, leveduras e fungos filamentosos (PEREIRA et al., 2010).

A imersão dos explantes em agentes desinfetantes são as abordagens usualmente utilizadas durante o estabelecimento de protocolos de assepsia do material vegetal. O uso de substâncias, tal como o hipoclorito de sódio, é descrito por inúmeros autores como forma de minimizar a contaminação microbiana, e a concentração ideal da solução varia de uma espécie para outra. Além de diferentes concentrações, outra variável analisada é o tempo de imersão do explante na solução para estabelecimento de protocolo de assepsia (LEIFERT et al., 1994; SILVA et al., 2003; PEREIRA et al., 2003).

Neste sentido, o presente trabalho teve como objetivo identificar qual metodologia de assepsia possibilita a menor taxa de contaminação e oxidação na propagação *in vitro* da canela sassafrás (*O. odorifera*).

2. MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi desenvolvida no Laboratório de Cultura de Tecidos da Fundação Jardim Botânico de Poços de Caldas - Minas Gerais. As sementes utilizadas como explantes para o estabelecimento *in vitro* foram retiradas de frutos verdes coletados de árvores de uma fazenda no município de Botelhos – MG, localização (21°41'14.3" 46°22'02.9") no dia dezanove de fevereiro de 2019.

As sementes foram lavadas abundantemente com água destilada e detergente neutro. Posteriormente foram submetidas aos tratamentos constituídos por soluções de hipoclorito de sódio (2,5% cloro ativo) em diferentes concentrações (3, 5 e 10%), por 5 e 10 minutos de imersão das sementes nas soluções, sendo 12 repetições por tratamento. Em todos os seis tratamentos as sementes foram mantidas sob agitação constante, seguido de três lavagens com água destilada autoclavada, sob capela de fluxo laminar.

Após a assepsia, as sementes foram cortadas e somente a parte próxima do cotilédone com o eixo embrionário foi inoculado em frascos contendo 40 ml de meio MS autoclavado (Murashige e Skoog, 1962), suplementado com 30g/L de sacarose e com pH ajustado para $5,7 \pm 0,1$. Após a inoculação, os tratamentos foram mantidos em sala de crescimento, permanecendo 7 dias no escuro e posteriormente transferidos para um ambiente com fotoperíodo de 16h luz/8h escuro, à temperatura de $25 \pm 1^\circ \text{C}$.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC), formando um esquema fatorial 3x2. A porcentagem de contaminação e porcentagem de oxidação foram avaliados após 14

dias da inoculação. A análise de dados foi realizada utilizando-se o software R sendo a análise de variância entre tratamentos verificada pelo teste F e posteriormente, analisados pelo teste de comparação de médias (Scott-Knott) a 5% de probabilidade.

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

A análise de variância relativa aos dados obtidos revela que não houve significância para a interação entre os dois fatores. Para a análise das variáveis de forma isolada, detectou-se diferença significativa entre os tratamentos para a variável porcentagem de contaminação das sementes de *Ocotea odorifera*. De acordo com a Tabela 1, observa-se que os tratamentos em que as sementes foram imersas em hipoclorito de sódio à 10% por 10 minutos, 10% por 5 minutos, 5% por 10 minutos e 3% por 10 minutos foram os que apresentaram maiores taxas de desinfestação ao final de 14 dias após a inoculação. Esse resultado evidencia a eficiência do hipoclorito de sódio na desinfestação e controle da sanidade do material introduzido *in vitro*.

Esses resultados corroboram aos obtidos por Vicentini (1995), que também observou redução da porcentagem de contaminação em segmentos nodais de *Ocotea odorifera*, com o aumento da concentração de hipoclorito de sódio. Picolotto et al. (2007), também, demonstraram a eficiência de 5% de cloro ativo na desinfestação de sementes de jabuticabeira.

Tabela 1. Porcentagem de contaminação e oxidação das sementes de canela sassafrás submetidas às diferentes concentrações de hipoclorito de sódio e tempo de imersão. Poços de Caldas, 2019.

Hipoclorito de Sódio (%)	Tempo de imersão (min)	Contaminação (%)	Oxidação (%)
3	5	100,0 b	8,3 a*
3	10	50,0 a	25,0 a
5	5	66,6 b	16,6 a
5	10	33,3 a	16,6 a
10	5	33,3 a	16,6 a
10	10	16,6 a	8,3 a

*Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo Teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade.

Para a variável oxidação não houve diferença significativa entre as diferentes concentrações de hipoclorito e tempos de imersão dos explantes na solução, numericamente os tratamentos com menor (3%) e maior (10%) concentração de hipoclorito obtiveram a menor taxa de oxidação, demonstrando o efeito não tóxico do hipoclorito sobre as sementes.

O controle da oxidação é um ponto importante pois, além dos contaminantes, pode ser também crucial para a reprodução das espécies vegetais de interesse (Batista et al. 2007).

4. CONCLUSÕES

A utilização de hipoclorito de sódio para desinfestação das sementes de *Ocotea odorífera* na concentração de 10% por 10 minutos mostrou, numericamente, a menor taxa de contaminação por bactérias e fungos, para posterior micropropagação.

As diferentes concentrações de hipoclorito de sódio e diferentes tempos de imersão testadas não influenciaram estatisticamente na porcentagem de oxidação das sementes de canela sassafrás.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos à Fundação Jardim Botânico pela parceria com o Instituto Federal do Sul de Minas - campus Poços de Caldas.

REFERÊNCIAS

BATISTA, B. N.; RAPÔSO, N. V.M.; LIBERATO, M. A. R. Determinação do protocolo de assepsia para reprodução in vitro de *Euterpe precatoria* MART. **Revista Fitos**. v.11, n1. p. 40-47. Rio de Janeiro. 2017.

CARVALHO, P. E. R. Canela-Sassafrás. Embrapa Florestas, Paraná, dez. 2005.

LEIFERT, C.; MORRIS, C.E.; WAITES, W.M. Ecology of microbial saprophytes and pathogens in tissue culture and field grown plants: reason for contamination problems in vitro. **Critical Reviews in Plant Sciences**, Netherlands, v.13, p. 139-183, 1994.

MORITZ et al. Estabelecimento in vitro de *Ocotea odorifera*, *O. catharinensis* e *O. porosa*. **Pesquisa Florestal Brasileira**, Colombo, n.59, p.37-44, jul./dez. 2009.

PEREIRA et al. Controle de contaminantes em explante de bananeira Grande Naine na micropropagação in vitro. **Revista Tecnologia & Ciência Agropecuária**., João Pessoa, v.4, n.2, p.35-39, jun. 2010.

PEREIRA et al. Identificação e controle com antibióticos de bactérias endofíticas contaminantes em explantes de batata micropropagados. **Revista Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v.38, n. 7, p. 827-834, jul. 2003.

PICOLOTTO, L.; SCHUCH, M.; SOUZA, J. A.; SILVA, L. C.; FERRI, J.; FACHINELLO, J. C. Efeito do hipoclorito de sódio, fotoperíodo e temperatura no estabelecimento in vitro de jabuticabeira. **Scientia Agraria**, v.8, n.1, p. 19-23, 2007.

SILVA, J.T. S.; NHUT, D.T.; TANAKA, M.; FUKAI, S. The effect of antibiotics on the in vitro growth response of chrysanthemum and tobacco stem transverse thin cell layers (tTCLs). **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 97, p. 397-410, 2003.

VICENTINI, L. S. Propagação vegetativa “in vitro” de imbuia (*Ocotea porosa* Nees) e sassafrás (*Ocotea odorifera* Vellozo). Curitiba, 1995.