

## DESINFESTAÇÃO DE SEMENTES DE MAROLO PARA ESTABELECIMENTO *IN VITRO*

Donieverson A. dos SANTOS<sup>1</sup>; Wellington M. BARBOSA<sup>2</sup>; Pedro P. SEPINI<sup>3</sup>; Ricardo P. SEPINI<sup>4</sup>; Fernanda O. A. FIGUEIREDO<sup>5</sup>

### RESUMO

O objetivo deste trabalho foi testar diferentes formas de desinfestação no estabelecimento *in vitro* de *Annona crassiflora*. Foram coletados os frutos e extraídas as sementes, que foram utilizadas como explantes para a inoculação em meio de cultura e estabelecimento *in vitro*. As sementes foram submetidas a quatro diferentes processos de desinfestação, com vistas a encontrar o que pudesse ser mais eficiente favorecendo a germinação *in vitro* da espécie. Os tratamentos foram realizados com desinfestação padrão (álcool 70° e hipoclorito de sódio 2,5%) e com adição de paraformaldeído e posterior inoculação em frascos com meio de cultura MS acrescido de vitaminas em concentrações normais e 30 g.L<sup>-1</sup> de sacarose e 2,6 g.L<sup>-1</sup> de phytigel e carvão ativado 1 g.L<sup>-1</sup>. Após trinta dias observou-se que duas desinfestações padrão + paraformaldeído foi o tratamento que obteve menor índice de contaminação (40%) quando comparado aos outros tratamentos.

**Palavras-chave:** *Annona crassiflora*; Microrganismos; Contaminação; Formaldeído.

### 1. INTRODUÇÃO

Entre as famílias de grande ocorrência no bioma cerrado, a família *Annonaceae* é representada por cerca de 27 espécies, tendo destaque pelo seu potencial frutífero os gêneros *Annona*, *Rollinia* e *Duguetia*. O gênero *Annona* apresenta duas espécies frutíferas no cerrado, *Annona coriacea* Mart. e *Annona crassiflora* Mart. A *Annona crassiflora*, é popularmente conhecida como marolo, bruto, cabeça-de-negro, cascudo e araticum cortiça. Caracteriza-se por ser uma planta arbórea, lenhosa, caducifólia na época seca, hermafrodita e xerófita. A fenologia desta espécie é estabelecida pela floração no início da estação chuvosa, que ocorre entre setembro e dezembro, com a frutificação com início em novembro e maturação dos frutos de janeiro a março. A dispersão das sementes é realizada por animais (LORENZI, 1998).

Devido à importância da espécie, os frutos de *A. crassiflora* são frequentemente coletados no cerrado (extrativismo), além disso, a ocupação do cerrado pela agricultura está impedindo a regeneração natural da espécie. Assim, ações precisam ser tomadas para evitar que, no futuro próximo, esta espécie seja extinta. A preservação e a conservação de *A.*

1 Instituto Federal do Sul de Minas – Campus Machado. Machado/MG. E-mail: [d.afranio93@hotmail.com](mailto:d.afranio93@hotmail.com)

2 Instituto Federal do Sul de Minas – Campus Machado. Machado/MG. E-mail: [wambarbosa@hotmail.com](mailto:wambarbosa@hotmail.com)

3 Instituto Federal do Sul de Minas – Campus Machado. Machado/MG. E-mail: [pedrosepini@gmail.com](mailto:pedrosepini@gmail.com)

4 Centro Superior de Ensino e Pesquisa de Machado – CESEP. Machado/MG. E-mail: [ricardopsepini@gmail.com](mailto:ricardopsepini@gmail.com)

5 Instituto Federal do Sul de Minas – Campus Machado. Machado/MG. E-mail: [fernandah\\_tp@hotmail.com](mailto:fernandah_tp@hotmail.com)

*crassiflora* requerem interesses sociais, econômicos e biológicos, no entanto, essa meta é em longo prazo e um programa de reflorestamento utilizando mudas de *A. crassiflora* se torna necessário. Entretanto, estudos realizados por Rizzini (1973), indicam que as sementes desta espécie apresentam dormência endógena devido à imaturidade do embrião.

A micropropagação é um sistema que pode ser realizado num curto espaço de tempo, cujas vantagens podem ser: produção de mudas uniformes, livres de patógenos, otimização da produção e a disseminação da espécie em questão, com a produção de plantas em qualquer época do ano (MELO et al., 2013).

Para que a micropropagação seja empregada de forma correta é necessária à inoculação em ambientes e condições assépticas, e para tal deve-se realizar a desinfestação dos explantes, para que durante o processo de estabelecimento *in vitro* não haja alterações com a ação de microrganismos, como fungos e bactérias, que de alguma forma podem interferir no estabelecimento *in vitro* das mais variadas culturas. A escolha de uma planta matriz com frutos de boa qualidade sanitária também pode contribuir para a redução da contaminação (PINHAL et al., 2011).

O objetivo desse trabalho foi testar diferentes formas de desinfestação de sementes de *Annona crassiflora* coletadas em Paraguaçu – MG com o intuito de reduzir o percentual de contaminação e estabelecer a espécie *in vitro*.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no laboratório de Biotecnologia do IFSULDEMINAS-Campus Machado. Os frutos foram coletados na região de Paraguaçu-MG e as sementes foram retiradas e lavadas manualmente em água corrente até que não apresentassem polpa em sua superfície e, em seguida foram secas à sombra por 72 horas, embaladas em sacos de papel e armazenadas em câmara fria à 10°C.

Após esse procedimento as sementes foram retiradas da câmara fria e aguardado 24 horas para que se atingisse a temperatura ambiente. Após esse período as sementes foram desinfestadas e inoculadas imediatamente em frascos contendo meio MS (MURASHIGE e SKOOG, 1962) acrescido de vitaminas em concentrações normais e 30 g.L<sup>-1</sup> de sacarose e 2,6 g.L<sup>-1</sup> de phytigel e carvão ativado 1 g.L<sup>-1</sup>. O pH foi ajustado para 5,7 antes da autoclavagem. Posteriormente, foram mantidas em sala de crescimento em temperatura de 24 ± 1°C, sob fotoperíodo de 12 h sob luz branca fria e irradiância de 25 μmol.m<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup>. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado.

As sementes foram submetidas a quatro diferentes processos de desinfestação e avaliadas em três períodos. Os tratamentos foram constituídos por quatro formas de desinfestação e cinco repetições. T1: Desinfestação padrão (álcool 70° 2 minutos; hipoclorito de sódio 2,5% + 3 gotas de tween 20 para cada 100 mL por 25 minutos). T2: Duas desinfestações padrão. T3: Desinfestação padrão + paraformaldeído e T4: Duas desinfestações padrão + paraformaldeído. O tratamento com paraformaldeído constitui-se da transferência das sementes para um frasco autoclavado com tampa contendo algodão embebido em formalina (Paraformaldeído a 39%) por 15 minutos. O experimento foi avaliado a cada dez dias, para verificar o percentual de contaminação, totalizando-se três avaliações.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Houve 100% de contaminação aos 10 dias de cultivo quando os explantes foram desinfestados pelo método padrão, por uma ou duas vezes. Nos tratamentos em que houve o acréscimo de paraformaldeído, houve redução da contaminação. Quando se utilizou a desinfestação padrão e paraformaldeído, houve retardo na porcentagem da contaminação até o vigésimo dia. No entanto, após 30 dias 100% dos explantes estavam contaminados (Figura1). A contaminação dos explantes foi menor, apresentando uma redução de até 60%, quando foram utilizadas duas desinfestações padrão, seguida do tratamento com paraformaldeído (Figura 1).

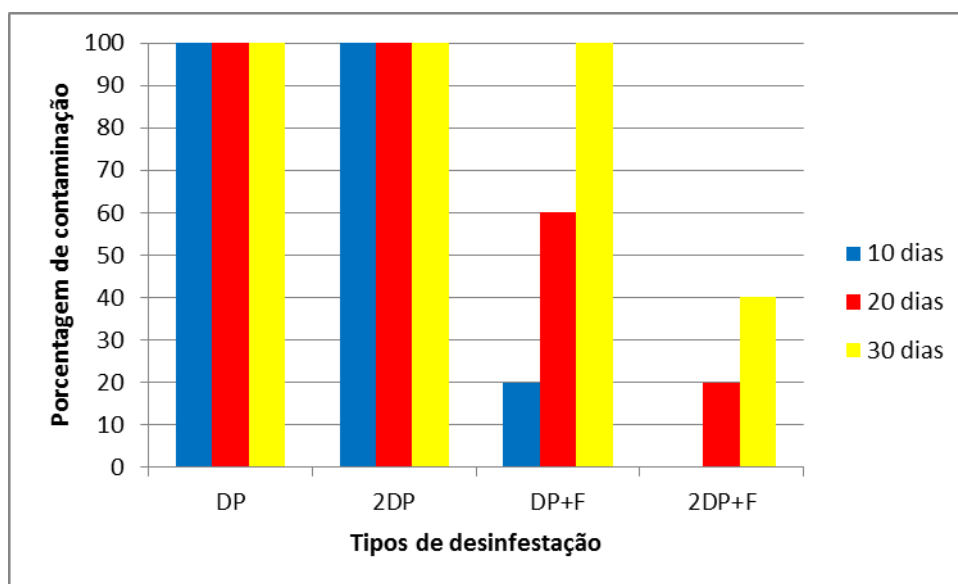


Figura 1: Porcentagem de contaminação dos explantes 10, 20 e 30 dias após a inoculação. DP: Desinfestação padrão; 2DP: Desinfestação padrão realizada duas vezes; DP+F: Desinfestação padrão + paraformaldeído; 2DP+F: Duas desinfestações padrão + paraformaldeído



Figura 2: Explantes inoculados e contaminados (esquerda) e explante desinfestado e germinado (direita).

#### 4. CONCLUSÃO

A desinfestação padrão associada com a utilização de paraformaldeído demonstrou-se mais eficiente que a desinfestação padrão para o estabelecimento *in vitro* de sementes de marolo.

#### AGRADECIMENTOS

Ao IFSULDEMINAS – Campus Machado e ao CNPq pelo auxílio financeiro.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

LORENZI, H. **Árvores brasileiras**: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas do Brasil. 2. ed. Nova Odessa: Plantarum, 1998. 2 v.

MELO, F.; VEIGA, P.O.A.; BARBOSA, W.M.; GONÇALVES, T.S.; CAPRONI, D.T.R.; TEIXEIRA, M. G. Propagação *in vitro* de marolo. **5ª Jornada Científica e Tecnológica e 2º Simpósio de Pós-Graduação do IFSULDEMINAS**, Inconfidentes, 2013.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, V.15, p. 473- 497, 1962.

PINHAL, H. F.; ANASTÁCIO, M. R.; CARNEIRO, P. A. P.; DA SILVA, V. J.; DE MORAIS, T. P.; LUZ, J. M. Q. Aplicações da cultura de tecidos vegetais em fruteiras do Cerrado. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 41, n. 7, p. 1136-1142, 2011.

RIZINNI, C.T. Dormancy in seeds of *Annona crassiflora* Mart. **Journal of Experimental Botany**, London, v. 24, n. 78, p. 117 – 123, Feb. 1973.