SABER CIENTÍFICO, Porto Velho, 2 (2): 56 - 62, jul./dez.,2009.

DESINFESTAÇÃO DE EXPLANTES RADICULARES DE BACURIZEIRO (*Platonia insignis* Mart.)

SURFACE STERILIZATION OF RADICULAR EXPLANTS OF BACURI (*Platonia insignis* Mart.)

Maria das Graças Rodrigues Ferreira[1]
Maurício Reginaldo Alves dos Santos[2]
Eliete Rodrigues dos Santos[3]
Josilene Félix da Rocha[3]
Arêssa de Oliveira Correia[4]

RESUMO: O bacurizeiro (*Platonia insignis* Mart.) é uma planta frutífera que apresenta madeira com boa característica físico-mecânica e suas sementes podem ser utilizadas para extração de óleo. Este trabalho objetivou avaliar diferentes tratamentos de desinfestação de explantes radiculares de bacurizeiro para o seu estabelecimento *in vitro*. Segmentos radiculares foram lavados com água destilada e detergente, em seguida foram seccionados em estacas de 1,5 a 2,0 cm, as quais foram imersas em álcool 70% (v/v) por 1 minuto e em soluções de hipoclorito de sódio a 0,50, 1,25 e 1,75% (p/v), durante 20 e 30 minutos. Metade das estacas foram imersas em solução antifúngica (carboxin 0,067% p/v + thiram 0,067% p/v, carbendazim 0,17% p/v, clorotalonil 0,17% p/v + tiofanato-metílico 0,067% p/v) por 30 minutos, em seguida todos explantes ficaram imersos em solução antioxidante com 100 $mg.L^{-1}$ de ácido ascórbico e 150 $mg.L^{-1}$ de ácido cítrico por 10 minutos. Os explantes foram inoculados em meio MS acrescido de 3,0% de sacarose, 100 mg/L de cefotaxima e 0,8% de ágar. Foram utilizadas dez repetições por tratamento. Observou-se que a imersão em solução de hipoclorito de sódio a 1,75% por 30 minutos, foi eficiente quando associada à utilização da solução antifúngica, obtendo descontaminação total dos explantes. As soluções de 0,50 e 1,25%, mesmo associadas à solução fungicida, resultaram em níveis de contaminação variáveis. Os tratamentos nos quais não se utilizou solução antifúngica atingiram 100% de contaminação.

PALAVRA CHAVES: Cultura de tecidos vegetais. Frutas tropicais. Hipoclorito de sódio. Solução antifúngica.

ABSTRACT: Bacurizeiro (*Platonia insignis* Mart.) is a fruit plant that presents wood with useful physical-mechanical characteristics with seeds that can be used for oil extration. The objective of this work was to evaluate different treatments of surface sterilization of root explants of bacurizeiro for *in vitro* establishment. Root segments were washed in distilled water and detergent and then cut in 1.5 to 2.0 cm parts. The cuttings were immersed in 70% v/v alcohol for 1 minute and 0.50, 1.25 and 1.75% p/v sodium hypochlorite solutions during 20 and 30 minutes. Half of the cuttings were immersed in antifungal solution (0.067% p/v carboxin + 0.067% p/v thiram, 0.17% p/v carbendazim, 0.17% p/v clorotalonil + 0.067% p/v tiofanate-methylic) for 30 minutes. After that, all explants were immersed in antioxidant solution with 100 mg.L-1 ascorbic acid and 150 mg.L-1 citric acid for 10 minutes. The explants were inoculated in MS medium supplemented with 3.0% sucrose, 100 mg.L-1 cefotaxime and 0.8% agar. Ten repetitions for treatment were used. Immersion in 1.75% sodium hypochlorite solution per 30 minutes, associated with antifungal solution results in total sterilization of the explants. The 0.50 and 1.25% solutions, associated with fungicidal solution resulted in variable levels of contamination. The treatments without antifungal solution reached 100% of contamination.

KEYWORDS: Plant tissue culture. Tropical fruit. Bacurizeiro. Sodium hypochlorite. Antifungal solution.

[1]Drª, Agrônoma, pesquisadora, Embrapa Rondônia, Porto Velho, RO, mgraca@cpafro.embrapa.br
[2]Drº, Biólogo, pesquisador, Embrapa Rondônia, Porto Velho, RO, mauricio@cpafro.embrapa.br
[3]Estudante de Ciências Biológicas, Faculdade São Lucas, Bolsista do CNPq, Porto Velho, RO, lissbel_@hotmail.com, josifelixrocha@yahoo.com.br
[4]Mestranda do Curso de Desenvolvimento Regional e Meio Ambiente, Universidade Federal de Rondônia - UNIR, Porto Velho, RO, aressa_oliveira@yahoo.com.br

SABER CIENTÍFICO, Porto Velho, 2 (2): 56 - 62, jul./dez.,2009.

INTRODUÇÃO

O bacurizeiro pertence à família *Clusiaceae*, subfamília *Clusioideae*, gênero *Platonia* Mart. e a espécie é classificada como *Platonia insignis* Mart (BRAGA, 1976). É uma espécie frutífera e madeireira nativa da Amazônia e com centro de origem no Estado do Pará, onde estão estabelecidas densas e diversificadas populações naturais. É também encontrado, espontaneamente, nos outros Estados da Amazônia brasileira, no Piauí e Maranhão (LOUREIRO et al., 1979; CAVALCANTE, 1996).

O fruto do bacurizeiro ocupa posição de destaque na preferência dos consumidores de Belém, enquadrando-se, juntamente com o açaí, cupuaçu, pupunha, abacaxi e a graviola, como os de maior aceitação dentre os frutos nativos da Amazônia (CAVALCANTE, 1996). Embora a espécie seja mais conhecida como planta frutífera, o bacurizeiro também apresenta madeira com boa característica físico-mecânica e multiplicidade de usos, podendo ser utilizada na fabricação de móveis, caibros, ripas, estacas, dormentes, embalagens pesadas e tacos (LOUREIRO et al., 1979; MAINIERI & LOUREIRO, 1964; MAINIERI & CHIMELO, 1989; PAULA & ALVES, 1997). Além das possibilidades como planta frutífera e madeireira, as sementes podem ser utilizadas para extração de óleo, fornecendo ainda como subproduto um farelo com 16% de proteína (PESCE, 1941).

O bacurizeiro emite abundantes brotações a partir de raízes de plantas adultas. No entanto, a quase totalidade dessas brotações não apresenta sistema radicular independente. Assim sendo, quando retirada a brotação, com a parte do segmento de raiz que a originou, a sobrevivência é muito baixa, pois o enraizamento destas brotações é muito difícil (CARVALHO et al., 2002).

O cultivo *in vitro* é um método viável para propagação clonal e massal de diversas espécies florestais e vem sendo utilizada com sucesso. No entanto, um dos maiores entraves no estabelecimento *in vitro* de espécies lenhosas está na dificuldade de obter tecidos livres de contaminações provocadas por fungos e bactérias e ainda por oxidações provocadas por compostos fenólicos (LANDA et al., 2000; GRATTAPAGLIA & MACHADO, 1998; THORPE et al., 1991). Os agentes contaminantes (fungos e bactérias) agem de forma indireta, comprometendo o desenvolvimento normal dos cultivos pela competição por nutrientes e vitaminas do

SABER CIENTÍFICO, Porto Velho, 2 (2): 56 - 62, jul./dez.,2009.

meio de cultura e pela produção de metabólitos fitotóxicos, como os ácidos láctico e acético e o cianeto (LIMA & MORAES et al., 2006).

Os níveis de contaminação tendem a ser maiores quando as plantas matrizes usadas como fonte de explantes são provenientes do campo. No entanto, mesmo as plantas submetidas a rigoroso controle fitossanitário e mantidas em viveiro protegido ou casa de vegetação são fontes potenciais de microorganismos, que podem tornar-se limitantes aos procedimentos de cultivo *in vitro* (MEDEIROS, 1999). Este trabalho teve como objetivo avaliar diferentes tratamentos de desinfestação de explantes radiculares de bacurizeiro para o seu estabelecimento *in vitro*.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram empregados segmentos radiculares de aproximadamente 30 cm de comprimento, oriundos dos Bancos e Coleções de Germoplasma de Espécies Frutíferas da Embrapa Amazônia Oriental (Tomé Açu, PA). Os materiais foram conduzidos ao Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais da Embrapa Rondônia, em Porto Velho, onde passaram por uma pré-limpeza, que consistiu da lavagem dos segmentos com água destilada e esponja, com algumas gotas de detergente comercial. Em seguida, foram seccionados em estacas de 1,5 a 2,0 cm e colocados em álcool 70% (v/v) por 1 minuto. Em câmara de fluxo laminar, as estacas foram retiradas do álcool e imersas em soluções de hipoclorito de sódio a 0,50, 1,25 e 1,75%, durante 20 e 30 minutos, em esquema fatorial 3 x 2, sendo, em seguida, lavadas 3 vezes com água bidestilada estéril. Metade das estacas foram imersas em solução antifúngica, composta de uma mistura de carboxin (0, 067% p/v) + thiram (0,067% p/v), carbendazim (0,17% p/v), clorotalonil (0,17% p/v) + tiofanato-metílico (0,067% p/v) por 30 minutos. Em seguida, foi realizada uma lavagem com água bidestilada estéril e todos os explantes (independente da imersão em solução antifúngica) ficaram imersos em solução antioxidante, composta por 100 mg/L de ácido ascórbico e 150 mg/L de ácido cítrico, esterilizada em filtro bacteriológico de 0,22 micras. Os explantes foram inoculados em frascos cilíndricos com capacidade de 200 ml, contendo meio MS (Murashige & Skoog, 1962) sem reguladores de crescimento, acrescido de 3,0% de sacarose, cefotaxima (100 mg/L) e gelificado com 0,8% de ágar. Foram utilizadas dez repetições por tratamento, sendo cada uma

SABER CIENTÍFICO, Porto Velho, 2 (2): 56 - 62, jul./dez.,2009.

composta por um frasco contendo cinco explantes. As culturas foram mantidas em sala de crescimento, com fotoperíodo de 8 horas, a 28°C, durante 20 dias, sendo avaliado o número de explantes contaminados ao final desse período. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com os resultados apresentados na Figura 1, observa-se que a concentração de hipoclorito de sódio a 1,75% por 30 minutos, foi eficiente quando associada à utilização da solução antifúngica (Carboxin + Thiram, Carbendazim, Clorotalonil + tiofanato-metílico), diferindo significativamente dos outros tratamentos, obtendo-se descontaminação total dos explantes. O tempo de exposição também exerceu influência na descontaminação dos segmentos radiculares do bacurizeiro. Observou-se também que os tratamentos sem a utilização da solução antifúngica resultaram em 100% de contaminação, evidenciando a importância do uso das soluções fungicidas.

Resultados similares foram obtidos em estudos de desinfestação de sementes de *Parapiptadenia rigida* Benthan (Brenam), nos quais Nascimento et al. (2007) utilizando concentrações de 2,5 e 5,0% de hipoclorito de sódio durante 30 e 15 minutos, respectivamente, obtiveram maior porcentagem de germinação e menores porcentagens de contaminação fúngica e/ou bacteriana. Resultados semelhantes foram observados por Coutinho et al. (2000), estudando os efeitos do hipoclorito de sódio na germinação de conídios de alguns fungos transmitidos por semente. Os autores observaram que os valores de germinação de conídios nos tratamentos em que foram utilizadas as concentrações de 1,0; 2,0 e 5,0% foram inferiores aos da testemunha e aos do tratamento em que foi empregada a concentração de 0,5% do produto. Couto et al. (2004), testando a desinfestação de sementes de *Swietenia macrophylla (*King), verificaram 89% de contaminação quando as sementes não foram submetidas ao tratamento com hipoclorito de sódio.

Cano et al. (2007), alcançaram resultados satisfatórios quanto à desinfestação de *Sinningia aghensis* Chautems, em lavagem com solução de hipoclorito de sódio comercial a 100 % (v/v) durante 20 minutos, obtendo apenas 50% de contaminação dos explantes. Estes autores destacaram o fato da epiderme

SABER CIENTÍFICO, Porto Velho, 2 (2): 56 - 62, jul./dez.,2009.

ter sido mantida, indicando a integridade celular e do metabolismo vegetal, possibilitando a formação de calos.

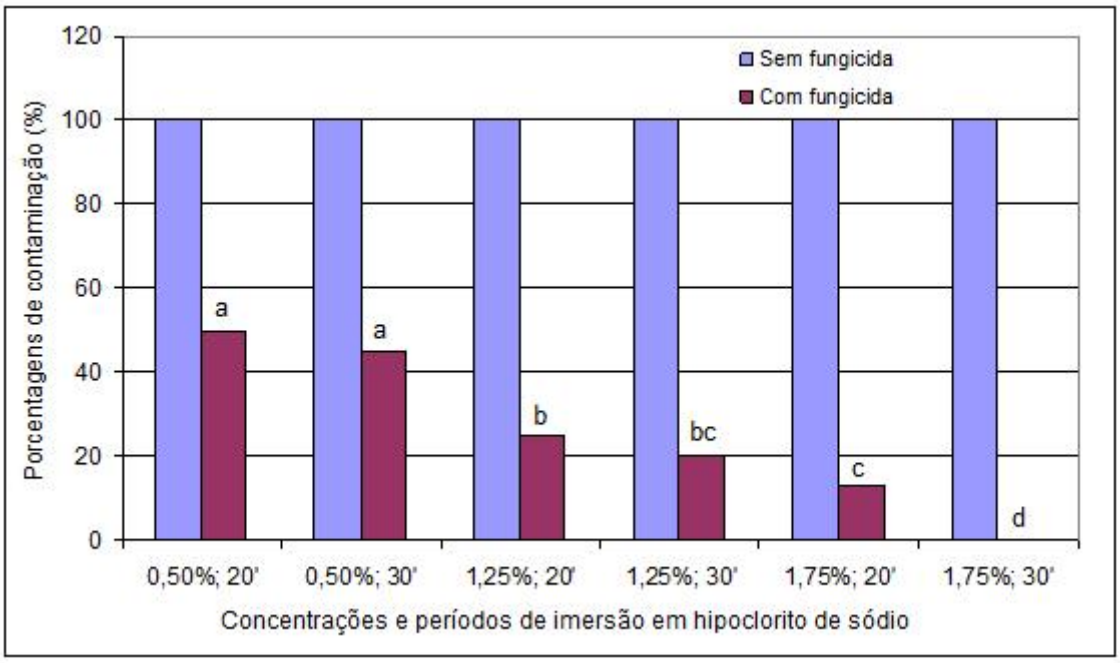

Figura 1. Porcentagens de contaminação de explantes radiculares de bacurizeiro em relação às diferentes concentrações e períodos de imersão em hipoclorito de sódio, com e sem utilização de fungicida. Porto Velho, Embrapa Rondônia, 2009.

Em teste com fungicidas, Oda et al. (2003) não observaram sinal de fitotoxicidade em plântulas de *Oncidium varicosum* Lindl, em tratamentos que foram utilizados chlorothalonil, e nem com o germicida hipoclorito de sódio em todas as concentrações avaliadas. Tavares & Souza (2005) também obtiveram dados positivos referentes à percentagem média de sensibilidade do crescimento micelial dos isolados de *Colletotrichum gloeosporioides* em diferentes concentrações de azoxystrobin, chlorotalonil, hipoclorito de sódio, imazalil, oxicloreto de cobre, prochloraz, propiconazol, tebuconazol, thiabendazol e tiofanato metílico. Esses resultados estão de acordo com os de Faria et al. (2001), que constataram em plântulas de *Oncidium varicosum* que o fungicida clorotalonil não causou sintomas de fitotoxicidade nas dosagens de 0,1 e 0,2 $g.L^{-1}$, propiciando também a proliferação de protocormos. Por outro lado, em *Eucalyptus grandis*, Watt et al. (1996) verificaram que a adição de benomil e de clorotalonil, na dose 0,5 $g.L^{-1}$, inibiram a cultura de explantes da referida espécie. Segundo Colombo et al. (2004), as dosagens do fungicida clorotalonil, 0,1 e 0,2 $g.L^{-1}$, propiciaram um maior desenvolvimento vegetativo, enraizamento e proporção de pegamento de mudas,

SABER CIENTÍFICO, Porto Velho, 2 (2): 56 - 62, jul./dez.,2009.

durante a etapa de aclimatização, para as espécies *Cattleya loddigesii* e *Laelia lundii*.

CONCLUSÃO

Neste trabalho, determinou-se que a concentração de hipoclorito de sódio de 1,75%, durante 30 minutos, foi a que mais respondeu à influência de agentes contaminantes em segmentos radiculares de *Platonia insignis*.

A utilização de solução antifúngica (Carboxin + Thiram, Carbendazim, Clorotalonil + tiofanato-metílico), foi de grande importância, pois na ausência da mesma, evidenciou-se 100% de contaminação.

O conhecimento dos procedimentos básicos para manipulação do material vegetal do sistema radicular do bacurizeiro *in vitro* será uma ferramenta fundamental na promoção de futuros trabalhos, onde serão realizados testes com reguladores de crescimento para obtenção de calos, visando seu posterior desenvolvimento em embriões ou formação de órgãos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BRAGA, R. **Plantas do nordeste especialmente do Ceará.** Mossoró: ESAM, 1976. 540 p.

CANO, N. D.; PETERLE, P. L.; CUZZUOL, G. R. F. Controle da contaminação do cultivo de *Sinningia aghensis* Chautems *in vitro*. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 5, supl. 2, p. 891-893, 2007.

CARVALHO, J. E. U. NASCIMENTO, W. M. O. MULLER, C. H. **Métodos de propagação do bacurizeiro (*Platonia insignis* Mart.).** Belém: Embrapa Amazônia Oriental, 2002. 12 p. (Circular Técnica, 30).

CAVALCANTE, P. B. **Frutas comestíveis da Amazônia**. Belém: Cejup, 6 ed. 1996. 279p.

COLOMBO, L. A.; FARIA R. T.; CARVALHO, J. F. R. P.; ASSIS, A. M.; FONSECA, I. C. B. Influência do fungicida cloritalonil no desenvolvimento vegetativo e no enraizamento *in vitro* de duas espécies de orquídeas brasileiras. **Acta Scientiarum Agronomy**, v. 26, n. 2, p. 253-258, 2004.

COUTINHO, W. M.; PEREIRA, L. A. A. SILVA, O. F.; PENA, R. C. M.; MAGALHÃES, F. H. L. Efeitos de hipoclorito de sódio na germinação de conídios de alguns fungos transmitidos por semente. **Revista Fitopatologia Brasileira**, v. 25, n. 3, p. 552- 555 2000.

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. 28, n.5, p. 633-642, 2004.

SABER CIENTÍFICO, Porto Velho, 2 (2): 56 - 62, jul./dez.,2009.

FARIA, R. T. et al. Substâncias fungicidas e germicidas na propagação *in vitro* de plantas. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FLORICULTURA E PLANTAS ORNAMENTAIS, 13. 2001. São Paulo. **Resumos...** São Paulo: SBFPO, 2001. p.149.

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A.C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: SPI/Embrapa - CNPH, 1998, 1, p. 183-260.

LANDA, F. S. L. et al. Indução *in vitro* de calos em explantes foliares de pequizeiro *(Caryocar brasiliense Camb.).* **Ciência e Agrotecnologia**, v.24 (Edição Especial), p.56-63, 2000.

LIMA, J. D., MORAES, W. S. Controle de bactérias contaminantes em explantes de bananeira (*Musa* AAA cv. CAIPIRA). **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v.36, n.3, p.181-186, 2006.

LOUREIRO, A. A.; SILVA, M.F. da; ALENCAR, J. da C. **Essências madeireiras da Amazônia**. Manaus: CNPq/INPA, v.1, 1979. 245p.

MAINIERI, C.; LOUREIRO, A. A. **Madeiras de *Simphonia globulifera* L. *Platonia insignis* Mart. *Moronobea coccinea* Aubl. e *Moronobea pulchra* Ducke (Gutiferaceae):** estudo anatômico macro e microscópico, como contribuição para a sua identificação. Belém: CNPq/INPA, 1964. 27p. (CNPq/INPA. Publicação, 18).

MAINIERI, C.; CHIMELO, J. P. **Fichas de características de madeiras brasileiras**. São Paulo: IPT, 2ed. 1989, 418p.

MEDEIROS, C.P.C. **Indução *in vitro* de respostas morfogenéticas em explantes nodais de cajazeira (*Spondias mombin* L.).** 1999. 79 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza.

NASCIMENTO, P. K. V.; FRANCO, E. T. H.; FRASSETTO, E. G. Desinfestação e germinação *in vitro* de sementes de *Parapiptadenia rigida* Bentham (Brenam). **Revista Brasileira de Biociências**, v. 5, supl. 2, p. 141-143, jul. 2007.

ODA, M. L.; FARIA R. T.; FONSECA, I. C. B.; SILVA, G. L. Avaliação da fitotoxicidade de fungicidas e germicida na propagação *in vitro* de *Oncidium varicosum* Lindl. (Orchidaceae) para o controle de microorganismos. **Ciências Agrárias**, v. 24, n. 2, p. 273-276, 2003.

PAULA, J. E. de; ALVES, J. L. de H. **Madeiras nativas:** anatomia, dendrologia, dendrometria, produção e uso. Brasília: Empresa Gráfica Gutenberg LTDA, 1997. 541p.

PESCE, C. **Oleaginosas da Amazônia.** Belém: Oficinas Gráficas da Revista Veterinária, 1941. 130p.

TAVARES, G. M.; SOUZA, P. E. Efeito de fungicidas no controle *in vitro* de *Colletotrichum gloeosporiuides*, agentes etiológicos da antracnose do mamoeiro (*Carica papaya* L.). **Ciências Agrotécnica**, v. 29, n. 1, p. 52-59, 2005.

THORPE, T.A.; HARRY, I.S.; KUMAR, P.P. Application of micropropagation to forestry. In: DEBERGH, P.C.; ZIMMERMAN, R. H. **Micropropagation:** technology and aplication. Dordrecht: Kluwer Academic Press, 1991. p. 311-336.