

CULTIVO DE CACTÁCEAS *IN VITRO*

Gabriele Brites Viana¹, Mariana Souza Cacerés¹, João José da Silva Neto¹

Instituto Federal de Ciência e Tecnologia de Mato Grosso do Sul – Ponta Porã-MS

gabrielebritesv@gmail.com; marianasouza1275@gmail.com; joao.jose@ifms.edu.br

Resumo

O sucesso da aplicação das técnicas de cultivo *in vitro* depende, em parte, do controle e prevenção da contaminação do material vegetal por microrganismos patogênicos, como fungos e bactérias. O objetivo deste trabalho foi definir o tipo do desinfestante mais eficiente para a assepsia de explantes de cactáceas a serem cultivadas *in vitro*. O meio de cultura utilizado para desenvolvimento das plantas foi o murashige/skoog (MS). O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado com 3 tratamentos e 16 repetições. Os dados de contaminação foram obtidos por contagem, e foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, utilizando o programa estatístico Sisvar. Não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos. A concentração e o tempo de imersão dos explantes nos descontaminantes foram insuficientes para a desinfestação efetiva do material, sendo recomendada o estudo dessas variáveis em trabalhos futuros.

Palavras-chave: Desinfestação, contaminação, meio de cultura.

Introdução

A família Cactaceae é constituída aproximadamente por 124 gêneros e 1.427 espécies (Hunt, 2006). São plantas utilizadas para diferentes finalidades: alimento animal e humano, medicinal, fabricação de cosméticos e produtos de higiene, místico-religioso, conservação da biodiversidade, e muito forte no mercado de plantas ornamentais (Silva, 2015).

Em diversas espécies de cactos a propagação por sementes tem apresentado baixo índice de sobrevivência na natureza, chegando apenas à fase adulta 0,01% das plântulas na fase inicial de desenvolvimento (Freire, 2013).

A propagação das cactáceas pode ser feita por sementes ou vegetativamente via estacas ou brotos. A germinação por sementes mantém a diversidade genética das populações. Esta forma de germinação se aliada às técnicas do cultivo *in vitro* apresenta várias vantagens quando comparada à germinação em condições naturais, evitando problemas de aborto embrionário, redução do tempo necessário à ocorrência do processo, aumento da taxa de germinação, além de sincronizá-la (Encina e Padilla, 1996).

O cultivo *in vitro* é uma técnica utilizada para a propagação de plantas em condições assépticas e controladas, este processo ocorre de forma assexuada e se baseia-se na totipotencialidade das células em gerar um

novo indivíduo que possuem as mesmas características da planta ancestral. (Cardoso et al., 2014)

O sucesso da aplicação das técnicas de cultivo *in vitro* depende, em parte, do controle e prevenção da contaminação do material vegetal por microrganismos patogênicos, como fungos e bactérias (SILVA et al., 2003), sendo necessário determinar métodos eficazes de desinfestação que não interfiram no desenvolvimento e na obtenção de plantas saudáveis. Para tanto, são aplicados compostos a base de cloro que possuem ação germicida, sendo o hipoclorito de sódio e o de cálcio os mais utilizados (COUTO et al., 2004). São determinantes para se obter êxito na etapa de desinfestação: o tipo e a concentração do desinfestante, assim como o tempo de exposição do explante ao mesmo, sendo também de extrema importância a adequação dos protocolos de desinfestação à cultura estudada (MORAES et al., 2007).

O objetivo deste trabalho foi definir o tipo do desinfestante mais eficiente para a assepsia de explantes de cactáceas a serem cultivadas *in vitro*.

Metodologia

O presente trabalho foi realizado no laboratório de sementes, do Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia de Mato Grosso do Sul – Campus Ponta Porã.

O meio de cultura utilizado para fornecer os nutrientes necessários para o desenvolvimento das plantas o murashige/skoog (MS) + 15 gramas de açúcar mascavo, o pH da solução foi ajustado para 5,8. O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado com 3 tratamentos e 16 repetições. Após a mistura dos nutrientes em um Becker, são direcionados até o agitador com bailarina para realizar a dissolução da mistura deixando-a homogênea (figura 1).



Figura1. Dissolução do meio de cultura e aferição do pH

Com o término do processo o becker foi levado ao microondas a fim de ser aquecido e por fim distribuído em 48

tubos de ensaio (figura 2) que foram encaminhados para autoclave, dispositivo responsável pela esterilização a partir de temperaturas altas.

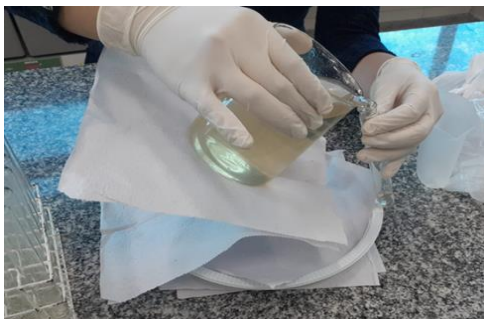


Figura 2. Distribuição do meio de cultura nos tubos de ensaio.

Para realização da inoculação colocou-se todos os materiais a serem utilizados na câmara de fluxo, expostos a 20 minutos de luz ultravioleta para realizar a esterilização e/ou descontaminação dos objetos. Para a assepsia das partes vegetativas dos cactos utilizou-se três tratamentos, sendo deixados inertes as partes vegetativas durante 60 segundos nos seguintes produtos: Álcool, Hipoclorito de sódio e detergente neutro. Todo o processo foi realizado dentro da câmara de fluxo com o sistema de ventilação ligado. Após a assepsia a inoculação é realizada, dentro da câmara e com o fluxo de ar ligado (figura 3).

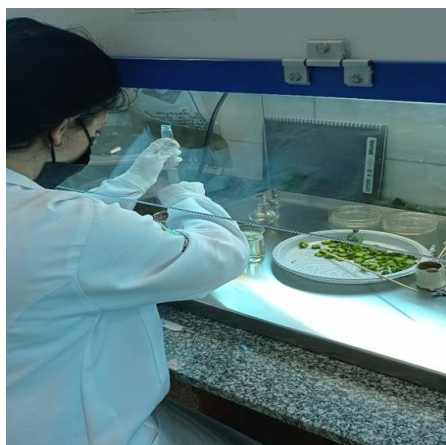


Figura 3. Inoculação dos explantes.

Após a inoculação os tubos de ensaio foram encaminhados para b.o.d onde receberam 12 horas de luz e 12 horas de escuro e assim iniciar o processo de desenvolvimento. Os dados de contaminação foram obtidos por contagem, e foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, utilizando o programa estatístico Sisvar.

Resultados e Discussão

Em relação à contaminação não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos. Com o emprego de solução de hipoclorito de sódio observa-se uma pequena diminuição na ocorrência de contaminação, no entanto, estatisticamente possui o mesmo efeito dos demais tratamentos (tabela 1).

Tabela 1. Percentual de contaminação de explantes de cactáceas *in vitro*.

Tratamento	Contaminação (%)
Álcool	93,8 A
Hipoclorito	87,5 A
Detergente	93,8 A

Médias seguidas de letras iguais não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).

Em trabalho realizado com sementes de calêndula como explantes e utilizando hipoclorito como desinfestante, ocorreu desinfestação de 64% (BERTONI et al., 2006). A germinação *in vitro* de porongo (*Lagenaria siceraria* (Mol.) Standl) também foi otimizada através da remoção do tegumento das sementes e da desinfestação empregando solução de hipoclorito de sódio a 3-4% por 10 minutos (BISOGNIN et al., 2008). Em alcrimpimenta (*Lippia sidoides* Cham), o uso de 0,8% de hipoclorito de sódio com um tempo de imersão de 16 minutos promoveu uma melhor desinfestação dos segmentos nodais (COSTA et al., 2007). Rêgo et al. (2009) obtiveram menor percentual de contaminação em sementes de mandacaru utilizando 1% de hipoclorito de sódio.

Observa-se assim que a concentração do hipoclorito, bem como o tempo de imersão no desinfetante afeta diretamente o percentual de contaminação no meio de cultura, corroborando com os resultados encontrados por Coutinho et al. (2000), os quais observaram que os valores de contaminação nos tratamentos que utilizaram como desinfestante o hipoclorito de sódio nas concentrações de 1,0; 2,0 e 5,0% foram inferiores ao do tratamento em que foi empregada a concentração de 0,5% do produto.

Considerações Finais

Mesmo seguindo todos os protocolos e orientações para realizar uma inoculação efetiva e livre de microrganismos, observou-se uma grande porcentagem de contaminação de fungos nos tubos de ensaios. Evidenciando que a concentração e o tempo de imersão dos explantes nos descontaminantes foram insuficientes para a desinfestação efetiva do material, sendo recomendada o estudo dessas variáveis em trabalhos futuros.

Agradecimentos

Agradecemos imensamente ao nosso orientador João José da Silva Neto, pela oportunidade de termos participado desta iniciação científica, por todos os conhecimentos adquiridos ao longo deste projeto, e pela sua determinação e disposição em nos ajudar. Agradecemos também a professora Annanda Mendes e ao professor Sérgio André Tapparo, pelas dicas e concelhos ao longo do projeto, por todo incentivo, motivação e disposição em ajudar no que fosse preciso. A contribuição de todos foram fundamentais para a realização deste projeto.

Referências

BERTONI, B.W. et al. Micropropagação de *Calendula officinalis* L. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.8, n.2, p.48-54, 2006.

BISOGNIN, D.A. et al. Germinação e propagação in vitro de porongo. **Ciência Rural**, v.38, n.2, p.332-339, 2008. Disponível em: . Acesso em:17 fev. 2011. doi: 10.1590/S0103-84782008000200006.

CARDOSO J.C. (2014) Publicação em cultivo in vitro de plantas: qualidade para o avanço científico e tecnológico. **Horticultura Brasileira** 32: 383-384.

COSTA, A.S. et al. Estabelecimento de alecrim-pimenta in vitro. **Horticultura Brasileira**, v.25, n.1, p.68-72, 2007. Disponível em: Acesso em:17 fev. 2011. doi: 10.1590/S0102-05362007000100013.

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**, Brasília, v. 25, n. 3, p. 552-555, 2000.

COUTO, J.M.F. et al. Desinfestação e germinação in vitro de sementes de mogno (*Swietenia macrophylla* King). **Revista Árvore**, v.28, n.5, p.633-642, 2004.

ENCINA, C. L.; PADILLA, I. G. **A propósito de semillas**. (1996).Disponível em:<http://www.ciencias.uma.es/publicaciones/encuentros/ENCUENTROS33/semilla33.html> em 06/09/09. Acessado em: 23 fev. 2016.

FREIRE, H. P. L. **Efeito do agrupamento espacial na taxa de crescimento e sobrevivência de *Melocactus conoideus* buining & brederoo (Cactaceae): uma espécie endêmica e ameaçada de extinção do Nordeste do Brasil**. 2013. Dissertação (Mestrado em Ciências Ambientais) - Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Bahia.

HUNT, D. **The new cactus lexicon**. Milborne Port: Remous, 2006.

MORAES, A.M.; ALMEIDA, F.A.C.; CAZÉ FILHO, J. Desinfestação e estabelecimento in vitro de gemas axilares de abacaxizeiro. **Rev. Tecnol. Ciên. Agropec.**, v.1, n.2, p.39-44, 2007.

RÊGO, M.M. et al. In vitro seed germination of mandacaru (*Cereus jamararu* DC.). **Revista Caatinga**, v.22, n.4, p.34-38, 2009.

SILVA, R.M.S.; BLANK, M.F.A.; ÂNGELO, P.C.S. **Desinfestação de explantes de inhame roxo (*Dioscorea rotundata*. Poir) coletados no campo para micropropagação**. In: Anais do XIV Congresso brasileiro de floricultura e plantas Ornamentais & I Congresso brasileiro de cultura de tecidos, 2003. Resumos... Lavras: UFLA/FAEPE, 2003. p.329.

SILVA, V. A. Diversidade de uso das cactáceas no Nordeste do Brasil: uma revisão, **Gaia Scientia**, João Pessoa, v. 9, p. 137-154, 2015