

ESTABELECIMENTO *in vitro* DE EXPLANTES FOLIARES DE ANDIROBA (*Carapa guianensis* AUBLET).

Antônia do Socorro Aleixo Barbosa¹; Irenice Maria Santos Vieira²; Heráclito Eugênio Oliveira da Conceição³, Albene Liz Carvalho Monteiro⁴; Dora Suely Barbosa dos Santos⁵; Benedito Gomes dos Santos Filho⁶;

Palavras chaves: andiroba, assepsia, contaminação, *Carapa guianensis* Aublet, *in vitro*

INTRODUÇÃO

A andiroba é uma árvore da família Meliaceae, medindo em média 30 metros de altura e 40-90 centímetros de diâmetro, apresenta cascas rugosas, com aproximadamente 2mm de espessura, folhas compostas, espiraladas. Um dos pontos fundamentais da exploração da espécie está apoiado no emprego das sementes para obtenção de óleo que apresenta propriedades medicinais, ou na utilização da madeira.

Alguns dos problemas em se trabalhar com espécies florestais em micropropagação são as contaminações e as oxidações, os quais provocam perdas dos explantes. A contaminação pode ter duas origens: através de microorganismos presentes nos tecidos podem ser superficiais ou endógenos ou por manuseio indevidos do material vegetal no laboratório

As contaminações causadas por fungos e/ou bactérias apresentam grande dificuldade em programas de micropropagação, envolvendo plantas ainda não estabelecidas *in vitro*. Para minimizar os problemas de contaminação algumas tentativas têm sido feitas com a incorporação de produtos ao meio de cultura ou tratamento do material vegetal. Além de fungicidas também bactericidas são adicionados ao meio (RAMOS, 1994).

O trabalho objetivou determinar um protocolo para o estabelecimento *in vitro* de explantes foliares de andiroba (*Carapa guianensis* Aublet.) associando o controle da contaminação com minimização da queima dos tecidos.

¹Mestre em Agronomia (antonia.barbosa@uol.com.br)

²Prof^a. Dra do Depto. de Química e Tecnologia/FCAP

³Pesquisador/Doutor EMBRAPA/Amazônia Oriental

⁴Bolsista de IC PIBIC/CNPq/FCAP–Acadêmica de Agronomia–9ºsem

⁵Prof^a. Dra. Pesquisadora CNPq/ Coordenadora CEMEC/UEMG/Belo Horizonte–

⁶Prof. Dr. Visitante do Depto. de Biologia Vegetal e Fitossanidade/FCAP

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Biotecnologia Vegetal da FCAP. Foram utilizados como explantes folhas jovens de Andiroba (*Carapa guianensis* Aublet.) de plantas com seis meses de idade. Os explantes passaram por um processo de desinfestação em que foram submetidos à imersão em água corrente por três horas. Posteriormente, em câmara de fluxo laminar, os explantes foram imersos em álcool etílico 70%(v/v) por um minuto e em solução de hipoclorito de sódio (NaOCl) em diferentes concentrações (Tabela 1), por 15 minutos, no qual adicionou-se 1 gota de Tween 20. Após a desinfestação os explantes foram lavados em água destilada e autoclavada, por três vezes, para remoção do excesso das soluções desinfestantes. Os segmentos foliares foram inoculados em tubos de ensaio contendo 15 mL de meio WPM contendo sacarose 3%, Phytigel 0,2%, 0,2% de PVP, com pH ajustado para 5,8 e autoclavado a 120° C por 15 minutos, . Após a inoculação, os explantes foram mantidos em sala de crescimento à 25°C ± 2°C e ausência de luz, durante 15 dias. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com seis tratamentos e 15 repetições. Após 15 dias de inoculação, os explante foram avaliados quando o controle da assepsia à contaminação dos tecidos, onde foram dadas notas 1 e 0, respectivamente e para não - oxidação dos tecidos e a oxidação Também foram dadas notas 1 e 0 respectivamente.

TABELA 1: Tratamentos de desinfestação em explante de folhas de Andiroba. FCAP, Belém-Pa, 2002.

T₁: Sem tratamento de desinfestação (Testemunha)

T₂: Etanol a 70% por 1 minuto.

T₃: Etanol a 70% por 1 minuto + 05 % de NaOCl, por 15 minutos

T₄: Etanol a 70% por 1 minuto + 1 % de NaOCl, por 15 minutos

T₅: Etanol a 70% por 1 minuto + 1,5 % de NaOCl, por 15 minutos

T₆: Etanol a 70% por 1 minuto + 2,5 % de NaOCl, por 15 minutos

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após 15 dias, pode ser observado na Figura 1 que os tratamentos usados apresentavam comportamento diferenciado nas variáveis de resposta, pois a melhor concentração que manteve a assepsia foi o tratamento T₄ (álcool a 70% + 1 % de NaOCl) , e em tempo de imersão de 15 minutos. O uso das concentrações elevadas de NaOCl nos tratamentos T₅: (álcool a 70% + 1,5 % NaOCl) e T₆: (álcool a 70% + 2,5 % NaOCl) com o mesmo tempo de exposição, também favoreceram aos explante a ausência de patógenos, mais apresentaram uma queima (oxidação) do tecido vegetal isto deveu-se provavelmente pelas altas concentrações NaOCl. Já a testemunha T₁: (Sem tratamento de assepsia) e T₂ (imersão em álcool a 70%) apresentaram 100% de contaminação e T₃ (álcool a 70% + 0,5% de NaOCl) com 10% de contaminação (Figura 2). O uso das concentrações mais elevadas de NaOCl provocaram a oxidação nas bordas dos segmento foliares impedindo o desenvolvimento *in vitro* dos explantes. Baseados nos resultado, o uso de álcool a 70% por 1 minuto + 1 %de NaOCl, foi adotado nesse estudo, como procedimento padrão, para a desinfestação de explantes foliares de andiroba. Resultados semelhantes foram encontrados por LOPES (2000), onde relata que a imersão de segmentos foliares de mogno (*Swetenia macrophylla*), em solução de NaOCl nas concentrações de 1 e 2%. SERRA (1999) e LANDA (1999), Também trabalhado com segmentos foliares de castanha-do-brasil e pequiheiro, respectivamente obtiveram a desinfestação dos explantes foliares utilizando a imersão rápida em álcool etílico e hipoclorito de sódio 30% do produto comercial por 15 minutos. MESQUITA (1999) também afirma que o uso de hipoclorito de sódio 30%(v/v) do produto comercial para desinfestação de segmentos foliares de lecheira(*Littchi chinensis* Sonn.). para cultivo *in vitro*. PAIVA NETO (1996) conseguiu controlar a contaminação de explantes foliares de moreira (*Chlorophora tinctoria* (L) Gaudichaud) através da imersão em álcool 50% por 30 segundo seguida de imersão em hipoclorito de sódio por 5 minutos

Muitos trabalhos vem sendo desenvolvidos na cultura de tecidos *in vitro*, e observou-se que a maioria deles utilizam como produtos químicos desinfestantes o hipoclorito de sódio, o álcool etílico, o benlate e métodos físicos como termoterapia, dependendo da espécie. Os tempos de imersão e as concentrações dos produtos e os tipos de produtos variam de espécie para espécie.

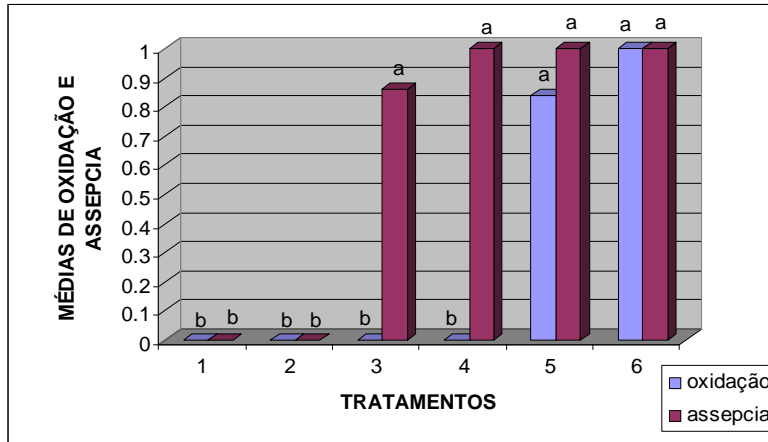


Figura 1. Valores médios de assepsia e oxidação em explantes foliares de andiroba submetidas a vários tratamentos de desinfestação. Belém-Pa, FCAP, 2002.

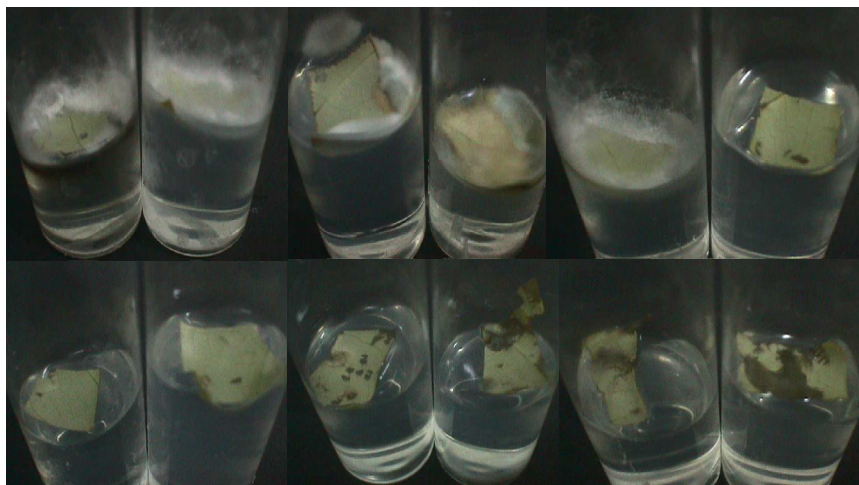


Figura 2. Aspecto visual de segmento de folhas de Andiroba (*Carapa guianensis* Aublet.) inoculados *in vitro* nos respectivos tratamentos. Belém-Pa, FCAP, 2002.

CONCLUSÃO

Os tratamentos mais eficientes para assepsia de segmentos foliares de andiroba foram a imersão álcool etílico 70% por 1 minuto seguidos e 1% de hipoclorito de sódio por 15 minutos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

LANDA, F. de S. L. **Indução *in vitro* de calos em explantes foliares de pequi** (***Caryocar brasiliense* Camb.**). Lavras, 1999. 73 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Fisiologia Vegetal) – Curso de Mestrado em Agronomia, Universidade Federal de Lavras, 1999.

RAMOS, J.D. **Caracterização fenotípica do fruto, micropropagação e germinação de sementes do porta-enxerto tangerina ‘sunki’ (*Citrus sunki* Hort. ex. Tan.)** Lavras: ESAL, 1994. 85p. (Tese de Doutorado em Fitotecnia).

SERRA, A.G.P. **Análises Bioquímicas de calos e estudo da divergência genética em Castanha- do- Brasil (*Bertholletia excelsa* H.B.K.)**. Lavras: UFLA. 1999.