



Incidência de *Fusarium sp.* no Estabelecimento *In Vitro* de Explantes Caulinares de *Xylopia sericea* St. Hill (Annonaceae)

Clara De Almeida Guerra, Bruno Oliveira Lafetá, Daiane Monteiro Nunes, Renolde Rodrigues, Tamires Mouslech Andrade Penido, Márcio Takeshi Sugawara

Introdução

A *Xylopia sericea* St. Hill. é uma espécie vegetal lenhosa pertencente à família Annonaceae, de ocorrência em formações savânicas e florestas semi-decíduas. Pode ser empregada na construção civil, usinas caseiras de cordoaria, em programas para a recuperação de áreas degradadas e na alimentação, como condimento substituto à pimenta do reino ([10]).

As sementes da *X. sericea* apresentam dormência morfo-fisiológica, o que dificulta sua propagação e produção massal de mudas em viveiros florestais. Alternativo aos métodos tradicionais de propagação, o cultivo *in vitro* de órgãos vegetais permite uma multiplicação sistematizada de plantas e contribui para a conservação de espécies em extinção e de interesse econômico-científico em bancos de germoplasma ([9]).

O cultivo *in vitro* é normalmente realizado em ambiente com o controle de temperatura, nutrição, luminosidade, umidade e, principalmente, assepsia [4]. A eficiência de tratamentos assépticos pode ser influenciada por fatores exógenos e endógenos, sendo indicado um manejo adequado das plantas matrizes e dos explantes (fragmento de tecido vegetal).

Os fungicidas são comumente empregados no controle *in vitro* de patógenos, mesmo que, e alguns casos, sejam limitados em virtude da toxicidade para as plantas ([6]). Dentre os fungicidas, o tiofanato metílico, nome comercial Cercobin (*Dimetil 4,4' - (o - fenileno) bis - (3 - tioalofanato)*, $C_{12}H_{14}N_4O_4S_2$) é amplamente difundido na micropropagação ([6]; [7]).

O objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito de diferentes concentrações de um fungicida sistêmico para o controle de *Fusarium sp.* na fase de estabelecimento *in vitro* utilizando explantes caulinares de *X. sericea*.

Material e métodos

Foram resgatadas dez matrizes de *X. sericea* em fragmentos de Mata Atlântica no Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Minas Gerais – Campus São João Evangelista (IFMG/SJE). Estes indivíduos foram resgatados ainda inteiros, com o diâmetro à altura solo (DAS) de 1 a 4 cm e altura total (H) de 15 a 45 cm, e conduzidos à casa de sombra do viveiro de mudas deste instituto. O clima da região é temperado chuvoso-mesotérmico e classificado como Cwa pelo sistema de Köppen (com inverno seco e verão chuvoso), a precipitação média anual é de 1400 mm e a temperatura média anual de 21 °C ([3]).

O material resgatado foi alocado em baldes de 20 litros contendo terra de subsolo (substrato) e permaneceu por 60 dias. A coleta dos brotos foi realizada no terço inferior da copa do material sobrevivente com auxílio de uma tesoura esterilizada em fogo. Esta posição em relação à copa foi escolhida por apresentar melhor capacidade de enraizamento devido à maior juvenildade e vigor do tecido. Apenas os brotos sadios, livres de injúria, atrofia ou ataque por insetos foram acondicionados em bandejas de polietileno com solução de hipoclorito de sódio (2 gotas / L de água deionizada) e conduzidos ao Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais do IFMG/SJE. Este material foi previamente lavado em água corrente.

Adotou-se delineamento experimental inteiramente casualizado com quatro repetições, sendo estudado o efeito de cinco concentrações do fungicida sistêmico, à base de tiofanato metílico, Cercobin® 700 WP (T1 - 0,0 g.L⁻¹; T2 - 0,5 g.L⁻¹; T3 - 1,0 g.L⁻¹; T4 - 2,0 g.L⁻¹ e T5 - 4,0 g.L⁻¹). Os brotos foram imersos por 20 minutos em solução fungicida acrescida com Tween 20 (3 gotas / 100 ml de solução) e lavados em água deionizada e autoclavada.

O meio de cultura utilizado foi composto pelos sais básicos de MS ([8]), acrescidos de mio-inositol (100 mg.L⁻¹), polivinilpirrolidona (1000 mg.L⁻¹), sacarose (30 g.L⁻¹), ágar bacteriológico ISOFAR (6 g.L⁻¹), 0,5 mg.L⁻¹ de BAP (6-benzilaminopurina) e 0,3 mg.L⁻¹ de ANA (ácido naftalenoacético), com pH ajustado para 5,75 ± 0,05. O meio de cultura foi autoclavado por 20 minutos à temperatura de 121 °C e pressão de 1 atm. Cada unidade experimental foi constituída por 12 frascos de 100 ml contendo, aproximadamente, 10 mL da cultura previamente preparada.

Em câmara de fluxo laminar, os brotos foram desinfestados em álcool (70 %) durante 1 minuto, em hipoclorito de sódio (NaClO) a 1,0 % acrescido de Tween 20 (2 gotas / 100 ml de solução) durante 15 minutos e depois, lavados em



água deionizada e autoclavada. No mesmo ambiente, foram obtidos segmentos caulinares de, aproximadamente, 1 cm de comprimento contendo um nó e uma gema axilar. Inoculou-se um segmento por frasco, o qual foi vedado com tampa própria. Após a inoculação, os segmentos foram mantidos em sala de Cultura por 7 dias no escuro a $25 \pm 2^\circ\text{C}$ e depois, sob fotoperíodo de 16 horas luz e 8 horas escuro na mesma temperatura.

Aos 25 dias, avaliou-se a ocorrência de *Fusarium* sp. Os resultados expressos em porcentagem foram transformados em $\arcseno \ x \ 100$ a fim de atender aos critérios de normalidade segundo teste de Lilliefors e homogeneidade por Cochran. Realizou-se análise de variância a 5 % de significância. A análise estatística foi realizada com auxílio do *software* Statistica 7.

Resultados

A análise de variância está apresentada na Tabela 1. Não foi observado efeito estatístico significativo entre os tratamentos pelo teste F ($p > 0,05$). As concentrações fungicidas estudadas não influenciaram a ocorrência do *Fusarium* sp. nas unidades experimentais. A média e o desvio padrão foram de 10,83 % e 10,15 %, respectivamente (Figura 1).

Discussão

O fungicida Cercobin® 700 WP, mesmo sendo de ação sistêmica, não foi eficiente para reduzir a infestação por *Fusarium* sp. no meio de cultivo (Tabela 1). Isto se deve provavelmente à pilosidade observada nos explantes caulinares da *X. sericea*, dificultando o contato do fungicida com o tecido vegetal. A concentração do detergente (Tween 20) empregada pode não ter sido suficiente para aumentar a superfície de contato entre solução fungicida e explante. Salienta-se que fungicidas sistêmicos do grupo dos benzimidazóis como carbendazim, thiabendazole e tiofanato metílico são amplamente utilizados no controle desse patógeno nas áreas de propagação vegetativa e de tecnologia de sementes ([1]; [5]).

Oscilações na ocorrência de *Fusarium* sp. foram verificadas entres os tratamentos (Figura 1). Considerando que se trata de uma fase de estabelecimento *in vitro*, foi observada uma baixa contaminação por fungos (aproximadamente 10 %). É importante considerar a necessidade de respeitar as recomendações de uso de fungicidas para minimizar problemas com fitotoxicidade ([6]; [7]). Problemas estes não verificados pelo presente trabalho.

Fungos endofíticos são comuns em explantes vegetais, sobretudo aqueles obtidos de matrizes oriundas de ambientes não protegidos. Segundo [2], a assepsia é fundamental para a obtenção de uma cultura livre de contaminantes e adaptada às condições *in vitro*. É notória a existência de grandes desafios para que a *X. Sericea* possa se tornar viável para o cultivo em escala comercial. A cultura de tecidos é uma prática promissora e os resultados obtidos fornecem subsídios necessários para futuros estudos que envolvam a propagação de outras espécies florestais nativas, principalmente, as que tangerem o bioma Mata Atlântica.

Conclusões

A ocorrência de fungos foi similar para as diferentes concentrações do fungicida Cercobin® 700 WP em estudo.

As concentrações do fungicida Cercobin® 700 WP em estudo não reduziram a ocorrência de *Fusarium* sp. na cultura de tecidos utilizando explantes caulinares de *X. sericea*.

Agradecimentos

Ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia (IFMG) - *Campus* de São João Evangelista-MG por todo apoio logístico, financeiro e estrutural para a realização do presente trabalho.

Referências

- [1] ALMEIDA et al. Fungos endofíticos isolados de apices caulinares de pupunheira cultivada *in vivo* e *in vitro*. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v. 40, n. 5, p. 467, 470, 2005.
- [2] BORGES, S. R. et al. Estabelecimento *in vitro* de clones híbridos de *Eucalyptus globulus*. *Ciência Florestal*, Santa Maria, v. 22, n. 3, p. 605-616, 2012.
- [3] BRAGA, F. A. et al. Características ambientais determinantes da capacidade produtiva de sítios cultivados com eucalipto. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, Viçosa, v. 23, n.2 p.291-298, 1999.
- [4] DÚTRA, L. F.; WENDLING, I.; BRONDANI, G. E. A micropropagação de eucalipto. *Pesquisa Florestal Brasileira*, Colombo, n. 58, p. 49-59, 2009.
- [5] GOULART, A. C. P.; FIALHO, W. E B. Incidência e controle de *Fusarium moniliforme* Sheldon em sementes em milho. *Revista Brasileira de Sementes*, Brasília, v. 21, n. 1, p. 216-22, 1999.
- [6] LONDE, L. N. et al. Efeito de benomyl e identificação de fitopatógenos em meio MS para controle da contaminação na micropropagação de *Anacardium humile* (Anacardiaceae). *Bioscience Journal*, v. 23, n. 3, p. 94-100, 2007.
- [7] MACHADO, M. P. et al. Application of IBA on *in vitro* and *ex vitro* rooting microcutting of *Lavanda angustifolia* Miller. *Journal of Biotechnology and Biodiversity*, Gurupi, v. 4, n. 2, p.153-161, 2013.

- [8] MURASHIGE, T., SKOOG, F.A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, Varsóvia, v.15, p.473-497, 1962.
- [9] PINHAL, H. F.; ANASTÁCIO, M. R.; CARNEIRO, P. A. P.; SILVA, V. J.; MORAIS, T. P.; LUZ, J. M. Q. Aplicações da cultura de tecidos vegetais em frutíferas do Cerrado. *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 41, n. 7, p. 1136-1142, 2011.
- [10] PONTES et al. Atividade acaricida dos óleos essenciais de folhas e frutos de *Xylopia sericea* sobre o ácaro rajado (*Tetranychus urticae* Koch). *Química Nova*, São Paulo, v. 30, n. 4, p. 838-841, 2007.

Tabela 1. Análise de variância com os dados transformados da ocorrência de *Fusarium* sp. na cultura de tecidos utilizando explantes caulinares de *X. sericea*.

F.V.	G.L.	Q.M.	F	p
Tratamentos	4	62,1938	0,3814 ^{ns}	0,8185
Resíduo	15	163,0610		

^{ns} não significativo pelo teste F ($p > 0,05$).

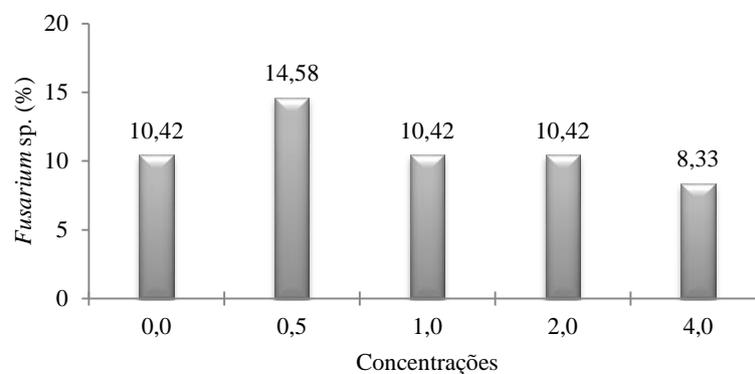


Figura 1. Médias de ocorrência do *Fusarium* sp. em função das concentrações do fungicida Cercobin® 700 WP na cultura de tecidos utilizando explantes caulinares de *X. sericea*.