

ESTABELECIMENTO *IN VITRO* DO MAROLO (*Annoma crassiflora* Mart.)

**MAYKO PAIVA DOMINGUES^{1*}; RICARDO PEREIRA SEPINI²;
MARIA GESSI TEIXEIRA³; WELLINGTON MAROTA BARBOSA⁴**

¹Estudante de Engenharia Agrônômica, Centro Superior de Ensino e Pesquisa de Machado, CESEP, Machado-MG, maykodomíngues1991@hotmail.com;

²Dr. em Ensino de Ciências e Matemática, Prof. Orientador, Centro Superior de Ensino e Pesquisa de Machado, CESEP, Machado-MG, ricardopsepini@fem.com.br;

³Msc. em Ciências Ambientais, Técnica de laboratório, IFSULDEMINAS, Machado-MG, maria.teixeira@ifsuldeminas@edu.br;

⁴Dr. em Fitotecnia, Prof. Orientador, IFSULDEMINAS, Machado-MG, wmbarbosa@hotmail.com

Apresentado no

Congresso Técnico Científico da Engenharia e da Agronomia – CONTECC'2018
21 a 24 de agosto de 2018 – Maceió - AL, Brasil

RESUMO: Este trabalho objetivou avaliar a utilização do *Plant Preservative Mixture* (PPM[®]) no estabelecimento *in vitro* de explantes do marolo (*Annoma crassiflora* M.). A folha do marolo foi extraída e desinfestada com álcool etílico 70% e hipoclorito de sódio 2,5% contendo Tween 20, 0,04% (v/v). Após foram inoculados em meio de cultura MS acrescido de sacarose 30 g.L⁻¹, reguladores de crescimento (2,9 µM de 6-benzilaminopurina (BAP) e 0,27 µM de ácido naftalenoacético (ANA)), solidificado com Phytigel 2,5 g.L⁻¹ e com as seguintes dosagens de PPM[®]: 0; 0,1; 0,2; 0,3 e 0,4%. Como resultados constatou-se que a adição do PPM[®] foi eficiente no controle da contaminação *in vitro* do marolo. Não houve calogênese nos explantes foliares.

PALAVRAS-CHAVE: Desinfestação, Controle de Contaminação, Cultura de Tecido.

IN VITRO ESTABLISHMENT OF MAROLO (*Annoma crassiflora* Mart.)

ABSTRACT: This work aimed to evaluate the use of Plant Preservative Mixture (PPM[®]) in the *in vitro* establishment of marolo explants (*Annoma crassiflora* Mart.). The marolo leaf was extracted and disinfested with 70% ethyl alcohol and 2.5% sodium hypochlorite containing 0.04% (v/v) Tween 20. After inoculation in culture medium MS plus sucrose 30 g.L⁻¹, growth regulators (2,9 µM de 6-benzilaminopurine (BAP) e 0,27 µM de naphthaleneacetic acid (NAA), solidified with Phytigel 2.5 g.L⁻¹ and with the following PPM dosages: 0; 0,1; 0,2; 0,3 e 0,4%. As results it was found that the addition of PPM was efficient in controlling the *in vitro* contamination of marolo. There was no calogenesis in the leaf explants.

KEYWORDS: Disinfestation, Contamination Control, Tissue Culture.

INTRODUÇÃO

O marolo (*Annona crassiflora* Mart.), pertencente à família Annonaceae, é uma fruta típica do cerrado que vem despertando grande interesse econômico devido ao seu sabor e aroma característicos, muito apreciado pela sua polpa que pode ser consumida ao natural ou em forma de doces, geleias, sucos, licores, sorvetes etc. (Almeida et al., 1998).

O marolo, se comparado com outras frutas, pode ser considerado boa fonte de lipídeos e de fibras alimentares. Os lipídeos da polpa são especialmente interessantes para o consumo *in natura*, devido à presença do ácido linolênico, um ácido graxo essencial, ou seja, não é sintetizado pelo organismo humano e deve ser ingerido por meio da alimentação. Além disso, a polpa do marolo é uma boa fonte de ferro e de pró-vitamina A. A polpa apresenta nove carotenoides, com predominância do beta-caroteno, que é o principal precursor da vitamina A (Agostini et al., 1995).

A propagação e o cultivo do marolo têm sido dificultados por um longo período de dormência das sementes que se estende por entre 237 a 292 dias, e se relaciona à imaturidade do embrião (Rizzini, 1973) o qual tem a necessidade de finalizar seu desenvolvimento durante a embebição para que o processo germinativo se inicie. A dormência parece ter papel fundamental no estabelecimento da espécie no cerrado, visto que ela faz com que a semente germine somente no início da próxima estação chuvosa, período propício para a sobrevivência das plântulas (Oliveira, 1998).

Por ser uma planta que pode auxiliar na rentabilidade da agricultura familiar torna-se indispensável a utilização de técnica eficaz para o aumento da disseminação desta espécie, o que poderá aumentar a produção em grande escala e incentivar novos produtores no cultivo da mesma. Porém, uma das adversidades enfrentadas pelos produtores na atualidade é a produção de mudas sadias (Madeira, 2004).

Métodos alternativos de multiplicação vegetativa, como a embriogênese somática (micropropagação *in vitro*), representa uma possibilidade real para a obtenção de mudas de marolo mais vigorosas e com melhor padrão fitossanitário.

Devido às inúmeras dificuldades em obter altos índices de germinação do marolo, o presente trabalho objetivou avaliar a eficiência do *Plant Preservative Mixture* (PPM[®]) no controle da contaminação no estabelecimento *in vitro* de explantes de *Annona crassiflora* Mart.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no laboratório de Biotecnologia do Instituto Federal do Sul de Minas Gerais, Campus Machado.

Folhas de marolo coletadas de plantas jovens, com aproximadamente um ano de idade, mantidas em campo e em casa de vegetação foram coletadas e levadas ao laboratório para sofrerem processo de desinfestação, por 2 minutos em álcool 70% e 15 minutos em hipoclorito de sódio 2,5% mais *Tween* 20. As folhas foram enxaguadas três vezes com água destilada e autoclavada.

Em seguida as folhas foram segmentadas e inoculadas em tubos de ensaio contendo 10 mL de meio de cultura MS (Murashige e Skoog, 1962) acrescido de sacarose 30 g.L⁻¹, reguladores de crescimento 6-benzilaminopurina (BAP) a 2,9 µM e ácido naftalenoacético (ANA) a 0,27 µM, solidificado com Phytigel 2,5 g.L⁻¹, e diferentes concentrações de PPM (0; 0,1; 0,2; 0,3; 0,4%). O delineamento experimental adotado foi inteiramente casualizado, com 5 tratamentos, 15 repetições. Foram feitos dois ensaios, sendo o primeiro com explantes provenientes do campo (ambiente com maior índice de contaminação) e o segundo de plantas mantidas em casa de vegetação.

Aos 42 dias analisou-se calogênese, número de explantes contaminados, índice de velocidade de contaminação e a oxidação do meio de cultura. A oxidação dos explantes foi analisada ao 14º dia, pois já havia muitos explantes oxidados.

Para o índice velocidade de contaminação usou-se a equação $IVC = \Sigma n/T$, sendo n o número de explantes contaminados e T o tempo. A contaminação dos explantes foi avaliada semanalmente no período de 42 dias.

A oxidação dos explantes foi avaliada pela porcentagem da área oxidada. Já para a oxidação do meio de cultura foram atribuídas notas de 0 a 4, em que a nota 0 foi dada ao meio totalmente claro, sem oxidação, e nota 4 foi atribuída ao meio totalmente escuro.

Os dados quantitativos foram submetidos à análise de variância e submetidos à análise de regressão utilizando o programa SISVAR versão 5.3 (Ferreira, 2011).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

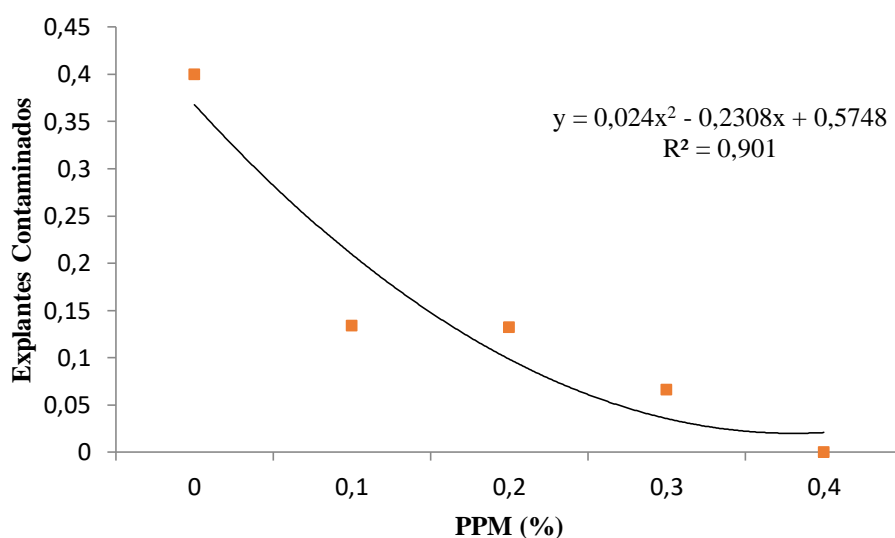
As médias dos números de explantes provenientes do campo contaminados não diferenciaram significativamente em relação ao aumento das doses de PPM[®] no meio de cultura (Tabela 1).

Tabela 1. Número de explantes foliares de marolo provenientes do campo contaminados com diferentes doses de PPM® (*Plant Preservative Mixture*).

PPM (%)	Explante contaminado
0	0,33
0,1	0,20
0,2	0,13
0,3	0,06
0,4	0,13

Quando os explantes foliares foram coletados em casa de vegetação, houve efeito significativo em relação às doses de PPM®, resultando em menor índice de contaminação dos mesmos (Figura 1).

Figura 1. Médias de explantes provenientes de casa de vegetação contaminados após 42 dias da inoculação.

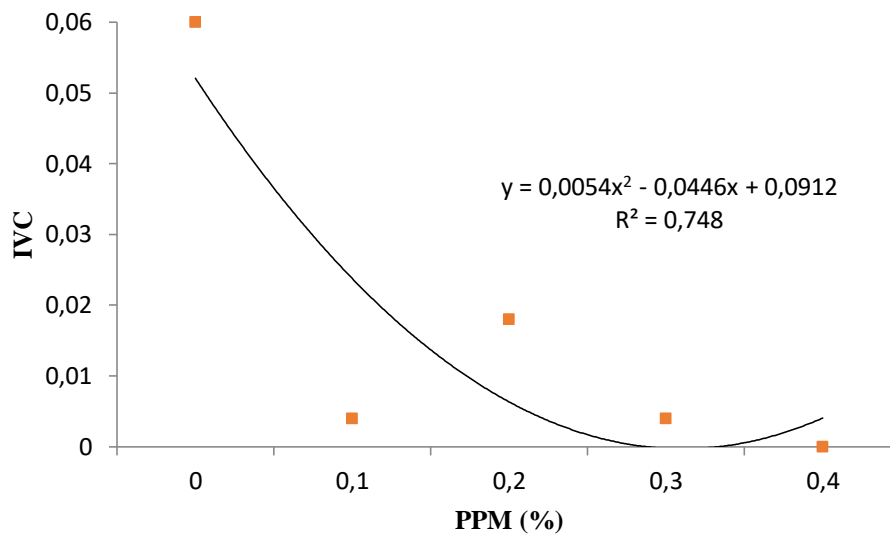


Em relação ao Índice de Velocidade de Contaminação dos explantes (IVC), quando as folhas foram coletadas no campo, o índice não diferenciou significativamente entre os tratamentos (Tabela 2). Quando os explantes foram coletados no campo houve diferença estatística significativa no IVC, sendo que a adição do biocida retardou a velocidade em que os explantes apareciam contaminados (Figura 2).

Tabela 2. Índice de Velocidade de Contaminação dos explantes (IVC) foliares de marolo provenientes do campo com diferentes doses de PPM® (*Plant Preservative Mixture*).

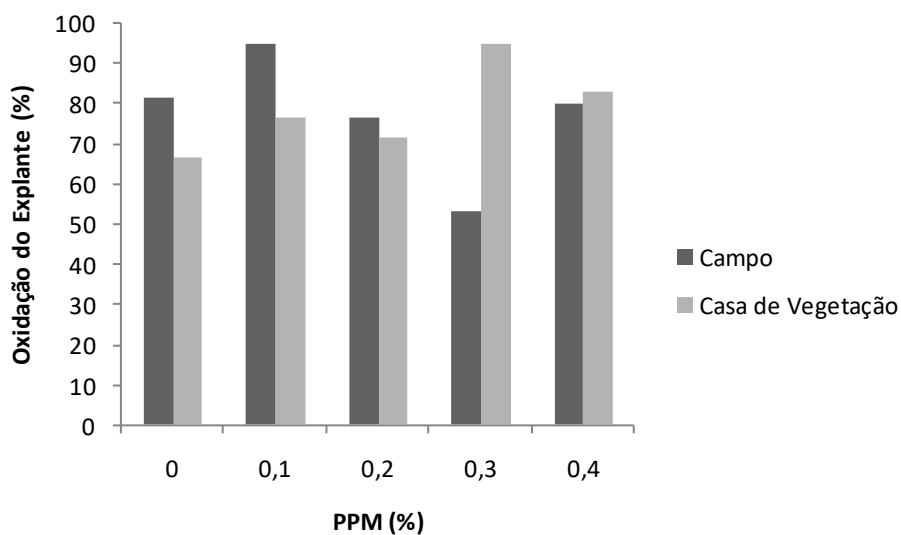
PPM (%)	IVC
0	0.041
0,1	0.021
0,2	0.020
0,3	0.014
0,4	0.020

Figura 2. Índice de Velocidade de Contaminação (IVC) de explantes foliares de plantas cultivadas em campo após 42 dias da inoculação.



Houve elevado índice de oxidação nos explantes, em ambas condições de coleta, tanto na ausência quanto na presença de PPM® no meio de cultura, demonstrando a não interferência da adição do biocida em relação a este parâmetro. Devido a grande oxidação promovida pela presença de compostos fenólicos no marolo, sugere-se a adição de agentes antioxidantes, como ácido ascórbico, carvão ativo dentre outros no meio de cultura.

Figura 3. Oxidação dos explantes foliares oriundos do campo e de casa de vegetação, cultivados em meio MS adicionados de diferentes doses de PPM® após 14 dias de cultivo.



Não ocorreram calogênese nos explantes, possivelmente devido a rápida oxidação dos mesmos, que promoveu produção de componentes tóxicos às células, fazendo com que as mesmas não respondessem à adição dos reguladores de crescimento no meio.

CONCLUSÃO

A adição de PPM® no meio de cultura reduz o número de explantes contaminados e a velocidade de aparecimento da contaminação no estabelecimento *in vitro* do marolo, no entanto não afeta a oxidação inerente do marolo.

AGRADECIMENTOS

Ao Laboratório de Biotecnologia do Instituto Federal do Sul de Minas Gerais, Campus Machado e ao Centro Superior de Ensino e Pesquisa de Machado pela concessão de bolsa de pesquisa ao primeiro autor.

REFERÊNCIAS

- Agostini, T. S.; Cecchi, H. M.; Barrera-Arellano, D. Caracterização química da polpa e do óleo de marolo. *Archivos Latinoamericanos de Nutricion*, Caracas, VE, v. 45, n. 3, p. 237-241, 1995.
- Almeida, S. P. Frutas nativas do cerrado: caracterização físico-química e fonte potencial de nutrientes. In: Sano, S.N.; Almeida, S. P. (org.). *Cerrado: ambiente e flora*. Planaltina: Embrapa-CPAC, 1998. p. 245-285.
- Ferreira, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. *Ciência e Agrotecnologia*, v. 35, n. 6, p.1039-1042, 2011.
- Madeira, N. R.; Souza, R. J. Mandioquinha-salsa: alternativa para o pequeno produtor. Lavras: Universidade Federal de Lavras, 2004. p. 47-49. (UFLA. Boletim Agropecuário, 60).
- Murashige, T.; Skoog, F. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia plantarum*, v.15, n.3, p.473-497, 1962.
- Oliveira, P. E. Fenologia e biologia reprodutiva das espécies de cerrado. In: Sano, S. M.; Almeida, S. P. de (Ed.). *Cerrado: ambiente e flora*. Planaltina: EMBRAPACPAC, 1998. p. 169-192.
- Rizzini, C. T. Dormancy in seeds of *Annona crassiflora* Mart. *Journal of Experimental Botany*, London, v. 24, n. 78, p. 117-123, 1973.