



## INFORMAÇÕES GERAIS DO TRABALHO

**Título do Trabalho:** TRATAMENTOS FUNGICIDAS NO CULTIVO DE EXPLANTES CAULINARES DE *Xylopia sericea* ST. HILL. (ANNONACEAE): OXIDAÇÃO DO MEIO DE CULTURA E OCORRÊNCIA DE *Fusarium* sp. NA MICROPROPAGAÇÃO DE *Xylopia sericea* (ANNONACEAE)

**Autor (es):** Natanielly Rodrigues Avelino, Clara de Almeida Guerra, Bruno Oliveira Lafetá, Márcio Takeshi Sugawara

**Palavras-chave:** assepsia, estabelecimento *in vitro*, fungicida, pimenteira,

**Campus:** São João Evangelista

**Área do Conhecimento (CNPq):** Ciências Agrárias

## RESUMO

O objetivo do presente trabalho foi avaliar o uso e efeito do fungicida sistêmico Cercobin® 700 WP no estabelecimento *in vitro* de explantes caulinares de *X. sericea*, mais especificadamente, na razão da frequência relativa entre a oxidação do meio de cultura e a ocorrência de *Fusarium* sp. Adotou-se DIC 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<sup>-1</sup>; T2 - 0,5 g.L<sup>-1</sup>; T3 - 1,0 g.L<sup>-1</sup>; T4 - 2,0 g.L<sup>-1</sup> e T5 - 4,0 g.L<sup>-1</sup>). No vigésimo terceiro dia, realizou-se a contagem final registrando o número de explantes contaminados por *Fusarium* sp. (F) e a Oxidação do Meio de Cultura (OMC, escurecimento do meio). Calculou-se a razão entre as frequências relativas de OMC e de F (OMC/F, %/%). Os dados foram submetidos à ANOVA e regressão linear simples, ambos a 5,0 % de significância estatística. As concentrações de fungicida estudadas influenciaram a razão OMC/F. Essa razão tendeu aumentar à medida que concentrou o fungicida. As concentrações do fungicida não foram eficientes para reduzir as ocorrências endofíticas de *Fusarium* sp. e a oxidação do meio de cultura no estabelecimento *in vitro* de explantes caulinares de *X. sericea*.



## INTRODUÇÃO:

*Xylopia sericea* St. Hill. (Annonaceae), conhecida popularmente por pimenteira, apresenta baixa taxa germinativa em condições naturais devido a dormência de suas sementes (CASTELLANI et al., 2001). A propagação seminal *in vitro* e em viveiros florestais dessa espécie por causa da má formação e/ou dormência fisiológica do embrião de suas sementes (dormência morfofisiológica) (TORRES, 2008; CASTELLANI et al., 2001).

A oxidação fenólica pode ser observada já nas primeiras semanas do estabelecimento *in vitro* e, na maioria das vezes, prejudicial para o desenvolvimento vegetal por alterar as condições do meio de cultura. O *Fusarium* é um fungo comum na cultura de tecidos, que produz micotoxinas capazes de prejudicar o estabelecimento *in vitro* de uma cultura. A fim de controlar e diminuir a ocorrência de fungos, buscam-se melhorias nos procedimentos de assepsia e na definição de meios de cultura apropriados para determinadas espécies (DUTRA et al., 2009).

O objetivo do presente trabalho foi avaliar o uso e efeito do fungicida sistêmico Cercobin® 700 WP no estabelecimento *in vitro* de explantes caulinares de *X. sericea*, mais especificadamente, na razão da frequência relativa entre a oxidação do meio de cultura e a ocorrência de *Fusarium* sp.



## METODOLOGIA:

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 material resgatado foi alocado em baldes de 20 litros contendo terra de subsolo (substrato) e permaneceu por 150 dias. A coleta dos brotos foi realizada no terço inferior da copa do material sobrevivente com auxílio de uma tesoura esterilizada em fogo.

Coletaram-se apenas os brotos sadios, livres de injúria, atrofia ou ataque por insetos. Posteriormente, foram acondicionados em bandejas de polietileno com solução de hipoclorito de sódio (2 gotas.L<sup>-1</sup> 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<sup>-1</sup>; T2 - 0,5 g.L<sup>-1</sup>; T3 - 1,0 g.L<sup>-1</sup>; T4 - 2,0 g.L<sup>-1</sup> e T5 - 4,0 g.L<sup>-1</sup>). Os brotos foram imersos por 20 minutos em solução fungicida acrescida com Tween 20 (3 gotas.100 mL<sup>-1</sup> de solução) e lavados em água deionizada e autoclavada.

O meio de cultura utilizado foi composto pelos sais básicos de MS força total (MURASHIGE e SKOOG, 1962), acrescidos de mio-inositol (100 mg.L<sup>-1</sup>), polivinilpirrolidona (1 g.L<sup>-1</sup>), sacarose (30 g.L<sup>-1</sup>), ágar bacteriológico ISOFAR (6 g.L<sup>-1</sup>), 0,5 mg.L<sup>-1</sup> de BAP (6-benzilaminopurina) e 0,3 mg.L<sup>-1</sup> 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<sup>-1</sup> 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 ± 2 °C e depois, sob fotoperíodo de 16 horas luz e 8 horas escuro na mesma temperatura.

No vigésimo terceiro dia, realizou-se a contagem final registrando o número de explantes contaminados por *Fusarium* sp. (F) e a Oxidação do Meio de Cultura (OMC, escurecimento do meio). Calculou-se a razão entre as frequências relativas de OMC e de F (OMC/F, %/%).

A homogeneidade de variâncias e a distribuição normal dos resíduos foram testadas pelos testes de Cochran e de Lilliefors (BANZATTO e KRONKA, 2006; RIBEIRO JÚNIOR, 2012), respectivamente. Os dados foram submetidos às análises de variância, regressão linear simples e correlação linear conforme Pearson. Na análise de regressão, foi usado o método dos mínimos quadrados ordinários. Para o diagnóstico de efeito estatístico empregou-se o nível de significância de 5 % de probabilidade em todas as análises. O processamento estatístico dos dados foi feito com auxílio do *software* Excel®.

## RESULTADOS E DISCUSSÕES:

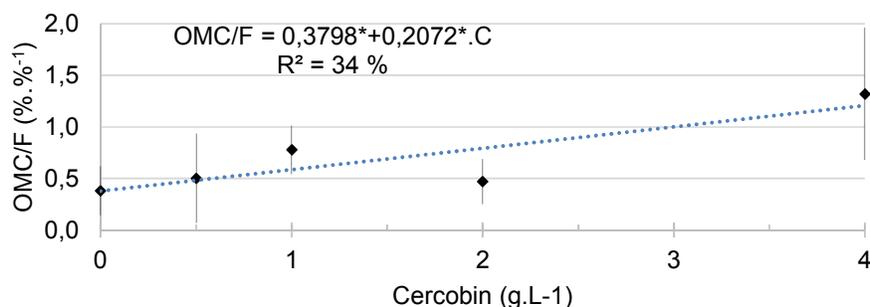
Os resultados apresentaram normalidade e homogeneidade de variâncias. O efeito estatístico pelo teste F ( $p < 0,05$ ) foi observado em nível de tratamento (Tabela 1). O elevado coeficiente de variação não necessariamente foi gerado pela falta de controle das condições experimentais. A variabilidade observada, provavelmente, foi resultado da ocorrência endofítica de *Fusarium* sp. nas matrizes resgatadas de *X. sericea*. De acordo com Dutra et al. (2009), a contaminação no cultivo *in vitro* é maior quando os explantes são extraídos de plantas oriundas do campo.

**Tabela 1.** Análise de variância da razão entre as frequências relativas de oxidação do meio de cultura e de ocorrência de *Fusarium* sp. na micropropagação de *X. sericea*.

F.V.	G.L.	Q.M	F	P
Tratamentos	4	0,58	3,84	0,024219
Resíduo	15	0,15		
$CV_{exp}$ (%)			56,44	

É importante considerar que a contaminação de explantes tende de ser maior na fase de estabelecimento *in vitro*, diminuindo com os subcultivos (OLIVEIRA et al., 2009). Segundo a revisão realizada por Oliveira et al. (2009), a variabilidade para a maioria das características biológicas estaria entre 5 e 50 %. Faixa esta que se aproxima com os resultados do presente trabalho. De modo similar, Oliveira et al. (2001) verificaram um CV elevado (40,0 %) nas taxas de contaminação ao longo de 8 subcultivos *in vitro* do cultivar de bananeira FHIA-01.

As concentrações estudadas de Cercobin® 700 WP influenciaram a razão OMC/F (Figura 1). Essa razão tendeu aumentar à medida que concentrou o fungicida. O erro padrão e coeficiente de correlação da equação gerada foram de 0,40 %. $\%^{-1}$  e 0,61 ( $p < 0,05$ ), respectivamente. A média geral de OMC foi de 43,86 % e de F, 70,18 %. Comprovou-se que esse fungicida sistêmico à base de tiofanato metílico, em alguns casos, pode não ser indicado no controle da oxidação do meio de cultura e da proliferação de *Fusarium* sp. no cultivo *in vitro*.



**Figura 1.** Representação gráfica da distribuição da razão entre as frequências relativas de oxidação do meio de cultura e de ocorrência de *Fusarium* sp. (OMC/F) na micropropagação de *X. sericea* em função de concentrações do fungicida Cercobin® 700 WP (C). As barras superior e inferior referem-se a uma unidade de desvio-padrão.



Os resultados do presente trabalho podem fornecer subsídios importantes para pesquisas posteriores sobre a assepsia de explantes caulinares para o estabelecimento *in vitro* de espécies nativas.



## CONCLUSÕES:

As concentrações do fungicida Cercobin® 700 WP, acrescidas com Tween 20 (3 gotas / 100 ml de solução), não foram eficientes para reduzir as ocorrências endofíticas de *Fusarium* sp. e a oxidação do meio de cultura no estabelecimento *in vitro* de explantes caulinares de *X. sericea*.

A interação entre a oxidação do meio de cultura e a ocorrência de *Fusarium* sp. no estabelecimento *in vitro* de *X. sericea* foi evidenciada com o aumento das concentrações do fungicida Cercobin® 700 WP.



## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

BANZATTO, D. A.; KRONKA, S. N. **Experimentação agrícola**. 4 ed. Jaboticabal: Funep, 2006, 237p.

CASTELLANI, E. D.; DAMIÃO-FILHO, C. F.; AGUIAR, I. B. Caracterização morfológica de frutos e sementes de espécies arbóreas do gênero *Xylopia* (Annonaceae). **Revista Brasileira de Sementes**, v. 23, n. 1, p. 205-211, 2001.

DUTRA, L. F.; WENDLING, I.; BRONDANI, G. E. A micropropagação de eucalipto. **Pesquisa Florestal Brasileira**, n. 58, p. 49-59, 2009.

MURASHIGE, T., SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, v.15, p.473-497, 1962.

OLIVEIRA, R. L.; MUNIS, J. A.; ANDRADE, M. J. B.; REIS, R. L. et al. Precisão experimental em ensaios com a cultura do feijão. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 33, n. 1, p. 113-119, 2009.

OLIVEIRA, R. P.; SILVEIRA, D. G.; SILVA, S. O. Concentração de BAP e a eficiência de micropropagação de bananeira tetraploide (grupo AAAB). **Scientia Agricola**, v. 58, n. 1, p. 73-78, 2001.

RIBEIRO JÚNIOR, J. I. **Métodos estatísticos aplicados à melhoria da qualidade**. 1 ed., Viçosa: Editora UFV., 2012, 385p.



**Participação em Congressos, publicações e/ou pedidos de proteção intelectual:**

Trabalho de Conclusão de Curso

CAMPUS SÃO JOÃO EVANGELISTA  
CLARA DE ALMEIDA GUERRA

ASSEPSIA DE EXPLANTES CAULINARES DE *Xylopiá sericea* St. Hill. COM  
FUNGICIDA SISTÊMICO

SÃO JOÃO EVANGELISTA  
2014

CLARA DE ALMEIDA GUERRA

ASSEPSIA DE EXPLANTES CAULINARES DE *Xylopiá sericea* St. Hill. COM  
FUNGICIDA SISTÊMICO

Trabalho de Conclusão de Curso  
apresentado ao Instituto Federal de  
Minas Gerais – campus São João  
Evangelista como exigência parcial para  
obtenção do título de Tecnólogo em  
Silvicultura.

Orientador: Me. Bruno Oliveira Lafeti  
Co-orientador: Dr. Marcio Takeshi  
Sugawara

SÃO JOÃO EVANGELISTA  
2014



Trabalhos Completos (Eventos local e internacional, respectivamente)



**VII FEPEG**  
FÓRUM DE ENSINO, PESQUISA, EXTENSÃO E GESTÃO  
UNIVERSITÁRIAS, CENÁRIOS E DESAFIOS

**XIV Seminário de Pesquisa e Pós-Graduação**  
**XII - Seminário de Iniciação Científica**  
**IV - Seminário PIBID**

[www.feppeg.unimontes.br](http://www.feppeg.unimontes.br)

**25 a 28 de setembro**  
Campus Universitário Professor Darcy Ribeiro  
Montes Claros - Minas Gerais

 **Unimontes**  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE MONTES CLAROS

 **GOVERNO**  
**DE MINAS**  
GERAIS  
CIÊNCIA, TECNOLOGIA  
E INOVAÇÃO SUPERIOR

## CERTIFICADO

Certificamos que o trabalho **Incidência de Fusarium sp. no Estabelecimento In Vitro de Explanthes Caulimares de Xylopias** serica **St. Hill** (Amonoceno) de autoria de: **Clara De Almeida Guerra, Bruno Oliveira Lafetá, Dalane Monteiro Nunes, Renolde Rodrigues, Tamires Moussteh Andrade Penido, Márcio Takeshi Sugawara** foi apresentado no formato de pôster no **VII FÓRUM DE ENSINO, PESQUISA, EXTENSÃO E GESTÃO** promovido pela Universidade Estadual de Montes Claros - Unimontes, no período de 25 a 28 de setembro de 2013.

Montes Claros-MG, 28 de setembro de 2013.

*Melício*

Professor João Felício Rodrigues Neto

**PRESIDENTE DO VII FEPEG E PRO-REITOR DE ENSINO**

*Maria Inete Soares de Almeida*

Professora Maria Inete Soares de Almeida Professor João do Reis Canela

**VICE-REITORA DA UNIMONTES** **REITOR DA UNIMONTES**



8<sup>o</sup> FÓRUM FEPEG  
ENSINO - PESQUISA  
EXTENSÃO - GESTÃO  
UNIVERSIDADE: SABERES E PRÁTICAS INOVADORAS  
Trabalhos científicos • Apresentações artísticas  
e culturais • Debates • Minicursos e Palestras  
REALIZAÇÃO: Unimontes  
APOIO: FAPEMIG, FADENOR  
24 a 27 setembro  
Campus Universitário Professor Darcy Ribeiro  
www.fepeg.unimontes.br

### 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 Mousslech 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 saudáveis, 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<sup>-1</sup>; T2 - 0,5 g.L<sup>-1</sup>; T3 - 1,0 g.L<sup>-1</sup>; T4 - 2,0 g.L<sup>-1</sup> e T5 - 4,0 g.L<sup>-1</sup>). 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<sup>-1</sup>), polivinilpirrolidona (1000 mg.L<sup>-1</sup>), sacarose (30 g.L<sup>-1</sup>), ágar bacteriológico ISOFAR (6 g.L<sup>-1</sup>), 0,5 mg.L<sup>-1</sup> de BAP (6-benzilaminopurina) e 0,3 mg.L<sup>-1</sup> 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  $\arcseno \bar{x} \times 100$  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 Statística 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 carabendazín, 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 tanger 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] DUTRA, 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<sup>o</sup>** FÓRUM ENSINO • PESQUISA  
EXTENSÃO • GESTÃO  
**FEPEG**  
UNIVERSIDADE: SABERES E PRÁTICAS INOVADORAS  
Trabalhos científicos • Apresentações artísticas  
e culturais • Debates • Minicursos e Palestras

REALIZAÇÃO:  
Unimontes  
AFORO:  
FAPEMIG  
FADENOR

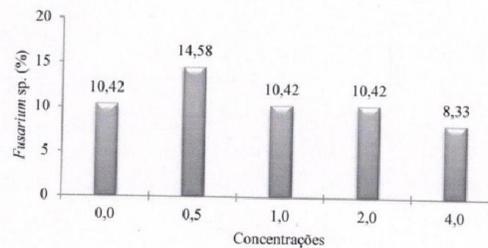
**24 a 27**  
setembro  
Campus Universitário Professor Darcy Ribeiro  
www.fepeg.unimontes.br

- [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 *Nyctopia 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 <sup>ns</sup>	0,8185
Resíduo		15	163,0610		

<sup>ns</sup>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*.



SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO  
CIENTÍFICA IFMG

PRPPG

Pró-Reitoria de Pesquisa,  
Inovação e Pós-Graduação



INSTITUTO FEDERAL  
MINAS GERAIS  
Reitoria

XVIII ENCONTRO LATINO AMERICANO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA  
VIII INICJR  
Encontro Latino Americano de Iniciação Científica Júnior

XV ENCONTRO LATINO AMERICANO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA  
XV INICID  
Encontro Latino Americano de Iniciação Científica

**CIÊNCIA PARA PLANETA URBANO**

DIAS 23 E 24 DE OUTUBRO DE 2014 | [WWW.INICEPG.UNIVAP.BR](http://WWW.INICEPG.UNIVAP.BR)

## CERTIFICADO

Certificamos que Clara de Almeida Guerra, Wesley Gomes dos Santos, Tamires Moussolech Andrade Penido, Patricia Lage, Márcio Takeshi Sugawara e Bruno Oliveira Lafeté apresentaram o trabalho intitulado "INCIDÊNCIA DE *Aspergillus NO CULTIVO DE EXPLANTES CAULINARES DE Xylopia sericea ST. HIL. (ANNONACEAE)*" no XVIII Encontro Latino Americano de Iniciação Científica, XIV Encontro Latino Americano de Pós-Graduação e VIII Encontro Latino Americano de Iniciação Científica Júnior, realizado na Universidade do Vale do Paraíba, nos dias 23 e 24 de outubro de 2014.

São José dos Campos, 24 de outubro de 2014.

Prof. Dra. Sandra Maria Fonseca da Costa  
Diretora do Instituto de Pesquisa & Desenvolvimento



APOIO



PATROCÍNIO





### INCIDÊNCIA DE *Aspergillus* NO CULTIVO DE EXPLANTES CAULINARES DE *Xylopia sericea* ST. HIL. (ANNONACEAE)

Clara de Almeida Guerra<sup>1</sup>, Wesley Gomes dos Santos<sup>1</sup>, Tamires Mousslech Andrade Penido<sup>2</sup>, Patricia Lage<sup>1</sup>, Márcio Takeshi Sugawara<sup>1</sup>, Bruno Oliveira Lafetá<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Minas Gerais/Tecnologia em Silvicultura, Avenida Primeiro de Junho, n° 1043 – Centro – 39705-000 São João Evangelista/MG, bruno.lafeta@ifmg.edu.br

<sup>2</sup>Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri/Departamento de Engenharia Florestal, Rodovia MGT 367 – Km 583, n° 5000 – Alto Jacuba – 39100-000 Diamantina/MG, penidotma@gmail.com

**Resumo-** O controle fúngico é essencial para o sucesso do cultivo *in vitro* de espécies vegetais. O objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito de diferentes concentrações de fungicida sistêmico para o controle de *Aspergillus* sp. na fase de estabelecimento *in vitro* utilizando explantes caulinares de *X. sericea*. 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<sup>-1</sup>; T2 - 0,5 g.L<sup>-1</sup>; T3 - 1,0 g.L<sup>-1</sup>; T4 - 2,0 g.L<sup>-1</sup> e T5 - 4,0 g.L<sup>-1</sup>). Aos 25 dias, avaliou-se a incidência de *Aspergillus* sp. Realizou-se análise de variância a 5 % de significância. As concentrações estudadas do fungicida não proporcionaram uma incidência diferenciada de *Aspergillus* sp. pelo material experimental. A média e o desvio-padrão foram de 27,8252 % e 13,5467 %, respectivamente. Mesmo sendo de ação sistêmica, o fungicida não foi eficiente para reduzir a infestação por *Aspergillus* sp. Conclui-se que as concentrações do fungicida Cercobin® 700 WP não reduziram a incidência de *Aspergillus* sp. na cultura de tecidos utilizando explantes caulinares de *X. sericea*.

**Palavras-chave:** Fungo, Pimenteira, Cercobin

**Área do Conhecimento:** Engenharias, Engenharia Florestal

#### Introdução

*Xylopia sericea* St. Hill., conhecida popularmente como "pimenteira", pertence à família Annonaceae e pode ser utilizada na construção civil e em programas que visem a recuperação de áreas degradadas. As cascas da madeira são utilizadas na indústria caseira de cordoaria e as sementes, em condimentos, substituindo a pimenta do reino (PONTES, 2007).

A micropropagação é uma técnica que pode ser utilizada para otimizar a produção de mudas de espécies com dificuldades de se reproduzir naturalmente ou quando métodos convencionais não são viáveis (MANTOVANI et al., 1999). Sementes de *X. sericea* apresentam dormência morfofisiológica, o que dificulta sua propagação seminal.

A contaminação do explante (material vegetal) é comum no cultivo *in vitro*, principalmente, na fase inicial de estabelecimento (DUTRA et al., 2009). Biofábricas de plantas reconhecem que as infecções fúngicas podem limitar o sucesso do cultivo *in vitro* (COLOMBO et al., 2004). Portanto, métodos que visem o controle de fungos são recomendáveis.

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

#### Metodologia

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 classificado como Cwa pelo sistema de Köppen (temperado chuvoso-mesotérmico), a precipitação média anual é de 1400 mm e a temperatura média anual é de 21 °C (BRAGA et al., 1999).

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.



Coletaram-se apenas os brotos saudáveis, livres de injúria, atrofia ou ataque por insetos foram acondicionados em bandejas de polietileno com solução de hipoclorito de sódio (2 gotas.L<sup>-1</sup> 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<sup>-1</sup>; T2 - 0,5 g.L<sup>-1</sup>; T3 - 1,0 g.L<sup>-1</sup>; T4 - 2,0 g.L<sup>-1</sup> e T5 - 4,0 g.L<sup>-1</sup>). Os brotos foram imersos por 20 minutos em solução fungicida acrescida com Tween 20 (3 gotas.100 mL<sup>-1</sup> de solução) e lavados em água deionizada e autoclavada.

O meio de cultura utilizado foi composto pelos sais básicos de MS (MURASHIGE e SKOOG, 1962), acrescidos de mio-inositol (100 mg.L<sup>-1</sup>), polivinilpirrolidona (1 g.L<sup>-1</sup>), sacarose (30 g.L<sup>-1</sup>), ágar bacteriológico ISOFAR (6 g.L<sup>-1</sup>), 0,5 mg.L<sup>-1</sup> de BAP (6-benzilaminopurina) e 0,3 mg.L<sup>-1</sup> 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<sup>-1</sup> 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 ± 2 °C e depois, sob fotoperíodo de 16 horas luz e 8 horas escuro na mesma temperatura.

Aos 25 dias, avaliou-se a incidência de *Aspergillus* sp. Realizou-se análise de variância a 5 % de significância. A análise estatística foi realizada com auxílio do software SISVAR (FERREIRA, 2003).

#### Resultados

Os resultados apresentaram normalidade pelo teste de Lilliefors e homogeneidade por Cochran. O efeito estatístico em nível de tratamento não foi observado ( $p > 0,05$ ) (Tabela 1). A média e o desvio-padrão, entre os tratamentos, da incidência de *Aspergillus* sp. no cultivo *in vitro* de explantes caulinares de *X. sericea* foram de 27,8252 % e 13,5467 %, respectivamente (Figura 1).

Tabela 1 - Análise de variância da incidência de *Aspergillus* sp. no cultivo *in vitro* de explantes caulinares de *X. sericea*

Fontes de Variação	G.L.	Q.M.	p
Tratamentos	4	201,7198	0,3800
Resíduo	15	178,6564	
Cv <sub>exp</sub> (%)			48,04

Cv<sub>exp</sub> = coeficiente de variação. p = probabilidade.

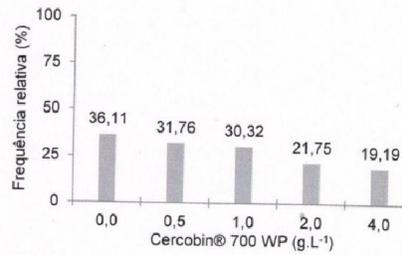


Figura 1 - Médias da incidência de *Aspergillus* sp. no cultivo *in vitro* de explantes caulinares de *X. sericea* em função das concentrações de Cercobin® 700 WP.

#### Discussão

O coeficiente de variação observado está de acordo com a faixa normalmente encontrada para a maioria das características biológicas de 5,0 % a 50,0 %, (OLIVEIRA et al., 2009). As concentrações estudadas de Cercobin® 700 WP não proporcionaram uma incidência diferenciada de *Aspergillus* sp. pelo material experimental (Tabela 1 e Figura 1). Portanto, comprovou-se que este fungicida sistêmico à base de tiofanato metílico pode, em alguns casos, não exercer influência na ocorrência deste fungo.

O fungicida Cercobin® 700 WP, mesmo sendo de ação sistêmica, não foi eficiente para reduzir a infestação por *Aspergillus* sp. no meio de cultivo (Tabela 1). Este resultado provavelmente foi consequência da pilosidade observada nos explantes caulinares da *X. sericea*, prejudicando o contato do fungicida com o tecido vegetal. A concentração empregada para o detergente (Tween 20) pode não ter sido suficiente para aumentar a superfície de contato entre solução fungicida e explante.

É importante considerar que problemas com fitotoxicidade são minimizados desde que sejam respeitadas as recomendações de uso de fungicidas (LONDE et al., 2007). Problemas estes não verificados no presente trabalho.

Fungos endofíticos são comuns em explantes vegetais, principalmente, aqueles obtidos de matrizes oriundas de ambientes não protegidos. Segundo Borges et al. (2012), a obtenção de uma cultura livre de patógenos e adaptada às condições *in vitro* depende dos tratamentos assépticos utilizados.

É notório que o controle fúngico é um grande desafio 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 micropropagação de espécies nativas, sobretudo, as que ocorrem no bioma Mata Atlântica.

#### Conclusões

A incidência de *Aspergillus* sp. foi similar para as diferentes concentrações do fungicida Cercobin® 700 WP em estudo.

As concentrações do fungicida Cercobin® 700 WP não reduziram a incidência de *Aspergillus* sp. na cultura de tecidos utilizando explantes caulinares de *X. sericea*.

#### Agradecimentos

Ao Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia de Minas Gerais - Campus de São João Evangelista-MG por todo apoio logístico e financeiro para a realização do presente trabalho.

#### Referências

- BORGES, S. R.; XAVIER, A.; OLIVEIRA, L. S.; LOPES, A. P.; OTONI, W. C.; TAKAHASHI, E. K.; MELO, L. A. Estabelecimento *in vitro* de clones híbridos de *Eucalyptus globulus*. *Ciência Florestal*, v. 22, n. 3, p. 605-616, 2012.



- BRAGA, F. A.; BARRROS, N. F.; SOUZA, A. L.; COSTA, L. M. Características ambientais determinantes da capacidade produtiva de sítios cultivados com eucalipto. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v. 23, n.2 p.291-298, 1999.

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

- DUTRA, L. F.; WENDLING, I.; BRONDANI, G. E. A micropropagação de eucalipto. *Pesquisa Florestal Brasileira*, n. 58, p. 49-59, 2009.

- FERREIRA, D. F. **SISVAR**. Versão. 4.3. Lavras: DEX/UFLA, 2003.

- LONDE, L. N.; SOUSA, C. S.; VIEIRA, C. U.; BONETTI, A. M.; KERR, W. E. 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.

- MANTOVANI, N. C.; FRANCO, E. T. H.; GUERRA, M. P.; HOPPE, J. M. Micropropagação de caixeta, *Didymopanax morotoni* (Aubl.) Dcne. Et Planch. *Ciência Florestal*, v. 9, n. 1, p. 47-61, 1999.

- MURASHIGE, T., SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, v.15, p.473-497, 1962.

- OLIVEIRA, R. L.; MUNIS, J. A.; ANDRADE, M. J. B.; REIS, R. L. et al. Precisão experimental em ensaios com a cultura do feijão. *Ciência e Agrotecnologia*, v. 33, n. 1, p. 113-119, 2009.

- PONTES, W. J. T.; OLIVEIRA, J. C. S.; CÂMARA, C. A. G.; GONDIN JÚNIOR, M. G. C.; OLIVEIRA, J. V.; SCHWARTZ, M. O. E. Atividade acaricida dos óleos essenciais de folhas e frutos de *Xylopiá sericea* sobre o ácaro rajado (*Tetranychus urticae* Koch). *Química Nova*, v. 30, n. 4, p. 838-841, 2007.