



86 – PROTOCOLO DE ASSEPSIA DA MIKANIA LAEVIGATA (GUACO CHEIROSO) PARA INTRODUÇÃO IN VITRO.

Autores - Vinicius Nolasco Werle; Sandra Regina Cabel

INSTITUIÇÃO- Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUCPR),

INTRODUÇÃO

Mikania glomera. e *Mikania laevigata*, popularmente conhecidas como guaco e guaco-cheiroso, destacam-se pelas suas propriedades medicinais. Elas são espécies originárias da América do Sul e possuem pequenas diferenças, no seu perfil metabólico secundários e a morfologia anatômica e estrutural.

O guaco tem como sua principal molécula terapêutica (marcador químico) a cumarina e sua recomendação de uso seria por meio de chás para gripes e resfriados, bronquites alérgicas e infecciosas e como expectorante. Mas também é possível utilizar o guaco por meio da tintura. Entretanto, para realizar a propagação dessa espécie, somente há registro na literatura de propagação por meio da técnica de estaquia. Portanto, o trabalho teve como objetivo realizar os primeiros passos da micropropagação da espécie, isto é, realizar um protocolo de assepsia para a *Mikania laevigata*.

METODOLOGIA

No trabalho optou-se por utilizar 4 agentes desinfetantes diferentes, sendo eles o Cercobin, Hipoclorito de Sódio, Coryna 166 X-C e Iodopovidona, contendo 3 concentrações diferentes para cada tratamento (Tabela 1), com 25 repetições cada protocolo. Foi utilizado o meio MS com adição de carvão ativo (1g/L) para evitar a oxidação dos explante e estimular o crescimento de raízes.

Tabela 1. Protocolos de desinfecção avaliados para introdução de guaco

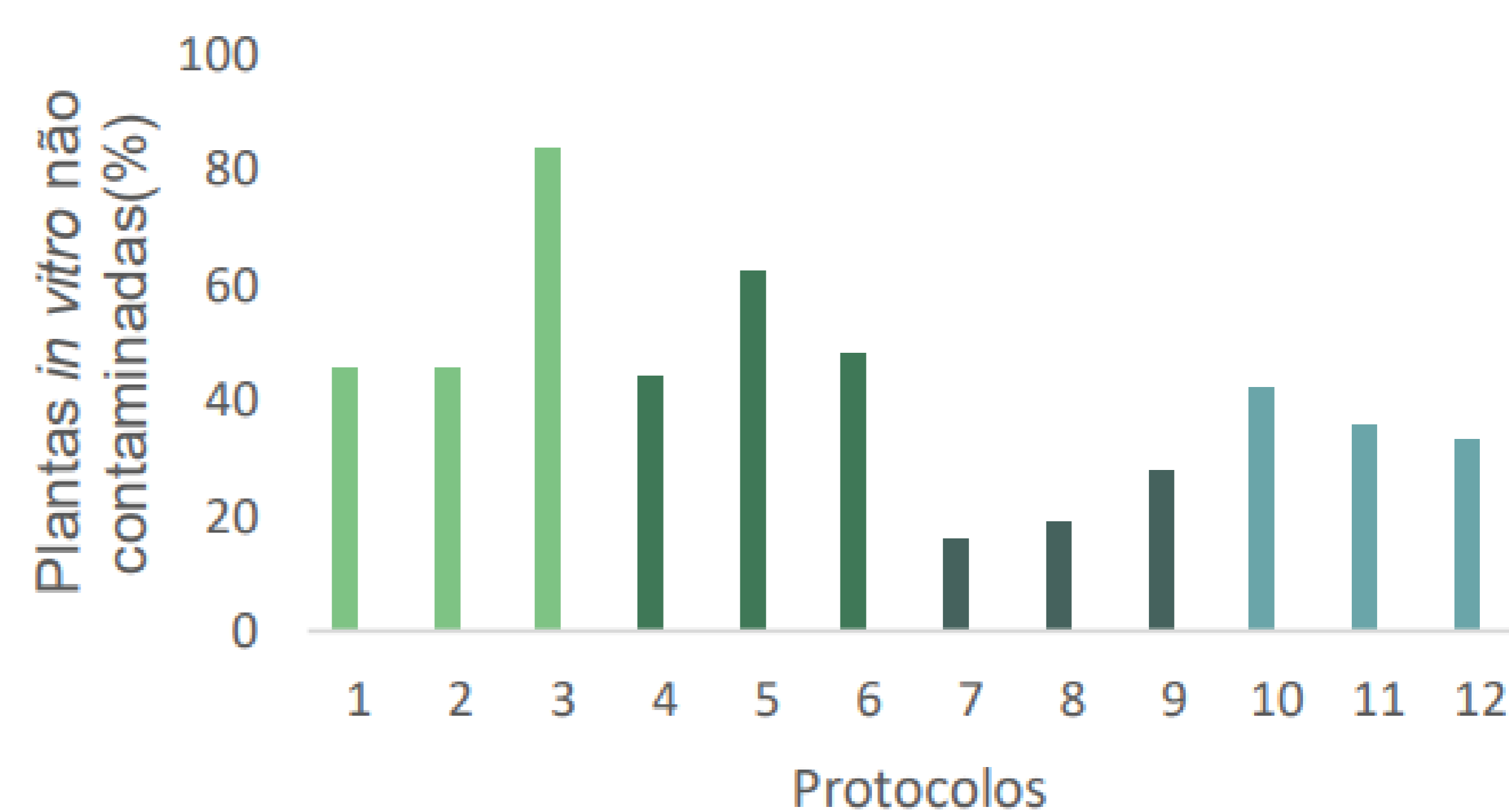
Tratamento	Protocolo	Tipo de desinfetante	Tempo de desinfecção (min.)
T1	P1	Hipoclorito de sódio (NaOCl) 1%	15
	P2	NaOCl 1,25%	15
	P3	NaOCl 1,5%	15
	P4	Cercobin® 1g/L	15
T2	P5	Cercobin® 2/L	15
	P6	Cercobin® 3/L	15
	P7	Coryna 116 X-C 0,5%	15
T3	P8	Coryna 116 X-C 0,75%	15
	P9	Coryna 116 X-C 1%	15
	P10	Iodopovidona 1%	15
T4	P11	Iodopovidona 1,5%	15
	P12	Iodopovidona 2%	15

Para realizar a extração dos explantes, foi priorizado caules mais jovens, além disso, optou-se por adquirir mudas comercialmente. O método de assepsia consistiu em 5 passos, primeiro é realizado a pré lavagem em agitação utilizando detergente e água corrente para limpar sujeiras superficiais, após isso, é realizado a imersão em agitação em solução de álcool etílico 70% por 30 segundos em seguida, imersão em agitação em Hipoclorito de sódio a 1% + 3 gotas de Tween 20 por 15 minutos, aplicação do tratamento por 15 minutos em agitação (exceto para o tratamento com hipoclorito de sódio) e enxague 3 vezes em capela de fluxo laminar com água deionizada autoclavada. Após a introdução in vitro os explantes foram deixados em um incubadora a 24°C ± 2, além disso, na primeira semana, os explante foram deixados em uma cobertura feito com papel alumínio para evitar a passagem de luz.

RESULTADOS E CONCLUSÕES

Nos protocolos utilizando hipoclorito de sódio, o tratamento de 1,50% teve a maior taxa de descontaminação de todos os tratamentos, alcançando taxas de 84% de explantes viáveis, as concentrações menores de hipoclorito alcançaram taxas semelhantes, em torno de 45% (Fig. 1). O antifúngico Cercobin®, na concentração de 2 g/L, teve a segunda maior taxa de descontaminação, alcançando 62,5% de explantes viáveis, onde foi possível perceber que sua ação contra a contaminação fúngica foi eficiente, apesar da presença de contaminação bacteriana em 13% dos casos. (Fig. 1). O antifúngico Cercobin®, na concentração de 2 g/L, teve a segunda maior taxa de descontaminação, alcançando 62,5% de explantes viáveis, onde foi possível perceber que sua ação contra a contaminação fúngica foi eficiente, apesar da presença de contaminação bacteriana em 13% dos casos. (Fig. 1) A análise do tratamento com Coryna revelou uma alta suscetibilidade à contaminação fúngica, atingindo até 64% em certas concentrações. Paralelamente, observou-se que a viabilidade dos explantes, embora baixa, apresentou uma variação crescente conforme o aumento da concentração, atingindo um pico de 28% a 1% (Fig. 2 - P9). Com relação ao tratamento utilizando o Iodopovidona, a viabilidade dos explantes manteve-se relativamente baixa, variando entre 33% e 42%, (Fig, 1) representando o menor rendimento comparado aos demais tratamentos testados.

Figura. 1. Porcentagem de explantes introduzidas in vitro com sucesso 18 dias após o cultivo in vitro.



O Guaco (*Mikania laevigata*) tem um ótimo comportamento ao ser introduzido in vitro, com apenas um tratamento simples utilizando álcool 70% e hipoclorito de sódio a 1,50, é possível obter 84% por explantes descontaminados, embora ainda sejam necessárias otimizações na concentração e tempo, além disso, é uma espécie que cresce bem in vitro sem a necessidade de fitohormônios, refletindo a sua propensão em ser micropropagada.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer aos colegas que me ajudaram com o trabalho e principalmente a Prof. Sandra Cabel pela ótima orientação.