

Efeito do meio de cultura na germinação *in vitro* do jenipapeiro

C. S. Almeida¹; A. S. Léo²; A. G. Araújo³; A. V. C. Silva²; J. F. Silva Junior²; J. E. Santos¹; M. M. J. Ribeiro¹; J. L. Vilanova Neta¹

¹PROBIOTEC/Eng. Florestal/Química, Universidade Federal de Sergipe, 49100-000, São Cristóvão-SE, Brasil

²Área técnico-científica, Embrapa Tabuleiros Costeiros, 49025-040, Aracaju-SE, Brasil

³Área técnico-científica, Syngenta, 38401-730, Uberlândia-MG, Brasil

ana.ledo@embrapa.br

(Recebido em 06 de agosto de 2013; aceito em 23 de outubro de 2013)

Apesar do conhecimento do potencial produtivo e da adaptabilidade do jenipapeiro nas diversas regiões tropicais, ainda são poucos os trabalhos sobre esta espécie. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de diferentes meios de cultura na germinação *in vitro* de sementes de jenipapeiro. Foram utilizadas sementes de frutos maduros de jenipapeiro provenientes de população natural do povoado Oiteiros em Nossa Senhora das Dores - SE (acesso OIT) e testadas diferentes variações de sais MS e sacarose: T1) Meio MS + 30 g L⁻¹ de sacarose; T2) MS + 15 g L⁻¹ de sacarose; T3) ½ MS + 30 g L⁻¹ de sacarose; T4) ½ MS + 15 g L⁻¹ de sacarose e T5) 0 MS + 0 sacarose. Todos os tratamentos foram gelificados com 4,5 g L⁻¹ de Phytigel®. O experimento foi instalado em delineamento inteiramente casualizado com cinco tratamentos e quatro repetições. Todas as variáveis foram submetidas à análise de variância e comparadas pelo teste de Tukey a 1% de probabilidade. Houve efeito significativo dos meios de cultura para a porcentagem de explantes germinados *in vitro*, o comprimento da parte aérea e o tempo de cultivo *in vitro*. Observou-se que na ausência de sais e de sacarose houve maior porcentagem de germinação e menor comprimento da parte aérea quando comparado com os demais tratamentos.

Palavras-chave: *Genipa americana* L.; propagação *in vitro*; cultura de tecidos.

Effect of culture medium on the *in vitro* germination of jenipapo.

Despite knowledge of the productive potential and adaptability of jenipapo in various tropical regions, there are few studies on this species. The aim of this study was to evaluate the effect of different culture media on *in vitro* germination of jenipapo seeds. Seeds were obtained of ripe fruit of jenipapo natural population from Oiteiros city at Nossa Senhora do Socorro, SE (accession OIT) and tested different variations of MS salts and sucrose: T1) MS + 30 g L⁻¹ sucrose, T2) MS + 15 g L⁻¹ sucrose; T3) ½ MS + 30 g L⁻¹ sucrose; T4) ½ MS + 15 g L⁻¹ sucrose and T5) 0 MS + 0 sucrose. All the treatments were gelled with 4.5 g L⁻¹ Phytigel®. The experiment was conducted in a completely randomized design with five treatments and four replications. All variables were subjected to analysis of variance and compared by Tukey test at 1% probability. There was a significant effect of culture media for the percentage of sprouted explants *in vitro*, shoot length and time of *in vitro* culture. It was observed that in the absence of salts and sucrose was higher germination percentage and lowest shoot length compared with the other treatments.

Keywords: *Genipa americana* L., *in vitro* propagation, tissue culture.

1. INTRODUÇÃO

O jenipapeiro é uma frutífera pouco exigente que se adapta muito bem ao clima tropical e a tipos variados de solo, sendo a exploração dessa espécie predominantemente extrativista, feita por pequenos agricultores tradicionais. Desconhece-se, no Brasil, a existência de pomares comerciais registrados desta frutífera^{4,15}.

A germinação é um evento fisiológico que depende da qualidade da semente e das condições de germinação. Essas condições ou requerimentos básicos para germinação variam entre as espécies de plantas¹⁶. Para isso, estudos de meios de cultura que favoreçam a germinação *in vitro* são importantes para maximizar a taxa de germinação e permitir a obtenção de plântulas saudáveis, vigorosas e com qualidade genética, sirvam como fonte de explante confiável para estudos posteriores.

O uso de sementes proporciona algumas vantagens em relação aos demais tipos de explantes, como o crescimento acelerado e, conseqüentemente, a rápida disponibilidade de material para as

etapas seguintes do cultivo, bem como a facilidade de enraizamento da cultura, visto que vigor e enraizamento adventício são características naturais de tecidos em estado juvenil^{13, 1, 8}.

A obtenção de plântulas assépticas para o estabelecimento de protocolos de propagação de plantas lenhosas tem sido aplicada a diversas espécies^{3, 14, 6, 9, 10}. Dessa forma, a germinação de sementes *in vitro* possui relevante importância para a micropropagação, tendo em vista a obtenção de plântulas saudáveis como fonte de explantes.

Técnicas de propagação *in vitro* bem desenvolvidas ou adaptadas para o jenipapeiro são de grande importância para programas de conservação de recursos genéticos e melhoramento genético dessa espécie. Portanto, o objetivo do trabalho foi avaliar diferentes meios de cultivo para a germinação *in vitro* de jenipapeiro.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

Sementes extraídas de frutos maduros de acessos de jenipapeiro de ocorrência em população natural do povoado Oiteiros - SE (acesso OIT) (9°40'52.10"S; 37°05'12.45"O), foram mantidas por 24 horas em temperatura ambiente. Em seguida, foram submetidas à assepsia em câmara de fluxo laminar sendo imersas em álcool 70% (v/v) por 60 segundos e em solução de hipoclorito de sódio (NaOCl) com 2,5% (v/v) de cloro ativo com duas gotas de detergente por 20 minutos¹⁵. Ao final desse tempo, foram lavadas, três vezes, em água destilada e autoclavada.

Para estudo da germinação *in vitro* foram avaliados cinco meios de cultura: T1: Meio MS¹² + 30 g L⁻¹ de sacarose; T2: MS + 15 g L⁻¹ de sacarose; T3: ½ MS + 30 g L⁻¹ de sacarose; T4: ½ MS + 15 g L⁻¹ de sacarose e T5: 0 MS + 0 sacarose. Todos os tratamentos foram gelificados com 4,5 g L⁻¹ de Phytigel®.

Os meios de cultura tiveram o pH ajustado para $5,8 \pm 0,1$ e foram autoclavados por 15 minutos a uma temperatura de $121 \pm 1^\circ\text{C}$ e pressão de 1,05 atm. As culturas foram mantidas em sala de crescimento com temperatura controlada de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, umidade relativa do ar média em torno de 70% com fotoperíodo de 12 horas de luz e intensidade luminosa de $60 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$.

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado com cinco tratamentos e quatro repetições, sendo cada tratamento composto por vinte frascos (5 sementes/frasco). A avaliação foi realizada a cada 30 dias durante quatro meses, sendo observada aos 120 dias a porcentagem de plântulas normais e comprimento da parte aérea. Foi considerada como plântula normal as que apresentaram formação de parte aérea e raiz.

As médias das variáveis foram submetidas à análise de variância e comparadas pelo teste de Tukey a 1% de probabilidade, para o efeito do tempo foram estimadas equações de regressão. Foi utilizado o programa estatístico SISVAR⁵.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Conforme a análise de variância houve efeito significativo dos meios de cultura para a porcentagem de plântulas normais e para o comprimento da parte aérea. Observou-se que na ausência de sais e no meio ½ MS com 30 g L⁻¹ de sacarose houve maior porcentagem de germinação de plântulas normais (Tabela 1, Figura 1). Resultados semelhantes foram observados por Léo et al.⁹ para a germinação *in vitro* de mangaba nativa do Nordeste e Freire et al.⁶ em moringa.

Tabela 1: Porcentagem de plântulas normais do acesso OIT em diferentes meios de cultura aos 120 dias de cultivo in vitro.

Meios de cultura	Plântulas normais (%)
0 MS + 0 sacarose	91,25a
MS + 15 g L⁻¹ sacarose	34,02c
MS + 30 g L⁻¹ sacarose	54,75b
½ MS + 15 g L⁻¹ sacarose	64,13b
½ MS + 30 g L⁻¹ sacarose	78,69a
CV (%)	21,67

Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente, entre si, ao nível de 1% pelo teste de Tukey.

Na ausência de sais e da sacarose (meio T5) houve mais de 90% de germinação (Tabela 1), não diferindo estatisticamente do meio composto por ½ MS + 30 g L⁻¹ sacarose (78%). No entanto, observou-se um menor comprimento da parte aérea dos explantes mantidos na ausência de sais e sacarose (Tabela 2) quando comparado com o meio ½ MS com 30 g L⁻¹ de sacarose (T3). Apesar do baixo custo proporcionado pelo meio T5 o meio T3 também é promissor pela excelente vigor apresentado pelas plântulas (Figura 1).

Tabela 2: Comprimento da parte aérea (CPA) de plântulas do acesso OIT em diferentes meios de cultura aos 120 dias de cultivo in vitro.

Meios de cultura	CPA (cm)
0 MS + 0 sacarose	4,54c
MS + 15 g L⁻¹ sacarose	5,16bc
MS + 30 g L⁻¹ sacarose	6,78ab
½MS + 15 g L⁻¹ sacarose	5,85abc
½MS + 30 g L⁻¹ sacarose	7,31a
CV (%)	18,84

Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente, entre si, ao nível de 1% pelo teste de Tukey.



Figura 1. Germinação *in vitro* do acesso OIT, aos 120 dias, nos meios T1: Meio MS + 30 g L⁻¹ de sacarose; T2: MS + 15 g L⁻¹ de sacarose; T3: ½ MS + 30 g L⁻¹ de sacarose; T4: ½ MS + 15 g L⁻¹ de sacarose e T5: 0 MS + 0 de sacarose.

Durante o cultivo *in vitro*, as soluções de sais e açúcares que compõem os meios de cultura não exercem efeito puramente nutritivo, mas também influenciam o crescimento celular e na morfogênese por meio de propriedades osmóticas^{7, 11}. Considerando que os cotilédones têm a função de armazenar substâncias de reservas até a plântula tornar-se autotrófica¹⁰, a presença de solução nutritiva no meio externo torna-se dispensável para o crescimento inicial de plântulas de jenipapeiro cultivadas *in vitro*. Provavelmente, por apresentar concentrações de nutrientes acima daquelas requeridas para o jenipapeiro, o meio MS pode ter influenciado à germinação.

Houve efeito significativo do tempo de cultivo *in vitro* na porcentagem de plântulas normais. A porcentagem de explantes germinados em função do tempo de cultivo *in vitro* variou segundo uma regressão linear (Figura 2), sendo observadas aos 90 e 120 dias as maiores porcentagens de germinação *in vitro*.

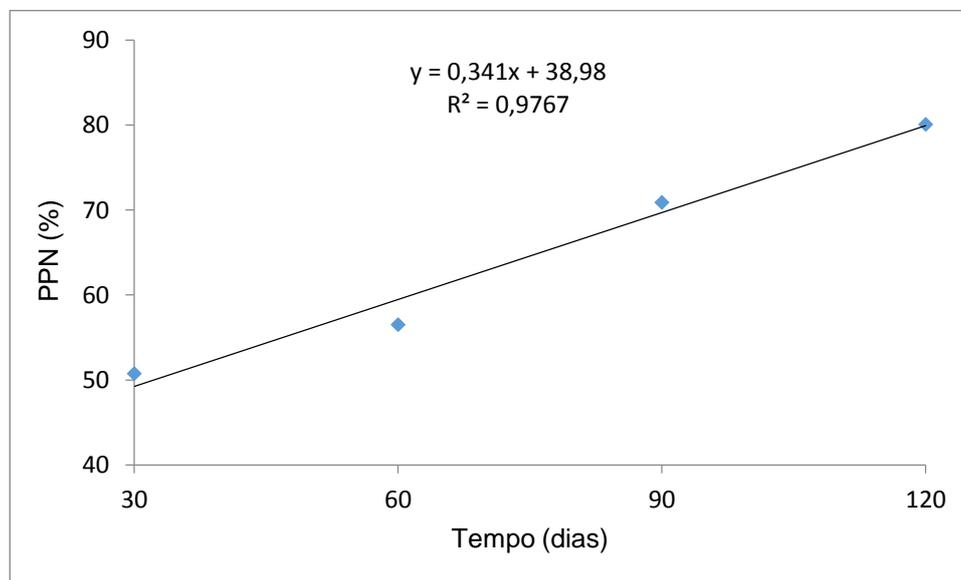


Figura 2: Porcentagem de plântulas normais (PPN) do acesso OIT em função do tempo de cultivo *in vitro*.

4. CONCLUSÕES

- A ausência de sais e de sacarose induz maior porcentagem de germinação de plântulas normais e menor comprimento da parte aérea de plântulas do acesso OIT;
- A metade da concentração de sais MS na presença de 30 g L⁻¹ sacarose favorece o desenvolvimento da parte aérea das plântulas do acesso OIT;
- O tempo de cultivo *in vitro* influencia a porcentagem de germinação de jenipapeiro até os 120 dias.

5. AGRADECIMENTOS

A Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico (CNPq) e Tecnológico e Fundação de Apoio (FAPITEC-SE) pelo suporte financeiro e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão de bolsa de mestrado.

-
1. Assis T. F.; Teixeira S. L. Enraizamento de plantas lenhosas. In: Torres A. C.; Caldas L. S.; Buso J. A. (Eds.). Cultura de tecidos e transformação genética de plantas. v.1. Brasília: Embrapa Produção de Informação/ Centro Brasileiro Argentino de Biotecnologia, p.261- 296, 1998.
 2. Caldas L. S.; Haridasan P. F.; Elias M. Meios nutritivos. In: Torres A. C.; Caldas L. S.; Buso J. A. (Eds.). Cultura de tecidos e transformação genética de plantas. v.1. Brasília: Embrapa Produção de Informação/ Centro Brasileiro Argentino de Biotecnologia, p.261- 296, 1998.
 3. Coelho M. C. F.; Pinto J. E. B. P.; Morais A. R. de; Cid L. P. B.; Lameira O. A. Germinação. Germinação de sementes de sucupira-branca [*Pterodon pubescens* (Benth.) Benth.] *in vitro* e *ex vitro*. Ciência e Agrotecnologia, v.25, n.1, p.38-48, 2001.
 4. Dantas A. C. V. L.; Costa M. A. P. C.; Souza F. V. D.; Santos R. O. S.; Santos L. S. L. In: Santos-Serejo J. A.; Dantas J. L. L.; Sampaio C. V.; Coelho Y. S. (Eds.). Fruticultura Tropical: espécies regionais e exóticas. Embrapa, p. 275-291, 2009.
 5. Ferreira D. F. SISVAR: a computer statistical analysis system. Ciência e Agrotecnologia, v.35, n.6, p.1039- 1042, 2011.
 6. Freire K. C. S.; Machado C. A.; Ledo A. da S.; Oliveira L. F. M. Assepsia e germinação *in vitro* de moringa (*Moringa oleifera* Lam.). Cadernos de graduação, v.8, p.9-19, 2008.
 7. George E. F. Plant propagation by tissue culture. The technology. Edington: Exegetics, 574p. 1996.
 8. Grattapaglia D.; Machado M. A. Micropropagação. In: Torres A. C.; Caldas L. S.; Buso J. A. (Eds.). Cultura de tecidos e transformação genética de plantas. v.1. Brasília: Embrapa Produção de Informação/ Centro Brasileiro Argentino de p.183- 260, 1998.
 9. Ledo A. S.; Vieira G. S. S.; Barboza S. B. S. C.; Silva Junior J. F. Crescimento inicial de mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes) em diferentes meios de germinação *in vitro*. Ciência e Agrotecnologia, v.31, p.989-993, 2007.
 10. Ledo A. da S.; Blank A. F.; Barboza S. B. S. C.; Rangel M. S. A.; Ledo C. A. S. Germinação *in vitro* de embriões zigóticos e sementes de nim indiano (*Azadirachta indica* A. Juss). Revista Brasileira de Plantas Mediciniais, v.10, p.1- 5, 2008.
 11. Maldaner J.; Nicoloso F. T.; Santos E. S. dos; Flores R.; Skrebsky E. C. Sacarose e nitrogênio na multiplicação *in vitro* de *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen. Ciência Rural, Santa Maria, v. 36, n. 4, p. 1201-1206, jul./ago. 2006.
 12. Murashige T.; Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. Physiologia Plantarum, v.15, p.437-497, 1962.
 13. Moraes R. M.; Caldas L. S.; Silveira C. E. S.; Souza A. V.; Bertoni B. W.; Pereira A. M. S. Micropropagação e banco de germoplasma *in vitro* para produção e conservação de plantas nativas do Cerrado. In: Pereira A. M. S. (org). Recursos genéticos e conservação de plantas medicinais do Cerrado. Ribeirão Preto, p. 185-212, 2007.
 14. Nogueira R. C.; Paiva R.; Castro A. H. de.; Vieira C. V.; Abbade L. C.; Alavarenga A. A. Germinação *in vitro* de murici-pequeno (*Byrsonima intermedia* A. Juss.). Ciência e Agrotecnologia, v.28, n 5, p.1053-1059, 2004.
 15. Rocha M. A. C. Morfogênese *in vitro* em jenipapeiro (*Genipa americana* L.). 2006, 66 f. (Dissertação, Mestrado em Ciências Agrárias). Universidade Federal da Bahia, Cruz das Almas, BA.

16. Salomão A. N.; Sousa-Silva J. C. Germinação, análise e armazenamento de sementes. In: Salomão A. N. et al. (Eds) Germinação de sementes e produção de mudas e plantas do Cerrado. Rede de Sementes do Cerrado, p.3-10, 2003.