



Efeito do Ácido Giberélico no Potencial Germinativo in Vitro de Sementes de *Carica quercifolia* (St. Hil.). Hieron. (Caricaceae)

Effect of Gibberellic Acid on Germination Potential in Vitro Seed *Carica quercifolia* (St. Hil.). Hieron. (Caricaceae)

T. Gerber ⁺¹; R. A. Mergener ²; T. T. Pinto ¹, F. Ramlov ¹

¹ Universidade Federal de Santa Catarina; ² Universidade do Oeste de Santa Catarina

⁺ Author for correspondence: gerberthaise@gmail.com

Resumo

O objetivo do trabalho foi avaliar o efeito do ácido giberélico (GA) na germinação de sementes de *C. quercifolia* in vitro. Inicialmente as sementes foram submetidas a um tratamento asséptico com hipoclorito de sódio e álcool 70%, em seguida, submetidas à cinco diferentes tratamentos com ácido giberélico em meio MS (controle, 50, 100, 150 e 200 mg.L⁻¹). Cada tratamento apresentava 12 repetições e 6 sub-repetições. Após a inoculação, as sementes foram mantidas em câmara de germinação com fotoperíodo de 16 horas (50 μmol fótons m⁻² s⁻¹) e temperatura de 26 ± 2°C. O início da germinação foi observado aos 35º dias de cultivo apenas nos tratamentos com 100 e 200 mg.L⁻¹ de GA. Após 42 dias de cultivo, houve baixa taxa de germinação no controle e nas sementes tratadas com GA, não diferindo estatisticamente. Os resultados sugerem que às concentrações de GA utilizadas possivelmente foram baixas, incapazes de induzir a germinação das sementes de *C. quercifolia*.

Palavras-chaves: Germinação; Ácido giberélico; Mamãozinho; Cultivo in vitro de sementes.

Abstract

The aim of study was to evaluate the effect of gibberellic acid (GA) on seed germination of *C. quercifolia* in vitro. Initially, the seeds were subjected to an aseptic treatment with sodium hypochlorite and 70% alcohol, then subjected to five different treatments with gibberellic acid (control, 50, 100, 150 and 200 mg.L⁻¹) and subsequently inoculated on MS medium. Each treatment had 12 replications and six sub-repetitions. After inoculation, seeds were kept in a germination chamber with a photoperiod of 16 hours (50 mol photons m⁻² s⁻¹) and temperature of 26 ± 2 °C. The onset of germination was observed at day 35 of culture only in treatments with 100 and 200 mg L⁻¹ GA. After 42 days of cultivation, there was low germination rate in both control and seeds treated with GA, and there were no statistically differences. The results suggest that the concentrations of GA were used possibly lower, unable to induce the germination *C. quercifolia*.

Keywords: Germination; Gibberellic acid; Small papaya; In vitro culture of seeds.

Introdução

A família das Caricáceas tem o mamoeiro como um dos principais representantes, apresenta características peculiares, como a presença da papaína, muito utilizada na fabricação de geléias, marmeladas, cremes faciais e xampus (Santos, 1970). Pertencente a esta família, a espécie *Carica quercifolia* é uma planta endêmica do planalto catarinense, predominante na mata subtropical das bacias do Rio Paraná e Uruguai, abundante em Santa Catarina como nos Municípios de Chapecó, Descanso, Dionísio Cerqueira, São Miguel d' Oeste, Seara, Xaxim e Campos Novos (Livramento & Zoldan, 1996; Santos, 1970). Suas árvores são de pequeno porte, medindo de cinco a dez metros de altura e diâmetro de vinte a trinta centímetros, com tronco tortuoso, sensivelmente alargado na base e estreito para o ápice, apresenta casca cinzento-clara, com a presença de um látex branco e fluído, o tronco é ramificado e marcado por cicatrizes foliares (Badillo, 1993). A época de floração e frutificação é de outubro a janeiro (Santos, 1970). O fruto é baciforme quase piriforme, quando imaturos são verde-estriados e quando maduros alaranjados, apresentando muitas sementes tuberculadas (Santos, 1970). A espécie é encontrada em locais de solos úmidos, pleno sol, desenvolvendo-se na beira de capões, matas e roças abandonadas. Tratando-se de uma espécie nativa da região oeste catarinense apresenta um potencial ornamental e frutífero, representando uma nova fonte de renda local e propiciando a criação de novos empregos no campo (Stumpf et al., 2004).

A propagação de mamão pode ocorrer por meio de estacas, sementes e enxertia, sendo o uso das sementes o método mais utilizado (Borges, 2002). Em cultivos naturais, fatores como a dormência das sementes e doenças nas plantas limitam bastante o desenvolvimento do mamoeiro (Borges, 2006). A dormência de sementes pode impedir a germinação devido à presença de hormônios inibidores, ausência de hormônios promotores, presença de tecidos extra-embriônicos impermeáveis a

água, imaturidade do embrião além de outros fatores (Antonio et al., 1985; Bewley & Black, 1994; Hilhorst, 1995).

Para contornar o problema da baixa germinação, a técnica de cultura de tecidos pode ser uma importante ferramenta para produção de um grande número de plantas com alta qualidade em um curto espaço de tempo (Fráguas et al., 2009). Para o sucesso da micropropagação é necessária a escolha dos reguladores de crescimento naturais ou sintéticos apropriados, de forma a controlarem o padrão de desenvolvimento "in vitro". A germinação *in vitro* de sementes de *Carica papaya* apresentaram bons resultados, através da imersão das sementes em soluções de ácido giberélico, principalmente em uma concentração de 200 ppm (Bhattacharya et al., 2001). O uso de giberelinas durante a germinação pode melhorar o desempenho de sementes de várias espécies, principalmente sob condições adversas (Cunha & Casali, 1989; Bevilaqua et al., 1993;) desempenhando um papel chave na germinação, envolvendo-se tanto na superação da dormência como no controle de hidrólise das reservas, pela indução da síntese da α -amilase, enzima responsável pela hidrólise do amido. O ácido giberélico, considerado ativador enzimático endógeno, promove a germinação (Levitt, 1974), e a aplicação exógena deste promotor influencia o metabolismo protéico, podendo dobrar a taxa de síntese de proteínas das sementes (Mc Donald & Khan, 1983).

Deste modo, este trabalho teve por objetivo avaliar o efeito do ácido giberélico no potencial germinativo de *Carica quercifolia in vitro*.

Métodos

Frutos de *Carica quercifolia* contendo as sementes foram coletados no município de Zórtea e Campos Novos em janeiro de 2010. A extração das sementes e retirada da polpa ao entorno das mesmas, foram feitos através de sucessivas lavagens em água corrente. Após a limpeza inicial, as sementes foram secas a temperatura ambiente e armazenada em

geladeira por um período de 15 dias, até a inoculação.

As sementes foram imersas em hipoclorito de sódio 70% por 15 minutos e posteriormente em álcool 70% durante 2 minutos. Em seguida, foram lavadas 3x sucessivas em água destilada deionizada e autoclavada, estando aptas para inoculação.

Após o tratamento asséptico, as sementes foram imersas em soluções contendo 0 (controle), 50, 100, 150 e 200 mg.L⁻¹ de ácido giberélico (GA). As sementes foram inoculadas em meio de cultura MS (MURASHIGE; SKOOG 1962), suplementado com 30g L⁻¹ de sacarose, 7 g L⁻¹ de ágar e pH ajustado em 5,8. Após a inoculação das sementes, os frascos foram vedados e mantidos em câmara de germinação com temperatura de 26±2°C e fotoperíodo de 16 horas (50 μ mol fótons m⁻² s⁻¹). Cada tratamento foi constituído de 12 repetições e seis subrepetições.

Foram avaliados os percentuais de germinação das sementes inoculadas aos 7°, 14°, 21°, 28°, 35° e 42° dias após a inoculação.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, e o parâmetro avaliado foi porcentagem de germinação (PG), sendo que os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) fatorial, seguido do teste de comparação múltipla de Tukey. As análises foram feitas considerando um intervalo de confiança de 95% e nível de significância de 5% (p<0,05). As análises de variância foram realizadas no programa STATISTICA 7.0 (StatSoft, Inc.).

Resultados e discussão

O início da germinação de sementes de *C. quercifolia* foi observado aos 35 dias de inoculação, apenas nos tratamentos com 100 e 200 mg.L⁻¹ de ácido giberélico. Por conta da baixa germinação, as sementes permaneceram por mais 7 dias sob tratamento e mesmo assim não apresentaram aumento na germinação, e ao final dos 42 dias de inoculação a porcentagem de

germinação nos tratamentos com maiores concentrações de GA foi inferior a 10%, sendo de 4,00 ± 7,23% para 100 mg.L⁻¹ de GA e de 2,66 ± 6,22% para 200 mg.L⁻¹ de GA, não ocorrendo diferença estatística nos resultados das duas concentrações de hormônio (Figura 1).

Este baixo e lento comportamento germinativo *in vitro* foi observado por Bhattacharya & Khuspe, (2001), que testando sementes de *Carica papaya* observaram o início da germinação aos 40° dias de cultivo. Da mesma forma, Althoff & Carmona, (1999) observaram a germinação aos 45° dias. Em virtude do tempo necessário para germinação, as sementes de mamão são classificadas como lentas e irregulares segundo Yahiro, (1979). Esse baixo percentual também foi observado por Vigiano et al. (2000), que utilizando *C. papaya* obtiveram percentuais entre 9% e 20% de germinação, indicando possivelmente uma dormência pós-colheita, que pode ser ocasionada por um balanço hormonal desfavorável entre promotores, como as giberelinas (GA) e inibidores da germinação como o ácido abscísico (Bewley & Black, 1994).

Os baixos percentuais germinativos do presente estudo podem estar associados à baixa concentração do ácido giberélico, em trabalhos semelhantes com sementes de *C. papaya*, Tokuhisa et al. (2007) e Salomão & Mundim, (2000) obtiveram êxito utilizando concentrações de 600 e 1000 mg.L⁻¹ respectivamente. Há controvérsias de quais quantidades de GA₃ utilizar, para Fráguas et al. (2009) as sementes mais jovens, apresentam níveis endógenos maiores de GA₃, de forma que a aplicação exógena de altas concentrações de GA₃ (1000 mg.L⁻¹) pode afetar no processo de germinação. A semente do mamoeiro é composta por duas membranas, uma mais interna, chamada de esclerotesta e outra externa, chamada de sarcotesta (Lopes, 2009). Com uma consistência gelatinosa, a sarcotesta protege a semente (Marin et al., 1987) e, sua presença, leva a uma

germinação lenta e desuniforme (Vasquez, 1969; Tokuhisa et al., 2007).

Mesmo com a remoção deste tegumento, através de sucessivas lavagens, as sementes ainda podem conter resquícios da tal mucilagem impedindo a germinação. Essa situação foi documentada por Althoff & Carmona, (1999) que propõem a escarificação mecânica para retirada total da sarcotesta.

O caráter inibidor da sarcotesta esta relacionado a substâncias inibidoras presentes na mesma. Embora tais substâncias inibidoras não sejam totalmente identificadas pelos pesquisadores, atribui-se a elas, a regulação e controle da germinação (Lange, 1961; Lopes et al., 2009), além disso esta mucilagem pode atuar como barreira mecânica para entrada de água na semente.

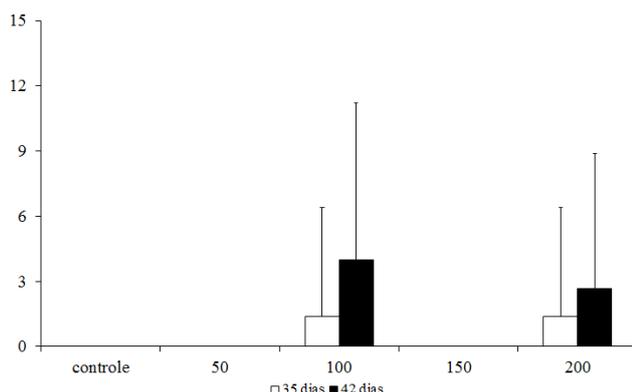


Figura 1. Porcentagem média de germinação de sementes inoculadas em meio MS de cultura de *Carica quercifolia* (St. Hil.). Hieron. (Caricaceae) após tratamentos em diferentes concentrações de ácido giberélico.

Além da baixa germinação, 60% das sementes inoculadas apresentaram agentes contaminantes. A presença de fungos e de bactérias durante a germinação de sementes de *C. papaya* também foi observada por Marana et al. (2009), que também utilizaram hipoclorito de sódio e álcool 70%, obtendo um percentual de 40% de contaminação. Para Winnaar, (1988), soluções germicidas a base de hipoclorito de sódio por 10 a 20

minutos resultaram em apenas 29% de contaminação por fungos, resultado considerado satisfatório pelo autor. Schmildt & Amaral, (2002) comentam que, desinfetantes superficiais como o álcool e hipoclorito de sódio 70% podem controlar de certa forma os fungos, mas não bactérias.

Segundo Borges et al. (2006) a escarificação química de sementes de *C. papaya* em 10 minutos de imersão em ácido sulfúrico 1%, 10 minutos em álcool 70% mais 23 gotas de Tween 80, 20 minutos em hipoclorito de cálcio 20%, cinco lavagens consecutivas em água estéril e armazenagem por 19 dias em freezer, apresentou um percentual baixo de contaminação (20,7%), os autores ainda comentam que a substituição do hipoclorito de sódio por hipoclorito de cálcio favorece a descontaminação, corroborando com Grattapaglia & Machado, (1991), que afirmam que o hipoclorito de cálcio tem a vantagem de ser menos tóxico aos tecidos do que o hipoclorito de sódio.

Analisando os resultados do presente artigo, percebe-se que o método de assepsia não foi eficaz, e a presença de contaminantes como fungos, pode reduzir a germinação ou servir como fonte de inóculo para doenças (Machado, 1988), assim, a baixa concentração de ácido giberélico e o alto índice de contaminação impediram um melhor desempenho germinativo de sementes de *Carica quercifolia*.

Conclusão

As concentrações de GA₃, utilizadas no presente trabalho não apresentaram efeitos positivos na germinação de sementes de *Carica quercifolia*.

A assepsia utilizada não foi satisfatória para eliminação de agentes contaminantes.

Referências

ALTHOFF, M. A.; CARMONA, R. Conservação de sementes de mamão

- (*Carica papaya* L.- CARICACEAE). **Revista Brasileira de Sementes** 21:151-156, 1999.
- ANTÔNIO, F. G.; PENTEADO, M. I. O.; SEIFFERT, N. F. Recomendações para quebra de dormência em sementes de *Galactia spp.* Campo Grande: EMBRAPA, CNPGC, **Comunicado Técnico** 29, 1985.
- BADILLO, V. M. Caricaceae: segundo esquema. Review Facultad de Agronomía, **Maracay** 43: 1-111, 1993.
- BEVILAQUA, G. A. P.; PESKE, S.T.; SANTOS-FILHO, B. G. Desempenho de sementes de arroz irrigado tratadas com regulador de crescimento. I. Efeito na emergência a campo. **Revista Brasileira de Sementes** 15: 75-80, 1993.
- BEWLEY, J. D.; BLACK, M. Seeds: **Physiology of development and germination**. 2 ed. New York: Plenum Press, 445 p. 1994.
- BHATTACHARYA, J.; KHUSPE, S. S. In vitro and in vivo germination of papaya (*Carica papaya* L.) seeds. **Scientia Horticulturae** 91: 39-49, 2001.
- BORGES, N. S. S. Respostas Morfogenéticas em Tomateiro e mamoeiro cultivadas *in vitro*. 68f. (**Dissertação de mestrado**) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, Brasil, 2002.
- BORGES, N. S. S.; BENBADIS, A. K.; MARCO, C. A.; SOMBRA, J. N. S. Avaliação da descontaminação, germinação e respostas morfogénicas do mamão cultivado *in vitro* (*Carica papaya* L.). **Revista Ciência Agrônômica** 37: 308-313, 2006.
- CUNHA, R.; CASALI, W. D. Efeito de substâncias reguladoras de crescimento sobre a germinação de sementes de alface (*Lactuca sativa* L.). **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal** 1:121-132, 1989.
- FRÁGUAS, C. B.; PEREIRA, A. R.; RODRIGUES, V. A.; FERREIRA, E. A.; PASQUAL, M.
- Propagação in vitro de espécies ornamentais**. 2009.
- GRATTAPAGLIA, D.; CALDAS, L. S.; SILVA, J. R.; MACHADO, M. A. Cultura de Tecidos de Maracujá. In: SÃO JOSÉ, A. R.; FERREIRA, F. R.; VAZ, R. L., **A cultura do maracujá no Brasil**. Jaboticabal: FUNEP, 61-77 p. 1991.
- HILHORST, H. W. M. A critical update on seed dormancy: Primary dormancy. **Seed Science Research**, Wallingford 5:61-73, 1995.
- LANGE, A. H., Effect of the sarcotesta on germination of *Carica Papaya*. *Botanical Gazette, Chicago* 122: 305-311, 1961.
- LEVITT, J. **Introduction to plant physiology**. 2.ed. Saint Louis: The C.V. Mosby Company. 447p. 1974.
- LIVRAMENTO, G; ZOLDAN, S. R. Plantas Nativas do Planalto Catarinense com Potencial Ornamental - Resultados Preliminares. Florianópolis: **Epagri**. (Epagri documentos, n. 227), 23 p. 2006.
- LOPES, A. W. P.; SELEGUINI, A.; BOLIANI, A. C.; CÔRREA, L. Z. Estádio de maturação do fruto e uso do ácido Giberélico na germinação de sementes de mamoeiro. **Revista Agropecuária Tropical** 30: 278-284, 2009.
- MACHADO, J.C. **Patologia de sementes fundamentos e aplicações**. Brasília: MEC / ESAL / FAEPE, 106 p.1988.
- MARANA, J. P. MIGLIORANZA, E. FARIA, R. T. Estabelecimento in vitro de *Jacaratia spinosa* (Aubl .) ADC. **Ciências Agrárias: Londrina** 30: 271-274, 2009.
- MARIN, S. L. D.; GOMES, J. A.; SALGADO, J. S. Recomendação para a cultura do mamoeiro cv. **Solo do Estado do Espírito Santo**. 3 ed., Vitória, 64 p. 1987.
- McDONALD, M. D.; KHAN, A. A. Acid scarification and protein synthesis during

seed germination. **Agronomy Journal**, Alexandria 2: 111- 114, 1983.

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

SALOMÃO, A. N.; MUNDIM, R. C. Germination of papaya seed in response to desiccation, exposure to subzero temperatures, and gibberellic acid. **Hort. Science** 35: 904- 906, 2000.

SANTOS, E. Caricáceas. Itajaí, SC 1970: In: REITZ, Flora Ilustrada Catarinense. **Fascículo CARIC**, 22 p. 1970.

SCHMILDT, E. R.; AMARAL, J. A. T. Contaminação e Reação Morfogênica *in vitro* de Explantes de Mamoeiro. **Revista Ceres** 49:63-70, 2002.

STUMPF, E. R. T; FISCHER, S. Z; HEIDEN, G. Uso ornamental da flora nativa do Rio Grande do Sul. In: FÓRUM LATINO AMERICANO DE PLANTAS ORNAMENTAIS, 1., 2004, Nova Petrópolis, RS. **Caderno de resumos**, Nova Petrópolis, RS: Aflori, p. 83-84, 2004.

TOKUHISA, D. DIAS, D. C. F. S. ALVARENGA, E. M. DIAS, L. A. S. MARIN, S. L. D. Tratamentos para Superação da Dormência em Sementes de Mamão. **Revista Brasileira de Sementes**, Viçosa 29: 131-139, 2007.

VASQUEZ, R.M. Efecto de diversos tratamientos aplicados a la semilla de papaya, sobre su poder germinativo. **Agricultura Tecnica en México** 2: 487-91, 1969.

VIGGIANO, J. R.; SILVA, R.F.; VIEIRA, H. D. Ocorrência de dormência em sementes de mamão (*Carica papaya* L.). **Sementes Online**, Pelotas 1:6-10, 2000.

WINNAAR, W. Clonal propagation of papaya *in vitro*. **Plant Cell Tissue and Organ Culture**, v. 12, n. 3, p. 305-310, 1988.

YAHIRO, M. Effects of pré-treatments on the promotion of germination in papaya, *Carica papaya* L. Memorial Faculty Agriculture Kagoshima University, **Kagoshima** 15: 49-54, 1979.