

GERMINAÇÃO *IN VITRO* DE MANGABEIRA (*Hancornia speciosa* Gomez) EM DIFERENTES MEIOS DE CULTURA¹

CARLOS SIZENANDO ROSSITER PINHEIRO²; DELANDO NASÁRIO DE MEDEIROS²; CRISTIANE ELIZABETH COSTA DE MACÊDO³ & MAGDY AHMED IBRAHIM ALLOUFA⁴

RESUMO - Estudos de meios de cultura que facilitem a germinação de sementes recalcitrantes são de grande importância para a fruticultura. A mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomez) é uma fruteira nativa da região Nordeste do Brasil. Sua propagação por métodos tradicionais é dificultada pelo fato de suas sementes serem recalcitrantes e a polpa do fruto ter uma ação inibitória sobre a germinação das sementes. Na tentativa de maximizar a percentagem de germinação *in vitro* desta espécie, foi testada a influência da sacarose (0; 10; 30; 60 e 90 g/L), do ácido giberélico (0; 0.1; 0.3 e 0.5 mg/L) e de diferentes meios de germinação (água destilada, água de coco; MS sólido e MS líquido). Também foi testado o efeito da escarificação (sementes com ou sem tegumento). As sementes obtidas de frutos maduros foram escarificadas ou não, e inoculadas em meios contendo os diferentes tratamentos. A taxa de germinação foi calculada trinta dias após a inoculação das sementes. Sementes sem tegumento obtiveram maior percentagem de germinação em todos os meios de cultura estudados, sendo que a maior percentagem foi obtida no tratamento MS líquido. A adição de sacarose tanto em meio MS sólido quanto em MS líquido não favorece a germinação e pode prejudicar em concentrações iguais ou maiores que 20g/L. A maior percentagem de sementes germinadas em MS suplementado com GA₃, tanto em meio líquido como em meio sólido, ocorreu na concentração de 0,1 mg/L. Maiores taxas de germinação *in vitro* de sementes de mangabeira podem ser obtidas através da retirada do seu tegumento e posterior inoculação em meio MS líquido suplementado com 0,1 mg/L GA₃.

Termos de indexação: *Hancornia speciosa* Gomez, propagação, sementes

IN VITRO GERMINATION OF MANGABEIRA (*Hancornia speciosa* Gomez) IN DIFFERENTS CULTURA MEDIA

ABSTRACT - Culture media studies that facilitate recalcitrant seed germination are very important to the fruit crops. Mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomez) is a native specie from Brazilian Northeast. Its propagation by traditional methods is difficult because its seeds are recalcitrant and the fruit pulp has an inhibitory effect on seed germination. Trying to maximize its *in vitro* germination percentage, it was tested the influence of sucrose (0; 10; 30; 60 e 90 g/L), giberelic acid (0; 0.1; 0.3 e 0.5 mg/L), and different culture media (distilled water, coconut water, solid MS and liquid MS). It was also tested the scarification effects (seeds with or without tegument). The seeds obtained from mature fruits were scarified or not and inoculated in media containing different treatments. The germination rate was calculated 30 days after the seed inoculation. Seeds without tegument obtained higher germination percentage in all studied culture media being the highest one obtained from MS liquid treatment. The exclusion of sucrose favored the germination in MS solid medium as well in MS liquid. The highest seed germination percentage in MS supplemented with giberelic acid, in both MS solid and MS liquid media, occurred at 0.1 mg/L concentration. The highest *in vitro* germination rates were obtained upon removal of the seed tegument and posterior inoculation in MS liquid medium supplemented by 0.1 mg/L of giberelic acid.

Index terms: *Hancornia speciosa* Gomez, propagation, seeds

O fruto da mangabeira é muito apreciado no Nordeste, apresenta boa digestibilidade e valor nutritivo, com teor de proteína (1,3 a 3,0%) superior ao da maioria das frutíferas. O recente desenvolvimento do mercado de frutas tropicais no Brasil despertou o comércio de polpas congeladas para a produção de sucos, sorvetes, licores, etc. No Nordeste, onde é explorada de forma extrativista, esta espécie vem sofrendo acelerado processo de erosão genética em razão da expansão imobiliária na baixada

litorânea e da monocultura da cana-de-açúcar nos tabuleiros. Adicionalmente, sua propagação por métodos tradicionais é dificultada pelo fato de suas sementes serem recalcitrantes e a polpa do fruto ter uma ação inibitória sobre a germinação das sementes (Gricoletto, 1997). Estudos de meios de cultura que favoreçam a germinação *in vitro* desta espécie são importantes tanto para maximizar a taxa de germinação, como para obter plântulas com qualidade genética e fitossanitária adequada.

¹ Trabalho nº 120/2000. Recebido: 03/07/2000. Aceito para publicação: 26/03/2001.

² Professor Ms. da Universidade Federal do Rio Grande do Norte/UFRN. Departamento de Biologia e Genética, Centro de Biociências – Natal/RN

³ Professora Dra. da Universidade Federal do Rio Grande do Norte/UFRN. Departamento de Botânica, Ecologia e Zoologia, Centro de Biociências, CX. Postal 1581, CEP 59.000 – Natal/RN. e-mail criseli@cb.ufrn.br ou cristianemacedo.costa@bol.com.br

⁴ Professor Adjunto IV Dr. da Universidade Federal do Rio Grande do Norte/UFRN. Departamento de Botânica, Ecologia e Zoologia, Centro de Biociências, CX. Postal 1581, CEP 59.000 – Natal/RN.

Alguns estudos realizados *in vivo*, independentemente da espécie, mostram que o suprimento adequado em água, composição de gases e temperatura convenientes, assim como a luz, é requisitos fundamentais para a germinação (Toledo & Marcos Filho, 1977; Mayer & Poljakoff-Mayber, 1982; Bewley, 1984; Borges & Rena, 1993). Outros apontam que o tratamento de sementes com giberelinas e citocininas pode promover a germinação (Melo *et al.*, 1979). No caso da mangabeira, as mais altas e rápidas taxas de germinação de sementes em campo ocorreram em ambiente de pleno sol e sementes na superfície (Fonseca *et al.*, 1994), embora a porcentagem de germinação desta espécie seja normalmente baixa (Lorenzi, 1992). Como o número de trabalhos publicados no que se refere à germinação de sementes de mangaba *in vitro* é bastante reduzido e dada a sua importância econômica, este estudo relata a influência de diferentes meios de cultura na germinação *in vitro* de sementes desta espécie.

As sementes de mangabeira foram retiradas de frutos coletados a partir de plantas matrizes vigorosas previamente selecionadas, marcadas e mapeadas.

As sementes foram extraídas após a maceração e despulpamento dos frutos maduros sobre peneiras; em seguida, foram lavadas em água corrente e imersas em uma solução de hipoclorito de sódio (2,5% de cloro ativo) durante 10 minutos. Este tratamento permitiu uma maior facilidade na retirada da polpa do fruto que é de consistência pegajosa devido à presença do látex. As sementes foram, mais uma vez, lavadas em água para remover inibidores de germinação que pudessem existir na polpa. Posteriormente, foram colocadas para secar a sombra, sobre papel de filtro, em local ventilado. Para estudar a influência de diferentes meios de cultura, da sacarose e do ácido giberélico na germinação *in vitro*, foram constituídos três grupos experimentais. No grupo experimental I, das 640 sementes utilizadas, 320 foram escarificadas mecanicamente para a remoção do tegumento, e 320 permaneceram intactas. A seguir, todas as 640 sementes foram desinfestadas superficialmente, utilizando etanol 70% (p/v) e hipoclorito de sódio 10%. O excesso do agente desinfestante foi retirado com lavagens em água destilada estéril. As sementes com e sem tegumento foram inoculadas em meio MS líquido, MS sólido, água de coco e água destilada. No grupo experimental II, 600 sementes sem tegumento foram inoculadas em meio MS líquido e MS sólido suplementado com diferentes concentrações em sacarose (0,0; 10; 30; 60 e 90 g/L). No grupo experimental III, 480 sementes destituídas de tegumento foram inoculadas em MS sólido e líquido, suplementados com 0,0; 0,1; 0,3 e 0,5 mg/L de ácido giberélico (GA₃). O meio MS continha sais minerais MS (Murashige & Skoog, 1962) e mistura orgânica de White (White, 1951), sendo solidificado com ágar (6g/L). O pH do meio foi ajustado para 5,7 antes da autoclavagem. Os frascos contendo as sementes foram incubados a 24°C ±1 sob 16/8 horas de luz e escuro. Todos os meios foram distribuídos em frascos de vidro medindo 8,5 cm de altura e 5,0 cm de diâmetro, a uma razão de 50 ml por frasco. Os frascos foram então autoclavados durante 20 minutos a 127°C. Após o resfriamento, foram inoculadas 4 sementes em cada frasco que, em seguida, foram vedados com tampas plásticas. A taxa de germinação foi calculada trinta dias após a inoculação das sementes, nos diferentes tratamentos, utilizando a seguinte fórmula: $TG = NTSG * 100 / NTSI$ onde ; TG = Taxa de germinação, NTSG = Número total de sementes

germinadas e NTSI = Número total de sementes inoculadas. O experimento foi conduzido em blocos ao acaso. Os resultados obtidos foram analisados estatisticamente através da análise de variância, onde os dados de germinação (em porcentagem) foram convertidos em valores angulares, determinando-se a diferença mínima significativa (DMS) pelo teste de Turkey, ao nível de 5 % de probabilidade, de acordo com Snedecor & Cochran, 1967. Nos gráficos, letras diferentes entre os tratamentos mostram diferenças significativas.

A maior porcentagem de germinação foi obtida com sementes sem tegumento, inoculadas em MS líquido (Figura 1). No entanto, não houve diferenças significativas entre os meios MS líquido e o MS sólido. As elevadas taxas de germinação obtidas nos 2 meios, em relação aos demais (água de coco e água destilada), podem ser justificadas pelo fato de existir no meio MS uma maior disponibilidade em macro, micronutrientes, vitaminas e aminoácidos necessários ao processo de germinação. De acordo com Lorenzi (1992), normalmente, a porcentagem de germinação de sementes de mangaba é baixa devido não só à presença de inibidores na polpa como também ao fato de as sementes de mangaba serem recalcitrantes. Neste estudo, taxas de germinação acima de 90 % foram obtidas (Figura 1); provavelmente, isto se deve à remoção da polpa do fruto e à rápida inoculação das sementes realizada logo após a colheita dos frutos, evitando, possivelmente, a perda d'água e mantendo e a viabilidade da semente. Trabalhos realizados anteriormente por Parente & Machado (1986) reforçam que a remoção da polpa aumenta a porcentagem de germinação.

Na ausência (controle) e na presença de 10 g/L de sacarose, observaram-se as maiores taxas de germinação. Nas concentrações acima desta faixa, ocorre uma redução na porcentagem de sementes germinadas tanto em meio sólido quanto em meio líquido (Figura 2). Tais constatações, provavelmente, se devam ao fato de que a semente já possua em sua reserva nutritiva um teor de sacarose que lhe permita a emergência da plúmula e da radícula; adicionalmente, o excesso de sacarose colocado no meio extracelular pode ter provocado uma maior perda de água devido à pressão osmótica exercida sobre a semente (Torres, A. C. comunicação pessoal). Estudos realizados *in vivo*, independentemente da espécie, mostram que o suprimento adequado em água, composição de gases e temperatura convenientes, assim como a luz, são requisitos fundamentais para a germinação (Toledo & Marcos Filho, 1977; Mayer & Poljakoff-Mayber, 1982; Bewley, 1984; Borges & Rena, 1993). Neste estudo, os frascos contendo as sementes foram incubados a 24°C ±1, ou seja, dentro da faixa ótima de temperatura (entre 20 e 30°C) de germinação de sementes de mangaba, segundo Oliveira (1989), e sob 16/8 horas de luz e escuro, não interferindo, portanto, na germinação, uma vez que as sementes de *H. speciosa* são indiferentes à luz (Oliveira, 1989).

De acordo com Melo *et al.* (1979), tratamento de sementes com giberelinas e citocininas pode promover a germinação. Neste estudo, observou-se que a adição de 0.1 mg/L de ácido giberélico (GA₃), tanto em meio MS líquido quanto em meio sólido, favoreceu a germinação de sementes. No entanto, concentrações iguais ou superiores a 0.3 mg/L de cultura provocaram uma diminuição na porcentagem de sementes germinadas (Figura 3). Provavelmente, as sementes de mangabeira necessitem de uma quantidade mínima de hormônio

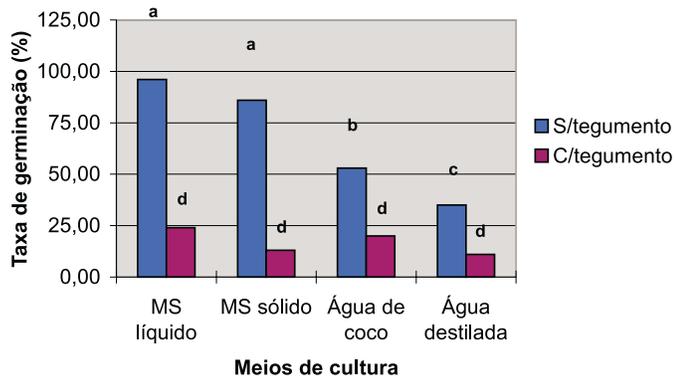


FIGURA 1 - Percentagem de germinação de sementes de mangaba com ou sem tegumento após 30 dias de inoculação em diferentes meios de germinação.

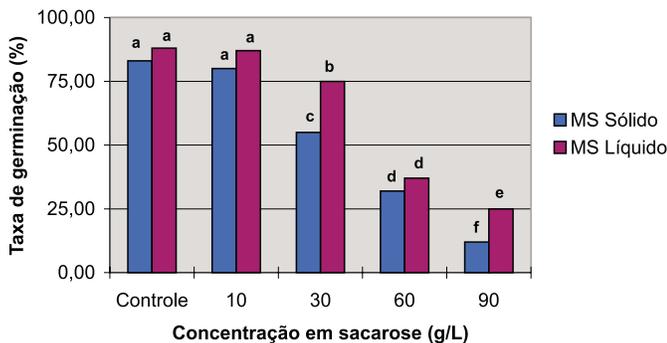


FIGURA 2 - Percentagem de germinação de sementes de mangaba após 30 dias de inoculação em meio MS líquido e sólido contendo diferentes concentrações de sacarose (g/L).

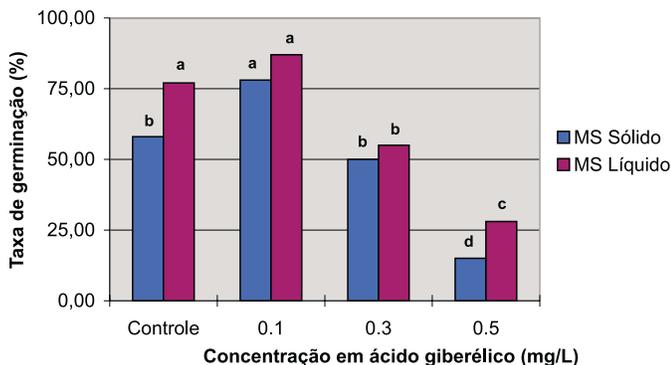


FIGURA 3 - Percentagem de germinação de sementes de mangaba após 30 dias de inoculação em meio MS líquido e sólido contendo diferentes concentrações de ácido giberélico (GA_3) (mg/L).

para estimular a germinação, sendo o seu excesso inibidor e, eventualmente, tóxico; pois, fisiologicamente, os hormônios podem estar relacionados com o desenvolvimento das sementes ou podem estar sendo acumulados para a sua subsequente participação no controle da germinação e crescimento da plântula (Bewley & Black, 1983).

Nas condições em que foram realizados estes experimentos, pode-se concluir que:

1. A escarificação, ou seja, a retirada do tegumento, favorece a germinação de sementes de mangaba.
2. A adição de sacarose no meio de cultura não favorece a germinação de sementes de mangaba.
3. O tratamento de sementes de mangaba com 0,1 mg/L de ácido giberélico favorece a germinação.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e à Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-graduação da Universidade Federal do Rio Grande do Norte (PPPG) pelo financiamento do projeto que permitiu a realização deste trabalho.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BEWLEY. **Seeds: physiology of development and germination**. 2.ed. New York: Plenum Press, 1984. 140p.
- BEWLEY, J. D.; BLACK, M. **Physiology and biochemistry of seeds in relation to germination: development, germination and growth**. Berlin. Springer-Verlag, 1983. 306p.
- BORGES, C.; RENA, A. B. Germinação de sementes. In: AGUIAR, I. B.; PIÑA-RODRIGUES, F. C. M.; FIGLIOLIA, M. B. (Coord.) **Sementes florestais tropicais**. Brasília: Associação Brasileira de Tecnologia de Sementes, 1993. p.88-135.
- FONSECA, C. E.; CONDÉ, R. D. E-C; SILVA, J. A. Influência da profundidade de semeadura e da luminosidade na germinação de sementes de mangaba (*Hancornia speciosa* GOMEZ). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 29, n. 4, p. 661-666, 1994.
- GRIGOLETTO, E. R. Micropropagação de *Hancornia speciosa* Gomez (Mangabeira). 1997. 76f. Dissertação (Mestrado em Biologia Vegetal) - Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Estadual de Brasília, Brasília, 1997.
- LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. Nova Odessa, SP: Plantarum, 1992. 352p.
- MAYER, A. M.; POLJAKOFF-MAYBER, A. **The germination of seeds**. 3. ed. New York: Pergamon, 1982. 211p.
- MELO, J. T.; RIBEIRO, J. F.; LIMA, V. L. G. F. Germinação de sementes de algumas espécies arbóreas nativas do Cerrado. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.1, p.8-12, 1979.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.15, p.473-479, 1962.

OLIVEIRA, L. M. Q. Germinação das sementes de *Hancornia speciosa* Gomez com ênfase nos teores de umidade. 1989. 126p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas - SP, 1989.

PARENTE, T. V.; MACHADO, J. W. B. Germinação de sementes de mangaba (*Hancornia pubescens* Nees et Mart.) provenientes de frutos colhidos com diferentes graus de maturação. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 8, p. 39 - 43, 1989.

SNEDECOR, G. W.; COCHRAN, W. G. **Statistical methods**. Iowa. Iowa State University Pr. 1967. 593p.

TOLEDO, F. F.; MARCOS FILHO, J. **Manual de sementes: tecnologia da produção**. São Paulo: Ceres, 1977. 224p.

TORRES, A. C. - Curso Teórico e Prático de Cultura de Tecidos e Biologia Molecular. Natal. Departamento de Botânica, Ecologia e Zoologia da Universidade Federal do Rio Grande do Norte. 05-03-1999 a 9-03-1999.

WHITE, P. R. Nutritional requirements of isolated plant tissues and organs. **Annual Review of Plant Physiology**, v. 2, p. 231-244, 1951.