

# Estabelecimento *in vitro* de *Jacaratia spinosa* (Aubl.) ADC

## In vitro establishment of *Jacaratia spinosa* (Aubl.) ADC

João Paulo Marana<sup>1\*</sup>; Édison Miglioranza<sup>2</sup>; Ricardo Tadeu de Faria<sup>2</sup>

### Resumo

Com o objetivo de desenvolver um protocolo para o estabelecimento *in vitro* de *Jacaratia spinosa* a partir de diferentes concentrações de 6-benzilaminopurina (6-BA), foram utilizados como explantes, ápices caulinares de plantas provenientes do campo, desinfestados com solução de Saniagri® 33% v/v, durante 15 minutos e posteriormente pulverizados com uma solução de hipoclorito de sódio 1% v/v. O meio utilizado foi o Murashige e Skoog com a concentração de sacarose reduzida para 5g L<sup>-1</sup>. As concentrações de 6-BA foram: 0,0 mg L<sup>-1</sup>, 0,5 mg L<sup>-1</sup>, 1,0 mg L<sup>-1</sup>, 1,5 mg L<sup>-1</sup>, 2,0 mg L<sup>-1</sup>. O delineamento experimental usado foi o inteiramente casualizado, com 10 ápices por concentração de 6-BA. As avaliações visuais das frequências de sobrevivência dos ápices e número de brotações laterais foram feitas semanalmente, por 90 dias, sendo os resultados em porcentagem submetidos à análise regressão e ao teste do Qui-quadrado para várias proporções a 1% de significância. A porcentagem de descontaminação variou entre 60% e 80%. A curva de regressão sugere que a concentração zero apresentou sobrevivência superior às demais, porém o teste do Qui-quadrado mostra que as frequências variaram de 41,7% até 58,3%, não havendo diferença estatística entre as concentrações de 6-BA. Não foi observada durante os 90 dias, a emissão de brotações laterais nos explantes, sendo necessários novos estudos com outras concentrações de fitoreguladores.

**Palavras-chave:** Caricaceae, ápice caulinar, cultura de tecidos

### Abstract

The experiment had the objective of developing a protocol for the *in vitro* establishment of *Jacaratia spinosa* in different concentrations of 6-benzylamino purine (6-BA). The explants were, caulinar apexes of plants proceeding from the field, disinfested with solution of Saniagri® 33% v/v, during 15 minutes and later sprayed with a solution of sodium hypochlorite 1% v/v. The Murashige and Skoog medium was used with the concentration of sucrose reduced for 5g L<sup>-1</sup>. The 6-BA concentrations had been: (T1) 0,0 mg L<sup>-1</sup>, (T2) 0,5 mg L<sup>-1</sup>, (T3) 1,0 mg L<sup>-1</sup>, (T4) 1,5 mg L<sup>-1</sup>, (T5) 2,0 mg L<sup>-1</sup>. The experiment was installed in a completely randomized design, with 10 apexes per treatment. The visual evaluations of the frequencies of survival of the apexes and number of lateral shoots, had weekly been made, per 90 days, and the results in percentage were submitted to the regression analysis and test of the Qui-square. The decontamination percentage varied between 60% and 80%. The frequencies of survival of the apexes had varied from 41.7% up to 58.3%, however with no statistical differences among the treatments. It was not observed the emission of lateral shoots in the used treatments, during the 90 days, but new studies are necessary with other concentrations of phyto regulators.

**Key words:** Caricaceae, caulinar apex, tissue culture

<sup>1</sup> Doutorando em Agronomia da Universidade Estadual de Londrina, UEL. Departamento de Agronomia. E-mail: joaopaulomarana@yahoo.com.br.

<sup>2</sup> Departamento de Agronomia. Universidade Estadual de Londrina. Londrina, PR, Brasil.

\* Autor para correspondência

## Introdução

*Jacaratia spinosa* (Aubl.) A. DC., conhecida como jaracatiá é uma espécie arbórea, dióica, da família Caricaceae, característica da América tropical e subtropical (HATSCHBACH, 1982). Ocorre no Brasil desde o sul da Bahia até o Rio Grande do Sul, passando por Minas Gerais, Goiás e Mato Grosso do Sul (LORENZI, 2002). É uma planta importante nas cadeias tróficas pela produção de frutos comestíveis (PAOLI, 1986) e apresenta potencial para cultivo, possibilitando a exploração do caule, frutos verdes e maduros e do látex. Encontra-se em risco de extinção no Paraná (HATSCHBACH; ZILLER, 1995), devido, provavelmente, ao fato da indústria de doces caseiros usar partes do seu caule em substituição à polpa do fruto de coco.

Devido ao elevado nível de fertilidade dos solos da região norte do Paraná, bem como ao relevo favorável a agricultura, o jaracatiá teve, a partir do início de sua exploração, há cerca de setenta anos, sua cobertura natural quase totalmente removida. A vegetação remanescente ficou fragmentada em pequenas áreas, em propriedades particulares, sujeitas a perturbações de diversas naturezas, sendo estas os últimos representantes da biodiversidade nativa da mata subtropical da região.

A espécie apresenta dioicismo, ausência de dimorfismo sexual, o que impede a identificação do sexo das plantas e, conseqüentemente, a determinação da proporção sexual nas áreas de cultivo antes do florescimento, dificultando o manejo. Além disso, as características fenotípicas selecionadas em matrizes são mais difíceis de serem obtidas por meio da propagação por sementes. Busca-se, por isso, alternativas de propagação assexual, sendo, a propagação *in vitro* de grande potencial, pois gera clones em grande escala.

São raros na literatura trabalhos sobre o cultivo *in vitro* de *Jacaratia spinosa*. Contudo, Tomé (1998) conseguiu resultados preliminares utilizando como explantes ápices caulinares de plântulas de 30 a 60 dias de idade.

Para o mamão papaya (*Carica papaya*) que pertence a mesma família do jaracatiá, existem resultados positivos, utilizando-se como explantes folhas (CHENG, 1997), hipocótilo, folhas cotiledonares, epicótilo (ALMEIDA; OLIVEIRA; DANTAS, 2001), ápices caulinares de plântulas (TEIXEIRA; TEIXEIRA, 2004). Dentre os métodos descritos para a propagação do mamoeiro, a micropropagação por cultura de ápices caulinares e gemas laterais de plantas adultas tem sido proposta como a melhor alternativa para a produção de mudas em larga escala (LITZ; CONOVER, 1977).

O presente trabalho objetivou desenvolver um protocolo para o estabelecimento *in vitro* de *Jacaratia spinosa* utilizando diferentes concentrações de 6-benzilaminopurina (6-BA).

## Material e Métodos

O experimento foi realizado no laboratório de Fitotecnia, Departamento de Agronomia da Universidade Estadual de Londrina (UEL) – PR, de agosto a outubro de 2006.

Foram utilizados como explantes ápices caulinares de plantas de *Jacaratia spinosa* com três anos de idade, coletados no Horto Florestal do Centro de Ciências Agrárias da UEL.

Os explantes medindo  $\pm 0,5$ cm foram desinfestados com a solução de Saniagri® (ácido peracético 2%) 33% v/v em condições assépticas, durante 15 minutos, sendo posteriormente enxaguados em água destilada autoclavada e pulverizados com uma solução de hipoclorito de sódio (2,5% de cloro ativo) 1% v/v, para prevenir o aparecimento de fungos e bactérias.

As concentrações de 6-benzilaminopurina (6-BA) usadas foram: 0,0 mg L<sup>-1</sup>, 0,5 mg L<sup>-1</sup>, 1,0 mg L<sup>-1</sup>, 1,5 mg L<sup>-1</sup>, 2,0 mg L<sup>-1</sup>. Em todas as concentrações de 6-BA usadas, foram adicionados 0,1 mg L<sup>-1</sup> de ácido a-naftalenoacético (ANA).

Os explantes desinfestados foram inoculados em frascos de vidro transparente de 250 mL, contendo

50 mL do meio de cultura MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962), acrescido de 100 mg L<sup>-1</sup> de mio-inositol, 5,0 g L<sup>-1</sup> de sacarose e 8,0 g L<sup>-1</sup> de ágar da marca Cobe. O pH foi ajustado em 5,8 e os vidros com os meios de cultura autoclavados a 120°C e 1 atm por vinte minutos.

Os ápices foram mantidos em vidros individuais, vedados com parafilme e acondicionados em sala de crescimento, com temperatura em torno de 25 ± 2°C e mantidos no escuro por 15 dias. Após este período, os vidros com os explantes foram submetidos a um fotoperíodo de 16 horas de luz (1500 lux).

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, com 10 ápices por concentração de 6-BA.

As avaliações visuais das freqüências de sobrevivência dos ápices e número de brotações laterais foram realizadas semanalmente, por 90 dias. Os resultados em porcentagem foram submetidos à análise de regressão e ao teste do Qui-quadrado para várias proporções a 1% de significância (AYRES et al., 2000).

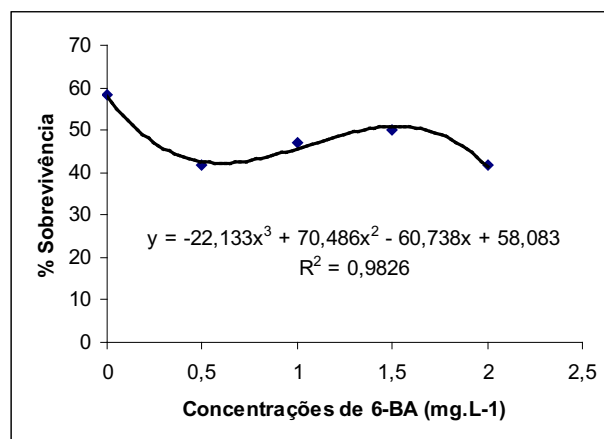
## Resultados e Discussão

O tratamento dos ápices com a solução de Saniagri® (ácido peracético 2%) 33% v/v, durante 15 minutos, mais a pulverização de solução de hipoclorito de sódio (2,5% de cloro ativo) 1% v/v resultou em uma porcentagem de descontaminação entre 60% e 80%. Vianna et al. (1997) utilizando para a desinfestação de ápices de mamoeiro o hipoclorito de sódio a 1% por dez minutos, conseguiu controlar a contaminação por fungos, porém, o autor, não conseguiu a descontaminação por bactérias.

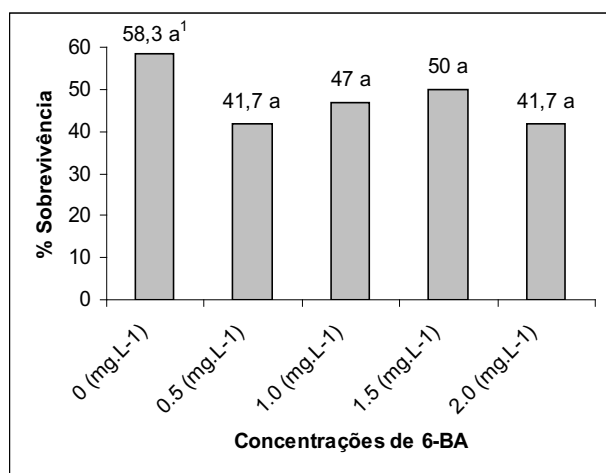
Foram utilizados por Winnaar (1988), Schmildt (1994) e Litz e Conover (1978) soluções germicidas à base de hipoclorito de sódio por 10 a 20 minutos na assepsia de explantes de mamoeiro. Winnaar (1988)

observou 4 a 29% de contaminação, resultado este considerado satisfatório. Schmildt (1994) encontrou 7,5 e 10% de contaminação microbiana, respectivamente, para os cultivares de mamoeiro Solo e Formosa, taxa bastante baixa. O hipoclorito de sódio promove a descontaminação na superfície dos explantes, mas não controla a contaminação endofítica (REUVENI; SHLESINGER; LAVI, 1990), daí a necessidade da utilização de um tratamento complementar como o Saniagri® (ácido peracético 2%).

Na figura 1 está apresentada a curva de regressão para as freqüências de sobrevivência e na figura 2 os resultados do teste do Qui-quadrado. A curva de regressão é um polinômio de 3º grau que sugere que a concentração zero apresentou sobrevivência superior às demais, porém o teste do Qui-quadrado mostra que as freqüências variaram de 41,7% até 58,3%, não havendo diferença estatística entre as concentrações usadas.



**Figura 1.** Curva de regressão para as freqüências de sobrevivência de ápices caulinares de *Jacaratia spinosa* aos 90 dias.



<sup>1</sup>Teste Qui-quadrado ( $\chi^2$ ) para várias proporções a 1% de significância.

**Figura 2.** Frequência de sobrevivência de ápices caulinares de *Jacaratia spinosa* aos 90 dias.

Tomé (1998) em estudos com ápices caulinares de mudas de jaracatiá, observou que a sobrevivência após os 35 dias foi de 58,8%, média semelhante à encontrada neste estudo. Entretanto, no presente experimento foram utilizados ápices provenientes de plantas adultas, objetivando a obtenção de clones, que apresentam as vantagens de se poder selecionar plantas com o sexo definido, importante no cultivo de plantas dióicas; produtividade, tolerância a pragas e doenças, dentre outras.

Como não foi observada durante os 90 dias, a emissão de brotações laterais nos tratamentos utilizados, tornam-se necessários novos estudos com outras concentrações de fitoreguladores para definir um protocolo para o estabelecimento *in vitro* de *Jacaratia spinosa*.

## Referências

ALMEIDA, E. P.; OLIVEIRA, R. P.; DANTAS, J. L. L. Indução e desenvolvimento de calos e embriões somáticos em mamoeiro. *Scientia Agrícola*, Piracicaba, v. 58, n. 1, p. 51-54, 2001.

AYRES, M.; AYRES JUNIOR, M.; AYRES, D. L.; SANTOS, A. S. *BioEstat 2.0*: aplicações estatísticas nas áreas das ciências biológicas e médicas. Brasília: CNPq, 2000.

CHENG, C. C. Plantlet regeneration from leaf disc culture of *Carica papaya*. *Bulletin of National Pingtung Polytechnic Institute*, [S.l.], v. 6, n. 4, p. 263-272, 1997. (CD-ROM CAB Abstracts 1996-1998/07).

HATSCHBACH, G. G. Caricáceas do estado do Paraná. *Boletim Botânico Municipal*, Curitiba, v. 55, n. 1, 1982.

HATSCHBACH, G. G.; ZILLER, S. Lista vermelha de plantas ameaçadas de extinção no estado do Paraná. Curitiba: Secretaria do Estado do Meio Ambiente, 1995.

LITZ, R. E.; CONOVER, R. A. Tissue culture propagation of papaya. *Proceedings of the Florida State Horticultural Society*, Gainesville, v. 90, p. 245-246, 1977.

LITZ, R. E.; CONOVER, R. In vitro propagation of papaya. *HortScience*, Alexandria, v. 13, n. 3, p. 241-242, 1978.

LORENZI, H. *Árvores brasileiras: manual de identificação de plantas arbóreas nativas do Brasil*. Nova Odessa: Plantarum, 2002. v. 1.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiologia Plantarum*, Copenhagen, v. 15, n. 1, p. 437-497, 1962.

PAOLI, A. A. S. *Morfologia, anatomia e aspectos da germinação de Jacaratia spinosa (AUBL.) A.DC. (Caricaceae)*. 1986. Tese. (Doutorado em Ciências Biológicas) – Instituto de Biociências de Rio Claro. Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Rio Claro.

REUVENI, O.; SHLESINGER, D. R.; LAVI, U. In vitro clonal propagation of dioecious *Carica papaya*. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, Dordrecht, v. 20, n. 1, p. 41-46, 1990.

SCHMILDT, E. R. *Enraizamento in vitro e ex vitro de ramos de mamoeiro (Carica papaya L.)*. 1994. Dissertação. (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

TEIXEIRA, M. T.; TEIXEIRA, S. L. Estabelecimento de ápices caulinares de mamoeiro in vitro. *Revista Ceres*, Viçosa, v. 51, n. 296, p. 477-484, 2004.

TOMÉ, M. V. D. F. *Características biométricas, germinação, armazenamento de sementes e propagação in vitro de jaracatiá*. 1998. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina.

VIANNA, G. R.; COUTO, F. A. A.; OLIVEIRA, A. B.; ZAMBOLIM, L.; MARIA, J. Rifampicina na descontaminação bacteriana de explantes de mamoeiro provenientes do campo. *Bragantia*, Campinas, v. 56, n. 2, p. 249-254, 1997.

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