

FONTES E CONCENTRAÇÕES DE CARBONO E SAIS NA PROPAGAÇÃO *IN VITRO* DO BACURIZEIRO (*Platonia insignis* Mart.)¹

KAESSEL JACKSON DAMASCENO E SILVA², VALDOMIRO AURÉLIO BARBOSA DE SOUZA³, REGINA LUCIA FERREIRA GOMES⁴, CLEMILDA T. B. DA SILVA⁵

RESUMO

Objetivou-se determinar diferentes fontes e concentrações de carbono e sais na propagação do bacurizeiro (*Platonia insignis* Mart.), no desenvolvimento de explantes caulinares, sob condições de cultivo *in vitro*. O experimento foi conduzido no Laboratório de Cultura de Tecidos da Embrapa Meio-Norte, em Teresina – PI, no período de agosto/2001 a janeiro/2002. O efeito de diferentes fontes e concentrações de carbono e sais foi avaliado utilizando-se: sacarose, glucose e frutose, nas concentrações de 1, 2 e 3% como fontes de carbono, e as concentrações de sais do meio de cultura MS (Murashige & Skoog, 1962): 1/4 MS, 1/2 MS, 1/1 MS. As avaliações foram realizadas aos 60 dias de incubação, analisando-se as seguintes características: percentagem de explantes com desenvolvimento de caulículo (%EFC), percentagem de explantes que emitiram brotos (% EEB) e percentagem de explantes com brotos de comprimento superior a 1 cm (%B>1,0 cm). Para as fontes de carbono, houve efeito significativamente superior com o uso de glucose e frutose em relação a %EEB e %B>1,0 cm. As concentrações das diferentes fontes de carbono não mostraram efeitos significativos sobre as características avaliadas. O meio MS/4 foi estatisticamente superior em relação aos meios MS e MS/2 para as características %EFC, %EEB e %B>1,0 cm. As combinações que se apresentaram mais eficientes para essas características foram: MS/4+3% de frutose; MS/4+2% de glucose; MS/4+ 3% de glucose; MS/4+ 3% de sacarose; MS/4+ 2% de sacarose; MS/4+ 1% de glucose.

¹ Apoio ETENE – Banco do Nordeste.

² Mestrando em Genética e Melhoramento de Plantas, Depto. de Biologia/UFLA, Caixa Postal 37, 37200-000, Lavras, MG.

³ Eng. Agr., Ph.D., Pesquisador/Embrapa Meio-Norte, Caixa Postal 1, CEP 64.006-220, Teresina, PI.

⁴ Eng^a Agr^a, D.Sc., Prof^o/Depto. de Fitotecnia – CCA/UFPI, Campus Agrícola da Socoço, CEP 64.049-550, Teresina, PI.

⁵ Laboratorista da Embrapa Meio-Norte.

INTRODUÇÃO

O bacurizeiro (*Platonia insignis* Mart.), é uma fruteira nativa que ocorre nas Regiões Norte, Nordeste e Centro-Oeste do Brasil, cujo fruto apresenta grande potencial tanto para comercialização *in natura* quanto para agroindústria, com perspectivas de ocupar posições de destaque nos mercados nacional e internacional.

Contudo, por não constituir ainda uma cultura comercialmente estabelecida, a produção de frutos do bacurizeiro é decorrente, na quase totalidade, de atividades extrativistas, sendo raros os pomares com essa espécie. Entre os fatores limitantes para o cultivo racional do bacurizeiro destacam-se: a falta de técnicas adequadas para a produção de mudas; o longo período de juvenildade; a heterogeneidade da produção de plantas propagadas através de sementes (Rodrigues, 2000).

A grande dificuldade apresentada pelo bacurizeiro para a produção de mudas de “pé franco” seja para a utilização em reflorestamento, plantios comerciais ou produção de mudas enxertadas, tem limitado a expansão dessa frutífera (Carvalho & Muller, 1996; Carvalho et al., 1998; Souza et al., 2000). As principais causas são sementes recalcitrantes e mecanismos de dormência.

Uma particularidade da planta de bacuri situa-se na sua propagação, na qual ocorre a emergência da radícula entre 15 a 30 dias e da parte aérea em torno de 180 dias após a semeadura, prolongando-se, na maioria dos casos, por período superior a 700 dias (Rodrigues, 2000).

O desenvolvimento e/ou adaptação de técnicas apropriadas de propagação é imprescindível para o aproveitamento racional e econômico dessa espécie. Na propagação sexuada (via sementes), métodos de quebra de dormência podem ter contribuição decisiva na multiplicação da espécie, principalmente, na produção em larga escala de porta-enxertos. Quanto à macropropagação, diversos são os métodos de estaquia e enxertia que podem ser empregados.

A micropropagação, por sua vez, envolve diversas técnicas de cultivo *in vitro* e se constitui em uma ferramenta potente na propagação de plantas, podendo contribuir não somente para viabilizar a propagação da espécie, mas também para a manutenção e conservação *in vitro* do germoplasma, em espaço reduzido e sem riscos de perdas por pragas e/ou doenças. Essa técnica tem contribuído de maneira substancial para o desenvolvimento da fruticultura, seja em relação aos aspectos de qualidade de mudas, como fornecedora de plântulas isentas de patógenos, seja como ferramenta útil em programas de melhoramento. Possibilita ainda a obtenção de variação somaclonal, a qual além da utilidade imediata no melhoramento genético, contribui para o aumento da variabilidade genética do germoplasma disponível.

A utilização da micropropagação em espécies frutíferas lenhosas, contudo, tem sido dificultada em função da perda da capacidade morfogênica dos tecidos provocada pela diminuição do potencial de regeneração resultante da maturação das plantas e, principalmente, pela quantidade restrita de informações sobre as técnicas de cultivo *in vitro* na propagação das espécies em questão.

No bacurizeiro ainda se conhece muito pouco sobre micropropagação. Entretanto, a capacidade das raízes dessa espécie de produzirem brotações naturalmente, pressupõe-se que este órgão tenha grande potencial para o emprego da técnica. Nesse aspecto, a cultura de tecidos pode contribuir de forma decisiva na tentativa de fornecer mudas mais precoces.

No desenvolvimento deste trabalho objetivou-se avaliar o efeito de diferentes fontes e concentrações de carbono e sais no desenvolvimento de explantes caulinares de bacurizeiro sob condições de cultivo *in vitro*.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Cultura de Tecidos da Embrapa Meio-Norte, em Teresina, PI, no período de 06/08/2001 a 06/01/2002, sendo estudadas três fontes de carbono (sacarose, glicose e frutose), em três concentrações (1, 2 e 3%), e três concentrações de sais do meio de cultura MS (1/4 MS, 1/2 MS, 1/1 MS). O meio de cultura foi enriquecido com BAP (6-benzilaminopurina) e ANA (ácido naftaleno acético), na concentração de 0,5 mg.L⁻¹.

Os ensaios foram conduzidos sob o delineamento experimental inteiramente ao acaso em arranjo fatorial 3 x 3 x 3, com três repetições. Cada unidade experimental foi constituída de quatro tubos de ensaio, contendo um explante cada.

Utilizou-se como fonte de explantes ápices caulinares extraídos de plantas de bacurizeiro de três anos de idade aproximadamente, mantidas sob condições de viveiro protegido. Depois de coletados, os segmentos de ramos contendo os ápices caulinares foram colocados em recipiente com água corrente durante 30 minutos. Posteriormente, realizou-se a desinfestação através da imersão em etanol 70%, por 30 segundos e, em seguida, em solução de bicloreto de mercúrio (200 mg.L⁻¹), por 10 minutos. Os ápices foram então lavados três vezes consecutivas em água destilada estéril.

Após a desinfestação os explantes com tamanho em torno de 1,0-1,5 cm de comprimento foram excisados e transferidos para tubos de ensaio contendo os meios de acordo com os tratamentos estabelecidos, sendo acrescido 8 g.L⁻¹ de ágar e 100 mg.L⁻¹ de carvão ativado. O pH do meio de cultura foi ajustado para 5,8 antes da autoclavagem, em temperatura de 121

°C e 1 atm de pressão por 15 minutos. Os tubos de ensaio contendo os explantes foram mantidos em sala de crescimento sob condições controladas, com 16 horas de fotoperíodo em luz branca fria de 1000 lux de intensidade luminosa e temperatura de 26 °C ± 1 °C.

As características avaliadas aos 60 dias após o início da incubação foram: percentagem de explantes com desenvolvimento de caulículo (%EFC), percentagem de explantes que emitiram brotos (% EEB) e percentagem de explantes com brotos de comprimento superior a 1 cm (%B>1,0 cm). Os dados foram submetidos à análise de variância, com as médias dos tratamentos sendo comparadas pelo teste de Duncan a 5%.

+++

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise de variância indicou diferença significativa ($P < 0,05$) entre as fontes de carbono para percentagem de explantes que emitiram brotos (%EEB) e percentagem de brotos com comprimento superior a 1,0 cm (%B>1,0 cm). Não houve diferença quanto à percentagem de explantes que formaram caulículo (%EFC).

As médias das características avaliadas (%EFC, %EEB e %B>1,0cm) sob efeito das fontes de carbono glicose, frutose e sacarose, em explantes de bacurizeiro, encontram-se na Tabela 1. Verifica-se que a glicose não diferiu significativamente de frutose e apresentou efeito superior à sacarose para %EEB e %B>1,0 cm.

TABELA 1 – Efeito de três fontes de carbono em explantes caulinares de bacurizeiro. Teresina, PI, 2001.

Fontes de Carbono	Características avaliadas ¹		
	% EFC ^{2,3}	%EEB ^{2,3}	% B >1 cm ^{2,3}
Glucose	0,98 a (46,19)	1,07 a (64,25)	0,99 a (47,86)
Frutose	0,96 a (42,87)	0,99 ab (48,67)	0,95 ab (40,11)
Sacarose	0,93 a (35,94)	0,96 b (41,31)	0,89 b (29,94)
C.V. (%)	13,84	16,03	15,08

¹ Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Duncan ($P < 0,05$).

² Dados transformados para $\sqrt{x+0,5}$.

³ Valores entre parênteses referem-se as médias na escala original.

%EFC = Percentagem de explantes que formaram caulículo; %EEB percentagem de explantes que emitiram brotos; % Brotos >1,0 cm = Percentagem de brotos com comprimento superior a 1,0 cm.

Na Tabela 2 são apresentadas as médias das características %EFC, %EEB e %B>1,0 cm sob efeito de três concentrações das fontes de carbono em explantes de bacurizeiro. As concentrações das diferentes fontes de carbono não mostraram efeitos significativos nas características avaliadas.

TABELA 2 – Efeito de diferentes concentrações das fontes de carbono em explantes caulinares de bacurizeiro. Teresina, PI, 2001.

Concentrações das Fontes de Carbono (%)	Características avaliadas ¹		
	%EFC ^{2,3}	%EEB ^{2,3}	% B >1 cm ^{2,3}
1,0	0,97 a (43,87)	1,01 a (52,45)	0,93 a (37,39)
2,0	0,97 a (43,52)	1,01 a (52,45)	0,94 a (38,50)
3,0	0,94 a (37,46)	0,99 a (48,67)	0,96 a (41,59)
C.V. (%)	13,84	16,03	15,08

¹ Médias seguidas pela mesma letra na coluna, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Duncan (P<0,05).

² Dados transformados para $\sqrt{(x+0,5)}$.

³ Valores entre parênteses referem-se as médias na escala original.

%EFC = Percentagem de explantes que formaram caulículo; %EEB percentagem de explantes que emitiram brotos; % Brotos >1,0 cm = Percentagem de brotos com comprimento superior a 1,0 cm.

A análise de variância indicou efeito significativo das concentrações do meio MS em explantes de bacurizeiro para as características três características avaliadas.

Na Tabela 3 encontram-se as médias de %EFC, %EEB e %B>1,0 cm sob efeito das concentrações do meio MS (25, 50 e 100%), ou seja, MS/4, MS/2 e MS.

O meio MS/4 foi estatisticamente superior aos meios MS/2 e MS para as três características estudadas. As concentrações MS e MS/2 não diferiram significativamente entre si. O meio MS/4 proporcionou 69,05% de emissão de caulículo e 80,97% de emissão de brotos, sendo que destes, 70% atingiram comprimento superior a 1,0 cm.

No *Eucalyptus citriodora* Hook, a redução do nitrato de amônio e de potássio dobrou a taxa de multiplicação. Essa redução de nitrogênio na forma amoniacal além de incrementar a multiplicação evitou também a vitrificação, que em espécies lenhosas deforma e inibe o alongamento das gemas (Gtewal et al., 1980 citados por Grattapaglia & Machado, 1998).

TABELA 3 – Efeito de diferentes concentrações do meio MS em explantes caulinares de bacurizeiro. Teresina, PI, 2001.

Concentrações do Meio MS (%)	Características avaliadas ¹		
	%EFC ^{2,3}	%EEB ^{2,3}	% B >1 cm ^{2,3}
MS/4	1,09 a (69,05)	1,14 a (80,97)	1,10 a (70,03)
MS/2	0,90 b (30,27)	0,94 b (37,74)	0,87 b (25,50)
MS	0,88 b (28,22)	0,94 b (37,74)	0,87 b (25,37)
C.V. (%)	13,84	16,03	15,08

¹ Médias seguidas pela mesma letra na coluna, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Duncan (P<0,05).

² Dados transformados para $\sqrt{x+0,5}$.

³ Valores entre parênteses referem-se as médias na escala original.

%EFC = Percentagem de explantes que formaram caulículo; %EEB percentagem de explantes que emitiram brotos; % Brotos >1,0 cm = Percentagem de brotos com comprimento superior a 1,0 cm.

A análise de variância indicou efeito significativo (P<0,05) das combinações entre as fontes de carbono (glucose, frutose e sacarose) em diferentes concentrações (1, 2 e 3%) e das concentrações de sais (MS, MS/2 e MS/4) para as três características avaliadas.

As médias referentes às combinações entre as fontes de carbono em três concentrações e as diferentes concentrações de sais para %EFC, %EEB e %B>1,0 cm estão apresentadas na Tabela 4.

As combinações que se apresentaram mais eficientes para as três características avaliadas foram: MS/4+3% de frutose; MS/4+2% de glucose; MS/4+ 3% de glucose; MS/4+ 3% de sacarose; MS/4+ 2% de sacarose; MS/4+ 1% de glucose. A combinação MS+frutose a 3% apresentou resultado inferior para as três características avaliadas. Rodrigues (2000), ao testar a germinação e crescimento de eixos embrionários de cupuaçu em meio MS com diferentes concentrações de sacarose, obteve como melhor resultado a concentração de 7% dessa fonte de carbono.

A concentração de sacarose, ou outra fonte de açúcar, tem efeito sobre a multiplicação e o crescimento. Concentrações de 2 a 4% (p/v) são as mais comuns. Embora o crescimento com os açúcares redutores (hexoses) normalmente seja inferior àquele verificado no meio com sacarose, esta regra tem várias exceções (Grattapaglia & Machado, 1998). Oka & Ohyama (1978) promoveram o crescimento de gemas de *Morus* e a formação de partes aéreas, durante o ano todo, num meio com frutose. A sacarose, neste sistema, somente permitiu o crescimento quando as gemas não estavam dormentes.

TABELA 4 – Efeito de diferentes combinações e concentrações de fitohormônios cultivo *in vitro* de explantes caulinares de bacurizeiro. Embrapa Meio-Norte, Teresina, PI, 2001.

TRATAMENTOS			CARACTERÍSTICAS AVALIADAS ¹				
Sais	F.Carb.	Conc.(%)	% EFC ^{2,3}		% EEB		% B >1 cm ^{2,3}
MS/4	FRU	3	1,22a	(100,00)	1,22 a	(100,00)	1,12abc (75,44)
MS/4	GLU	2	1,19ab	(90,90)	1,22 a	(98,84)	1,19a (90,90)
MS/4	GLU	3	1,15abc	(82,94)	1,22 a	(100,00)	1,14ab (79,96)
MS/4	SAC	3	1,15abc	(92,94)	1,22 a	(100,00)	1,17a (87,59)
MS/4	SAC	2	1,15abcd	(81,56)	1,22 a	(100,00)	1,11abcd (73,88)
MS/4	GLU	1	1,12abcd	(75,44)	1,22 a	(100,00)	1,22a (100,00)
MS/4	SAC	1	1,08abcde	(66,64)	1,22 a	(100,00)	1,15ab (81,56)
MS	SAC	2	1,04abcdef	(58,16)	1,22 a	(100,00)	1,03abcde (55,47)
MS/2	FRU	1	0,98abcdef	(46,63)	1,05 ab	(60,25)	0,95abcde (39,68)
MS/2	SAC	2	0,93 bcdef	(37,05)	1,05 ab	(60,25)	0,85cde (21,74)
MS/2	FRU	3	0,93 bcdef	(37,05)	1,05 ab	(60,25)	0,81e (15,12)
MS	SAC	1	0,90 cdef	(31,00)	1,05 ab	(60,25)	1,00abcde (50,60)
MS	GLU	2	0,88 def	(27,44)	0,88 b	(27,44)	0,81e (15,12)
MS/2	GLU	2	0,88 def	(27,44)	0,88 b	(27,44)	0,81e (15,12)
MS/4	FRU	1	0,88 def	(27,44)	0,88 b	(27,44)	0,81e (15,12)
MS/4	FRU	2	0,88 def	(27,44)	0,88 b	(27,44)	0,88 bcde (27,44)
MS	FRU	1	0,88 def	(27,44)	0,88 b	(27,44)	0,88 bcde (27,44)
MS	FRU	2	0,88 def	(27,44)	0,88 b	(27,44)	0,88 bcde (27,44)
MS/2	FRU	2	0,88def	(27,44)	0,88 b	(27,44)	0,85cde (21,74)
MS/2	SAC	1	0,88def	(27,44)	0,88 b	(27,44)	0,88 bcde (27,44)
MS/2	GLU	3	0,88def	(27,44)	0,88 b	(27,44)	0,85cde (21,74)
MS	GLU	3	0,88def	(27,44)	0,88 b	(27,44)	0,81e (15,12)
MS/2	GLU	1	0,85 ef	(21,74)	0,88 b	(27,44)	0,88 bcde (27,44)
MS	GLU	1	0,85 ef	(21,74)	0,88 b	(27,44)	0,78e (10,37)
MS	SAC	3	0,85 ef	(21,74)	0,88 b	(27,44)	0,83 (19,39)
MS/2	SAC	3	0,85 ef	(21,74)	0,88 b	(27,44)	0,88 bcde (27,44)
MS	FRU	3	0,81 f	(15,12)	0,88 b	(27,44)	0,81e (15,12)
CV(%)			14,02		16,53		15,25

¹ Médias seguidas pela mesma letra, nas colunas, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Duncan ao nível de 5 % de probabilidade.

² Dados transformados para $\sqrt{(x+0,5)}$.

³ Valores entre parênteses referem-se as médias na escala original.

Sais = concentração de sais; F.Carb. = fontes de carbono; Conc.(%): concentração das diferentes fontes de carbono.

% EFC = percentagem de explantes que formaram caulículo; %EEB - percentagem de explantes que emitiram brotos; %B >1 cm - percentagem de brotos maior que 1 cm.

CONCLUSÕES

- Em média, a emissão de brotos e a formação de brotos com comprimento superior a 1,0 cm, foram favorecidas com o uso das fontes de carbono glicose e frutose nas concentrações de 2,0 e 3,0%.
- O meio MS/4 foi mais eficiente que os meios MS/2 e MS para a formação de caulículo, emissão de brotos e formação de brotos com comprimento superior a 1,0 cm.
- As combinações mais eficientes foram: MS/4+3% de frutose; MS/4+2% de glicose; MS/4+ 3% de glicose; MS/4+ 3% de sacarose; MS/4+ 2% de sacarose; MS/4+ 1% de glicose.
- A combinação do meio MS/4 + 3% de frutose apresentou melhor resultado para as variáveis %EFC e %EEB. O meio MS/4, acrescido de glicose a 1% proporcionou maior eficiência para o alongamento dos brotos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CARVALHO, J.E.U. de; MÜLLER, C.H. **Propagação do bacurizeiro, *Platonia insignis* Mart.** Belém: Embrapa – CPATU, 1996. 13p.
- CARVALHO, J.E.U. de; MÜLLER, C.H.; LEÃO, N.V.M. Cronologia de eventos morfológicos associados à germinação e sensibilidade ao descascamento em sementes de bacuri (*Platonia insignis* Mart. – Clusiaceae). **Revista Brasileira de Sementes**, Campinas, v.20, n.2, p.475-479, 1998.
- GRATTAPAGLIA, D., MACHADO, M.A. Micropropagação. In: TORRES, A.C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: Embrapa – SPI/Embrapa – CNPH, 1998. p.183-260.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum.**, v.15, p.473-497, 1962.
- OKA, S.; OHYAMA, K. *In vitro* culture of excised mulberry bud and dormancy analysis with it. In: AKIHAMA, T.; NAKAJIMA, K., ed. **Long-term preservation of favorable germ plasm in arboreal crops**. Tsukubagun: Fruit Tree Research Station, 1978. p.136-141.

RODRIGUES, E.F. **Desenvolvimento do eixo embrionário “in vitro” e calogênese de cupuaçu (*Theobroma grandiflorum* Willdenow ex Sprengel) e estabelecimento do ápice caulinar de bacuri (*Platonia insignis* Martius).** 2000. 60p. Tese (Doutorado em Produção Vegetal).- FCAV, UNESP, Jaboticabal.

SOUZA, V.A.B.; VASCONCELOS, L.F.L.; ARAÚJO, E.C.E.; ALVES, R.E. **Bacurizeiro (*Platonia insignis* Mart.).** Jaboticabal: Funep, 2000. 72p. (Série Frutas Nativas, 11).