

UTILIZAÇÃO DO ÁCIDO GIBERÉLICO PARA A QUEBRA DE DORMÊNCIA DE SEMENTES DE *Passiflora nitida* KUNTH GERMINADAS *IN VITRO*¹

ILENE RIBEIRO DA SILVA PASSOS^{2*}, GIOVANA VESECHI DA CONCEIÇÃO MATOS⁵, LAURA MARIA MOLINA MELETTI³, MARTA DIAS SOARES SCOTT², LUÍS CARLOS BERNACCI⁴, MARIA APARECIDA RIBEIRO VIEIRA⁵

RESUMO - A obtenção de um protocolo para o estabelecimento *in vitro* de plantas provenientes de sementes de *Passiflora* spp. é muito importante para se obterem plantas assépticas, além de proporcionarem oportunidade de manutenção de bancos de germoplasma *in vitro*. O objetivo deste trabalho foi verificar o efeito de diferentes doses de ácido giberélico (0; 500 e 1000 mg.L⁻¹), efeito da luz ou de sua ausência, na germinação *in vitro* de sementes de *P. nitida* Kunth. Dois experimentos foram efetuados para avaliar esses parâmetros. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, sendo que cada parcela constou de um frasco com cinco sementes, com dez repetições por tratamento. Para comparação entre os tratamentos, utilizou-se, como parte da estatística descritiva, a comparação de intervalos de confiança das médias por meio do teste t. Como testemunha, para se verificar se o protocolo de imersão de sementes em água e o processo de descontaminação não prejudicavam a viabilidade das sementes, germinaram-se *in vitro* 100 sementes de *Passiflora edulis* recém-colhidas. O maior número médio de sementes germinadas foi obtido com a utilização de 1.000 mg.L⁻¹ de ácido giberélico. Não se verificou efeito significativo da luz/escuro sobre a germinação das sementes.

Termos de indexação: maracujá; germinação de sementes; estabelecimento *in vitro*; *P. nitida*.

GIBBERELIC ACID UTILIZATION FOR DORMANCY BREAK IN *Passiflora nitida* KUNTH SEEDS *IN VITRO* GERMINATED

ABSTRACT: The establishment of an *in vitro* protocol for plants risen from seeds of *Passiflora* spp is important to guarantee aseptic plants. It could be also an opportunity to maintain an *in vitro* germoplasma bank. Because *Passiflora nitida* presents dormancy in seeds, the aim of this paper was to verify the effect in seed germination of different doses of gibberellic acid (GA₃) (0, 500 and 1000 mg.L⁻¹), under light or dark. The seeds were germinated in half-strength Murashige & Skoog medium. The experimental design was fully randomized one, with ten replicates per treatment. The experimental unit was considered to be a flask (30 mL of medium) with five seeds each. A hundred of *P. edulis* fresh seeds were used as witness to verify if water immersion and or if the decontaminating process could be responsible in seeds viability. We conclude that gibberellic acid (1000 mg. L⁻¹) has increased seeds germination. There are no germination significant differences with or without light regime.

Index terms: passion fruit, seed germination, *Passiflora nitida*, *in vitro* establishment.

O conhecimento sobre os aspectos da germinação de sementes das diversas espécies de *Passiflora* é fundamental para a propagação e para a manutenção de bancos de germoplasma, visando a evitar a erosão genética. Estudos efetuados nesse gênero são ainda incipientes. A metodologia utilizada na remoção do arilo e a condição de armazenamento influenciam sobremaneira na viabilidade das sementes de maracujá. Para *P. nitida*, uma espécie com sérios problemas de dormência, Melo (1996) verificou que, após as sementes serem colhidas, o arilo deve ser retirado por um processo mecânico (liquidificador) em detrimento da fermentação natural, e que há necessidade de um período de quatro a seis meses de armazenamento para superação desta dormência, antes de serem colocadas para germinar. *Passiflora edulis*, o maracujá-amarelo, por ser uma espécie já domesticada, apresenta um período de dormência bem mais curto (no máximo 30 dias), e sua capacidade de germinação está por volta de 90% (Meletti & Maia, 1999).

As giberelinas bioativas, como o GA₃, promovem a germinação de sementes em várias espécies de plantas. Também a luz é um sinal ambiental importante na determinação da germinação das sementes (Yamaguchi & Kamiya, 2002). Holey (1994) propôs que o GA₃ promove a germinação da semente estimulando o crescimento do embrião e induzindo a produção de hidrolases para enfraquecer as estruturas ao redor do embrião.

O estabelecimento *in vitro* de plantas de maracujá, por meio de sementes, é necessário para se obter material asséptico para obtenção de explantes para manipulações *in vitro*. Passos (1999), em trabalho sobre a germinação de sementes *in vitro* de *P. nitida*, verificou um máximo de 19,7 % de germinação, sem a embebição prévia das sementes e sem a utilização de ácido giberélico.

O objetivo deste trabalho foi verificar o efeito de diferentes

doses de ácido giberélico e o efeito da luz ou de sua ausência na germinação de sementes *in vitro* de *P. nitida* Kunth.

As sementes de *Passiflora nitida* utilizadas foram colhidas em abril de 1999, oriundas do banco de germoplasma do Instituto Agrônomo de Campinas, sendo conservadas em geladeira. Possuíam, então, dois anos e 5 meses na ocasião dos experimentos.

Os seguintes procedimentos foram utilizados: a) As sementes foram colocadas em um béquer contendo 50ml de água com 2 gotas de detergente, para a primeira lavagem. A seguir, foram enxaguadas em água corrente, utilizando-se de uma peneira plástica, para ampará-las. Foram mergulhadas, então, em álcool 70% por 40 segundos. Visando à retirada do arilo remanescente, utilizou-se o tecido "Perfex". Nesta ocasião, aplicaram-se os tratamentos (pré-embebição das sementes, por 6 horas, com ou sem ácido giberélico) respectivos para cada experimento. b) Após o período de pré-embebição, efetuou-se a descontaminação das sementes em capela de fluxo laminar asséptico. Imergiram-se as sementes em uma solução de hipoclorito de cálcio a 2%, durante 20 minutos, dentro de um erlenmayer, sob agitação. Posteriormente, as sementes foram enxaguadas em solução ácida (pH 3), utilizando-se de uma peneira plástica para ampará-las, e transferidas para outro erlenmayer autoclavado, livre de resíduos de hipoclorito de cálcio. O processo continuou com lavagens de água bidestilada autoclavada, durante 20 minutos, trocando-se a água a cada 5 minutos, em um total de quatro enxágües, no mesmo erlenmayer, sob agitação. c) Após pequeno corte lateral, as sementes foram introduzidas em frascos contendo 30 mL de meio MS (Murashige & Skoog, 1962), na metade da concentração de seus componentes (1/2 MS). d) O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, sendo que a parcela constou de um frasco com cinco sementes, com dez repetições por tratamento. Para comparação entre os tratamentos, utilizou-

¹ (Trabalho 082/2003). Recebido: 08/05/2003. Aceito para publicação: 04/08/2004.

² Centro de Pesquisa e Desenvolvimento de Recursos Genéticos Vegetais – Instituto Agrônomo de Campinas. Caixa Postal 28. CEP: 13001-970, Campinas, SP. F: (019) 3241-5188 r. 429. e-mail: irpassos@iac.sp.gov.br *Autor para correspondência.

³ CAPTA – Frutas, IAC. Caixa Postal 28. CEP: 13001-970, Campinas, SP. F: (019)3241-9910. e-mail: lmmm@iac.sp.gov.br

⁴ Núcleo de Pesquisas e Desenvolvimento Jardim Botânico, IAC. Caixa Postal 28. CEP: 13001-970, Campinas, SP. F: (019)3231-5422. e-mail: bernacci@iac.sp.gov.br

⁵ Centro de Pesquisa e Desenvolvimento de Recursos Genéticos Vegetais. Bolsistas de Iniciação Científica da FAPESP.

se, como parte da estatística descritiva, a comparação de intervalos de confiança das médias por meio do teste t (Snedecor & Cochran, 1973). Os frascos foram mantidos em sala de cultivo, em temperatura que variou de 26°C a 28°C, sob uma luminosidade de aproximadamente 30 μ E.m⁻².s⁻¹, quando sob luz. Para a embebição das sementes utilizou-se, no primeiro experimento, o tratamento de solução aquosa de ácido giberélico (GA₃) a 500 mg.L⁻¹ em imersão das sementes, antes da descontaminação das mesmas. Dez frascos foram cultivados sob fotoperíodo de 16 horas (Tratamento 1), e 10 frascos foram cultivados no escuro (Tratamento 2). As avaliações foram efetuadas a cada 7 dias a partir da instalação do experimento até os 28 dias.

No segundo experimento, aplicaram-se os seguintes tratamentos: Tratamento 3 - 0,0 mg.L⁻¹ de GA₃ (sementes cultivadas sob luz); Tratamento 4 - 0,0 mg.L⁻¹ de GA₃ (sementes cultivadas no escuro); Tratamento 5 - 500 mg.L⁻¹ de GA₃ (sementes cultivadas sob luz); Tratamento 6 - 500 mg.L⁻¹ de GA₃ (sementes cultivadas no escuro); Tratamento 7 - 1000 mg.L⁻¹ de GA₃ (sementes cultivadas sob luz); Tratamento 8 - 1000 mg.L⁻¹ de GA₃ (sementes cultivadas no escuro). As avaliações foram efetuadas aos 14; 28 e 50 dias a partir da instalação do experimento.

Como testemunha, para se verificar se o protocolo de imersão de sementes em água e o processo de descontaminação não prejudicavam a viabilidade das sementes, germinaram-se *in vitro* 100 sementes de *Passiflora edulis* recém-colhidas em meio MS (1/2).

Não se verificou diferença significativa na germinação em função da luz, quando se utilizou GA₃. Em termos de porcentagem, obteve-se 56% de germinação aos 28 dias, sob condições de luz ou de escuro, no primeiro experimento. Já, no experimento 2 (Tabela 1), verifica-se diferença significativa na germinação de sementes aos 50 dias, para o tratamento-testemunha, ou seja, sem GA₃, sendo que houve 46,0% de sementes que germinaram na luz e 8,8% de sementes que germinaram no escuro. A partir destes resultados, pode-se supor que, em parte, o GA₃ sobrepõe o efeito da luz na germinação das sementes de *Passiflora nitida*. Ou ainda que, como relatado por Yamaguchi & Kamiya (2002), a luz vermelha promove a germinação das sementes, no mínimo em parte, por meio do aumento dos níveis de GA.

TABELA 1 - Número médio e sementes de *Passiflora nitida* germinadas quando tratadas com 3 dosagens (0; 500; 1000 mg.L⁻¹) de GA₃ nos tratamentos sob luz (L) e escuro (E) (média \pm s). Campinas-SP, 2001.

Tempo Tratamento (mg.L ⁻¹ GA ₃)	14 dias	28 dias	50 dias
L 0	0,10 \pm 0,31ab	1,30 \pm 1,15ab	2,30 \pm 1,15b
L 500	0,90 \pm 0,73c	2,60 \pm 0,96bc	3,40 \pm 0,96bc
L 1000	1,80 \pm 1,31c	4,20 \pm 0,63d	4,30 \pm 0,67c
E 0	0,00 \pm 0,00a	3,66 \pm 1,11d	0,44 \pm 0,72a
E 500	0,77 \pm 0,83bc	3,00 \pm 0,70c	3,33 \pm 1,00bc
E 1000	1,66 \pm 1,11c	0,33 \pm 0,50a	4,13 \pm 0,83c

*Médias seguidas pelas mesmas letras dentro das colunas não diferem entre si, pelo teste t (5%P).

Verifica-se, na Tabela 1 (experimento 2), que, aos 14 dias, o maior número médio de sementes germinadas de *P. nitida*, por frasco, foi obtido nos tratamentos luz com 1.000 mg.L⁻¹ de GA₃, escuro, com 1.000 mg.L⁻¹ de GA₃ e sob luz com 500 mg.L⁻¹ de GA₃; entretanto, não houve diferença estatística do tratamento escuro com 500 mg.L⁻¹ de GA₃. Aos 28 dias, a maior taxa de germinação das sementes foi obtida para o

tratamento sob luz, com 1.000 mg.L⁻¹ de GA₃, sem diferir estatisticamente de escuro com 1.000 mg.L⁻¹ de GA₃. Aos 50 dias, o maior número de sementes germinadas foi encontrado nos tratamentos luz e escuro com 1.000 mg.L⁻¹ de GA₃, sem diferir-se estatisticamente dos tratamentos com 500 mg.L⁻¹ de GA₃. Melo (1999) verificou que a imersão das sementes em ácido giberélico mostrou-se efetiva na quebra de dormência, antecipando a emergência de *P. nitida*. Esse autor obteve 46,7% de germinação na dosagem de 1.500 mg.L⁻¹, em sementes armazenadas por oito meses. Neste trabalho, obteve-se, aos 50 dias, 86% de sementes de *P. nitida* germinadas para o tratamento sob luz com 1.000 mg.L⁻¹ de GA₃, que não diferiu estatisticamente do tratamento sem luz.

Quanto ao efeito do procedimento de descontaminação sobre as sementes de *P. edulis*, verificou-se que, aos 28 dias após a instalação do experimento, 93,8% de sementes de *P. edulis* encontravam-se germinadas, indicando que a metodologia de descontaminação e de embebição em água não prejudica a germinação das sementes, de maneira geral.

Em termos de germinação para *Passiflora nitida*, a dose de ácido giberélico mais adequada é a de 1.000 mg.L⁻¹ sob luz ou não. Outrossim, os tratamentos de descontaminação das sementes, para sua inoculação *in vitro*, não prejudicam a viabilidade das sementes.

AGRADECIMENTOS

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pelo auxílio financeiro (Proj. 00/05780-4). À estagiária Milena Binatti Ferreira, Técnica de Laboratório, bolsista nível TT-2 da FAPESP, pelo excelente apoio técnico.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- HOOLEY, R. Gibberellins: perception, transduction and responses. **Plant Molecular Biology**, Dordrecht, v. 26, p. 1529-1555, 1994.
- MELETTI, L.M.M.; MAIA, M.L. **Maracujá: produção e comercialização**. Campinas: Instituto Agrônomo, 1999. 64p. (Boletim Técnico, 181).
- MELO, A. L. de. **Efeitos da retirada do arilo e do armazenamento e aspectos morfológicos de sementes do maracujazeiro (*Passiflora spp.*)**. 1996. 52f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 1996.
- MELO, A. L. de. **Métodos de quebra de dormência, e de armazenamento de sementes, e aspectos da obtenção de mudas de maracujá-suspiro (*Passiflora nitida* H. B. K.)**. 1999. 95f. Tese (Doutorado em Produção Vegetal) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 1999.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 15, s/n., p.473-497, 1962.
- PASSOS, I. R. S. **Comportamento in vitro em *Vitis spp.* e em *Passiflora nitida* H.B.K.**. 1999. 112f. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas). Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1999.
- SNEDECOR, G.W.; COCHRAN, W. G. **Statistical methods**. Ames: Iowa State University, 1973. 593p.
- YAMAGUCHI, S.; KAMIYA, Y. Gibberellins and Light-Stimulated Seed Germination. **Journal of Plant Growth Regulation**, New York, v. 20, p. 369-376, 2002.