

O «LEITEIRO» COMO PLANTA APÍCOLA

ÉRICO AMARAL

Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"
Universidade de S. Paulo — Piracicaba

WARWICK E. KERR

Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras
Rio Claro — S. Paulo

O presente experimento foi feito porque havia dúvida quanto ao valor do "leiteiro" (*Tabernaemontana fuchsiaefolia*), como planta apícola. O nosso interêsse sôbre o assunto aumentou após sermos informados, por alguns apicultores de Botucatu, que as abelhas colhem boa quantidade de néctar dessas plantas.

Devido à existência de grande quantidade dessa praga dos campos, em certas zonas do Estado, seria interessante que estudássemos tal problema, pois as nossas conclusões não só serviriam para dirimir dúvidas a respeito do assunto, como também, poderiam ser de grande utilidade para os apicultores que desejassem fazer apicultura migratória, nos lugares praguejados pelo "leiteiro".

Êste experimento, que visou testar o valor apícola do "leiteiro", foi instalado numa área de terreno cortada pela estrada de rodagem Piracicaba Anhembi. O local onde foram colocadas as abelhas pertence à Fazenda de propriedade do Engenheiro Agrônomo ANTÔNIO SABINO, a quem somos muito gratos. Nessa fazenda, e nas áreas vizinhas, existe um grande número de pés de "leiteiro".

MATERIAIS E MÉTODOS

Transportamos em um caminhão da Escola, observando os cuidados normais da apicultura migratória, no dia 27-9-58, de Piracicaba para a Fazenda do Dr. SABINO, 11 núcleos, 6 colméias com abelhas italianas ou híbridas de italianas com pretas

e 10 colméias com abelhas africanas ou híbridas de africanas com italianas. O "leiteiro" estava bem florido.

As colméias e núcleos foram pesados ao chegarem na Fazenda.

No dia 9-10-58, fizemos uma visita de inspeção e tomámos os pesos de 5 núcleos e de 6 colméias como uma amostra de conjunto.

Novamente no dia 4-11-58 voltámos à Fazenda e encerrámos o experimento, pesando tôdas as colméias.

Foi usado um refratômetro de campo Baush & Lomb para determinar a concentração do néctar da flor do "leiteiro".

RESULTADOS

No dia 9-10-58, às 11 horas, medimos a concentração do néctar da flor do "leiteiro". Três abelhas que foram seguidas e observadas colhendo néctar dentro das flôres foram compelidas a regurgitá-lo; anotámos as seguintes concentrações para o néctar: 15, 16 e 19%. A concentração de um néctar extraído de uma abelha que estava visitando o cálice, pelo lado de fora da flôr, foi de 23,5%.

Os resultados das pesagens das colméias e núcleos constam dos quadros I e II.

DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

Julgamos que os primeiros 12 dias (Veja quadro I), contados após a instalação do experimento, são os que realmente indicam o valor do "leiteiro" como planta apícola, pois a quantidade de flôres abertas era verdadeiramente fabulosa nesses dias. A despeito disso, devido ao fato das abelhas procurarem essas plantas de maneira escassa, os dados experimentais colhidos provaram que as colônias diminuíram de peso naquele intervalo de tempo. As 11 colônias, pesadas como amostra, diminuíram 5.100 gramas no seu peso total, ou seja, uma média de 464 gramas de perda por colônia.

As pesagens do dia 4-11-58, feitas 38 dias após a instalação, podem ser assim resumidas (veja Quadro II): a) 11 núcleos aumentaram 1.300 gramas, ou seja uma média de 118 gramas por núcleo; b) 6 colméias de abelhas italianas ou híbridas aumentaram 19.400 gramas, com uma média de 3.233 gramas por colméia; c) 10 colméias africanas ou suas híbridas aumentaram 59.000 gramas, com um aumento de 5.900 gramas por colméia.

Verificámos que havia nos pastos da Fazenda e nas capoeiras de seus arredores outras plantas apícolas sendo visitadas pelas abelhas, enquanto que as flôres do "leiteiro" deixaram de ser procuradas. Assim, os aumentos de pêso das colméias e núcleos, apesar de pequenos, não podem ser atribuídos àque-la planta.

Assim, concluímos que o "leiteiro" não possui nenhuma utilidade para a apicultura. Todavia, ressalvamos a possibilidade de haver alguma outra região em que o seu néctar seja mais concentrado e mais abundante, podendo ser de algum valor apícola. Até que essa possibilidade seja provada, mantemos nossa opinião de que o "leiteiro" não presta nem para as abelhas.

QUADRO I

Aumento ou diminuição de pêso dos núcleos e colméias observados 12 dias após a sua instalação na área praguejada com "leiteiro".

N. da colônia (*)	Pêso em gr. em 27-9-58	Pêso em gr. em 9-10-58	Aumento ou diminuição nesses 12 dias - grs.
N 19	45.700	45.000	— 700
N 64	20.600	19.500	+ 1.100
N 67	22.000	21.000	— 1.000
N 68	19.500	18.500	— 1.000
N 69	18.700	18.300	— 400
C. A. 110	44.300	44.400	+ 100
C. A. 75	51.000	47.000	— 4.000
C. A. 173	52.000	51.500	— 500
C. A. 166	54.000	53.500	— 500
C. A. 123	53.200	53.500	+ 300
C. I. 26	41.500	43.000	+ 1.500
		Total	— 5.100

(*) N representa núcleo.

C. A. representa colméia com abelhas africanas ou suas híbridas.

C. I. representa colméia com abelhas italianas ou suas híbridas.

QUADRO II

Aumento ou diminuição de peso dos núcleos e colméias no final do experimento, ou seja, 38 dias após a sua instalação.

N. da colônia (*)	Pêso em gr. em 27-9-58	Pêso em gr. em 4-11-58	Aumento ou diminuição nesses 38 dias - grs.
N 19	45.700	46.500	+ 800
N 64	20.600	20.500	- 100
N 65	20.600	21.000	+ 400
N 66	19.000	19.000	0
N 67	22.000	21.300	- 700
N 72	19.700	19.700	0
N 68	19.500	20.000	+ 500
N 69	18.700	19.000	+ 300
N 60	20.700	22.000	+ 1.300
N 70	20.500	20.700	+ 200
N 71	19.500	18.100	- 1.400
C. A. 110	44.300	56.500	+ 12.200
C. A. 74	58.700	75.500	+ 16.800
C. A. 75	51.000	53.200	+ 2.200
C. A. 173	52.000	51.800	- 200
C. A. 159	55.000	60.000	+ 5.000
C. A. 73	48.000	49.500	+ 1.500
C. A. 160	55.000	54.300	- 700
C. A. 169	46.000	65.000	+ 19.000
C. A. 166	54.000	51.000	- 3.000
C. A. 123	53.200	59.400	+ 6.200
C. I. 44	45.600	60.000	+ 14.400
C. I. 24	44.700	48.200	+ 3.500
C. I. 26	41.500	53.200	+ 11.700
C. I. 36	55.500	54.600	- 900
C. I. 31	48.500	43.500	- 5.000
C. I. 33	45.500	41.200	- 4.300
		Total	+ 79.700

(*) Veja legenda do Quadro I.

FERMENTAÇÃO GIBERELÍNICA. INFLUÊNCIA DA CONCENTRAÇÃO DE SACAROSE DO SUBSTRATO SÔBRE A BIO-SÍNTESE DO ÁCIDO GIBERÉLICO

ALCIDES SERZEDELLO e NELSON WHITAKER (*)

Instituto Zimotécnico
Universidade de S. Paulo — Piracicaba

INTRODUÇÃO

A produção microbiológica de giberelinas continua sendo o único meio de obtenção desses compostos estimuladores do crescimento de vegetais. Diversas firmas americanas estão se aperfeiçoando nesse mister e já incluem as giberelinas nas suas linhas de produtos comerciais. A despeito de tal progresso, porém, pouco se conhece a respeito da bio-síntese das giberelinas e continua ainda, de certo modo, baixo o rendimento da fermentação, o que limita sobremodo o uso do produto, pelo alto preço a que é vendido.

A presente publicação relata o resultado da aplicação do sistema da alimentação lenta usado noutras fermentações de fungos — penicilínica por exemplo — para o caso do *Fusarium moniliforme* (*Gibberella fujikuroi*), no concernente à fonte de carbônio.

REVISÃO DA LITERATURA

Os primeiros trabalhos sôbre a fermentação giberelínica foram feitos pelos cientistas japoneses e apontam rendimentos da ordem de 8 mg de giberelina por litro de substrato, em cultura de superfície (STOWE & YAMAKI, 1957). Logo depois, passando para o tipo de cultura submersa, o rendimento subiu para 17 mg por litro.

(*) Enderêço atual: Escola Prática de Agricultura de Jaboticabal, Jaboticabal — Est. de São Paulo.

Quando os pesquisadores americanos começaram a investigar neste campo, logo relataram rendimentos de 20 mg de giberelina por litro de cultura (STODOLA *et al.*, 1955).

BORROW *et al.* (1955), trabalhando com estirpes selecionadas de *Fusarium moniliforme*, relatam uma produção de 200 mg por litro.

Quando este trabalho já estava pronto tivemos conhecimento da existência de uma patente australiana oferecendo rendimento de 544 mg de giberelina por litro de cultura (STOWE & YAMAKI, 1957), assim como de uma patente alemã, com rendimento de 620 mg (KOLBE, 1959).

MATERIAL E MÉTODO

O microrganismo usado foi o *Fusarium moniliforme* 1135, citado por BORROW *et al.* (1955), obtido do Commonwealth Mycological Institute, Kew, Inglaterra.

As fermentações foram realizadas em frascos de Erlenmeyer de 500 ml colocados em agitador rotativo, numa sala de temperatura controlada para 25-27°C. Em cada frasco, 200 ml de substrato com 10% de inóculo pré-desenvolvido em condições semelhantes.

O substrato empregado foi o de BORROW *et al.* (1955), usando-se 4% de sacarose comercial (açúcar refinado) como fonte de carbônio.

A duração das fermentações foi de 42 dias, tomando-se amostras diárias para as determinações seguintes:

- a) pH, em potenciômetro Cambridge, modelo portátil.
- b) Concentração de giberelinas: por meio da fluorescência azul produzida pela reação do ácido giberélico com ácido sulfúrico concentrado, observando-se sob uma lâmpada ultravioleta Hannovia. Para este ensaio, preparamos uma série de tubos contendo 0,1 ml de solução de ácido giberélico puro, (marca Pfizer) formando uma série das seguintes concentrações:

5 p.p.m.	50 p.p.m.	150 p.p.m.
10 p.p.m.	75 p.p.m.	200 p.p.m.
20 p.p.m.	100 p.p.m.	400 p.p.m.

Fazendo uma comparação visual sob a luz ultravioleta, determinamos a concentração das nossas amostras com certa aproximação.

Para tal ensaio basta colocar num tubinho de reação : 0,1 ml da amostra mais 0,1 ml de H₂SO₄ conc. para que se forme imediatamente a fluorescência azul.

Paralelamente realizamos um bio-ensaio qualitativo com as amostras das fermentações para comprovar os resultados das determinações por fluorimetria.

c) Pêso do micélio sêco a 100-105°C.

d) Açúcares residuais no substrato, pelo método de redução de LUFF, modificado por SCHOORL (1929).

e) Nitrogênio total no substrato, por micro-Kjeldahl.

Os frascos de fermentação foram divididos em quatro grupos, com três frascos em cada grupo :

A — frascos nos quais se adicionou sacarose a 2,5%

B — frascos nos quais se adicionou sacarose a 12,5%

C — frascos nos quais se adicionou sacarose a 25,0%

D — frascos nos quais se adicionou sacarose a 50,0%

Em cada um desses grupos de três frascos, um foi conservado como testemunha, não recebendo, portanto, adição de sacarose.

A adição extra de sacarose foi feita em intervalos de 12 horas, a partir do 9.º dia de cultivo, na proporção de 2 ml das soluções de sacarose, antes preparadas e esterilizadas. Dêsse modo, as culturas recebiam as seguintes quantidades de açúcar, cada 12 horas :

Tratamento	Açúcar recebido por frasco de cultivo cada 12 horas
A	0,05
B	0,25
C	0,50
D	1,00

RESULTADOS

Sabíamos, de ante-mão que, de modo geral, as condições que são propícias para o desenvolvimento do micélio dos fungos são, concomitantemente adversas para a produção de certos metabólitos de interesse econômico (FOSTER, 1949) e vice-versa. Tal fato já é perfeitamente explorado na fermenta-

ção penicilínica e noutras, onde os microrganismos são mantidos no estado chamado de penúria alimentar, fornecendo assim os melhores rendimentos.

A aplicação desta idéia na fermentação giberelínica foi bem sucedida, pois, nos frascos de fermentação, onde o micélio havia praticamente esgotado o substrato, ao iniciarmos uma adição parcimoniosa de sacarose, o rendimento subiu de modo muito significativo, atingindo até 400 mg de giberelinas por litro de substrato, conforme ilustra a tabela n. 1.

Nessa mesma tabela n. 1 podemos ver que a testemunha, isto é, onde não se fez adição extra de sacarose, o rendimento atingiu pouco mais que 60 mg por litro. E ainda mais, podemos observar que a concentração da solução alimentadora de sacarose também tem importância, pois a dose de 25% sobressaiu-se das de 2,5 de 12,5 e de 50%, sendo as duas primeiras deficientes e a terceira excessiva.

As concentrações finais de açúcares redutores totais nos substratos filtrados foram as seguintes :

Testemunha	0,00 %
A	0,00 %
B	0,00 %
C	0,47 %
D	8,30 %

A figura 1 representa a média da marcha geral das fermentações que receberam solução extra de sacarose a 25%.

Pela tabela n. 2, vemos que os frascos do tratamento C (solução de sacarose a 25%), juntamente com os do tratamento D (solução de sacarose a 50%) apresentaram os maiores pêsos de micélio seco.

As tabelas ns. 3 e 4 apresentam as variações do pH e do nitrogênio residual nos substratos em todos os tratamentos.

DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

O experimento que está sendo relatado tem uma duração de 42 dias. Fizemos com que as fermentações se prolongassem tanto para verificar se o rendimento se modificava com um prazo vital mais longo e observamos que a partir do 24.º dia de cultivo não há mais aumento na concentração de ácido giberélico nos substratos (tabela n. 1).

TABELA N. 1

Metabolismo do *Fusarium moniliforme* 1135, na produção de ácido giberélico.
 Experimento de adição lenta de sacarose após completo desenvolvimento micelial.
 Conteúdo de ácido giberélico no substrato, em mg por litro.

Dias de cultivo	0	2	3	4	5	8	9	10	12	14	24	28
Testemunha	0	0	20	40	40	45	50	50	62,5	62,5	62,5	62,5
A	0	0	20	40	40	45	50	50	50	50	50	50
B	0	0	20	40	40	45	50	50	50	50	100	100
C	0	0	20	40	40	45	50	50	100	150	400	400
D	0	0	20	40	40	45	45	50	—	—	—	—

A — Frascos nos quais se adicionou solução de sacarose a 2,5%

B — Idem, idem a 12,5%

C — Idem, idem a 25%

D — Idem, idem a 50%

TABELA N. 2

Metabolismo do *Fusarium moniliforme* 1135, na produção de ácido giberélico.
 Experimento de adição lenta de sacarose após completo desenvolvimento micelial.

Pêso do micélio sêco, em gramas por litro

Dias de cultivo	0	2	3	4	5	8	9	10	12	14	24	28
Testemunha	5,43	9,46	10,51	12,58	9,94	8,05	8,40	6,85	7,08	5,24	2,69	3,46
A	5,37	8,24	9,53	10,36	9,31	6,85	7,42	6,85	6,03	6,03	3,73	4,13
B	6,00	10,46	9,71	11,96	10,39	9,00	9,10	8,50	12,18	11,28	11,76	10,33
C	4,12	9,89	10,21	11,53	9,24	8,45	10,56	10,74	9,18	13,28	13,16	13,23
D	6,64	8,74	10,71	11,10	9,10	7,15	9,60	8,28	10,14	8,42	11,76	13,43

A — Frascos nos quais se adicionou solução de sacarose a 2,5%

B — Idem, idem a 12,5%

C — Idem, idem a 25%

D — Idem, idem a 50%

TABELA N. 3

Metabolismo do *Fusarium moniliforme* 1135, na produção de ácido giberélico.
 Experimento de adição lenta de sacarose após completo desenvolvimento micelial.

Valores do pH da cultura

Dias de cultivo		0	2	3	4	5	8	9	10	12	14	24	28
Tratamento													
Testemunha		5,06	3,52	3,98	5,44	6,21	8,01	7,64	7,67	7,59	8,51	8,93	8,64
A		5,00	3,54	3,61	3,54	5,08	8,11	7,64	7,79	8,24	8,19	8,45	8,47
B		5,13	3,54	3,67	5,64	6,42	7,92	6,96	6,63	5,97	5,55	5,20	5,53
C		5,00	3,58	3,69	5,65	6,71	8,05	6,09	5,17	6,88	5,58	4,53	4,48
D		5,10	3,59	3,60	5,24	6,59	7,94	4,82	4,38	4,22	4,65	4,36	4,29

A — Frascos nos quais se adicionou solução de sacarose a 2,5%

B — Idem, idem a 12,5%

C — Idem, idem a 25%

D — Idem, idem a 50%

TABELA N. 4

Metabolismo do *Fusarium moniliforme* 1135, na produção de ácido giberélico.

Experimento de adição lenta de sacarose após completo desenvolvimento micelial.

Conteúdo de N total no substrato, em gramas por litro

Dias de cultivo	0	2	3	4	5	8	9	10	12	14	24	28
Testemunha	1,50	0,84	0,52	0,19	0,13	0,28	0,32	0,30	0,28	0,34	0,36	0,27
A	1,38	0,91	0,64	0,36	0,29	0,40	0,42	0,36	0,36	0,31	—	0,38
B	1,49	0,84	0,52	0,16	0,03	0,27	0,30	0,18	0,07	0,07	0,04	0,06
C	1,50	0,85	0,50	0,22	0,14	0,29	0,30	0,09	0,21	0,04	0,06	0,08
D	1,54	0,88	0,53	0,25	0,14	0,35	0,24	0,35	0,44	0,41	0,38	0,22

A — Frascos nos quais se adicionou solução de sacarose a 2,5%

B — Idem, idem a 12,5%

C — Idem, idem a 25%

D — Idem, idem a 50%

12 hours, the yield of gibberellins increased from 50 mg to 400 mg per liter, after 15 days from the beginning of the slow feeding.

Although the experiment was prolonged over 42 days, the yield of gibberellins remained stationary after the 24th day of fermentation.

The slow feeding began after the 9th day of fermentation.

LITERATURA CITADA

- BORROW, A., P. W. BRIAN, V. E. CHESTER, P. J. CURTIS, H. G. HEMMING, C. HENEGAN, E. G. JEFFREYS, P. B. LLOYD, I. S. NIXON, G. L. F. NORRIS & M. RADLEY, 1955 — Gibberellic acid, a metabolic product of the fungus *Gibberella fujikuroi*: some observations on its production and isolation. *J. Sci. Food Agric.* 6 (6): 340-348.
- FOSTER, J. W. 1949 — *Chemical activities of fungi*, Academic Press Inc. Publishers, New York.
- KOLBE, W., 1959 — Zur Frage der Anwendung der Gibberelline im praktischen Pflanzenbau. *Z. f. Acker u. Pflanzenbau* 107: 147-170.
- SCHOORL, N., 1929 — *Z.* 57: 566, citado em BOEMER & outros.
- BOEMER, A., A. JUCKENACK & J. TILLMANS, 1935 — *Handbuch der Lebensmittelchemie. II Band. Allgemeine Untersuchungsmethoden zweiter Teil. Chemische und Biologische Methoden.* Verlag Springer, Berlin, pág. 871.
- STODOLA, F. H., K. B. RAPER, D. I. FENNEL, H. F. CONWAY, V. E. SOHNS, C. T. LANGFORD & R. W. JACKSON, 1955 — The microbiological production of gibberellins A and X. *Arch. Biochem. Biophys.* 54 (1): 240-245.
- STOWE, B. B. & T. YAMAKI, 1957 — The history and physiological action of the gibberellins. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 8: 181.

AGRADECIMENTOS

Somos gratos ao Prof. W. L. LOTT, do IBEC Research Institute, pela doação de uma amostra de giberelinas para pesquisa e usada neste trabalho.