



REGENERAÇÃO *IN VITRO* DE UM ANFIDIPLÓIDE DE AMENDOIM COM BAIXA CAPACIDADE GERMINATIVA

Mauricélia Macário Alves², Julita Maria Frota Chagas de Carvalho¹, Roseane Cavalcanti dos Santos¹,
Iara Cristina da Silva Lima²

¹Embrapa Algodão, julita@cnpa.embrapa.br; caval@cnpa.embrapa.br, ²Estagiárias da Embrapa Algodão, graduandas do curso de Ciências Biológicas da UEPB, maury_macario@hotmail.com, iara.cristina19@gmail.com,

RESUMO: Sementes de um anfidiplóide de amendoim foram testadas quanto a recuperação *in vitro* da germinabilidade através de meio de cultivo contendo ácido giberélico (GA3). Os ensaios foram conduzidos no Laboratório de Cultivo de Tecido da Embrapa Algodão, em parcelas constituídas por tubos de ensaio, cada um contendo um eixo embrionário. As sementes foram previamente desinfestadas, permanecendo imersas em água adicionada ou não de 0,5mg.L⁻¹ de GA3 por 24 e/ou 48 horas. Posteriormente, os eixos embrionários excisados foram cultivados em meio básico MS e/ou MS + 0,1mg.L⁻¹ de GA3. Após a inoculação dos eixos embrionários em meio MS acrescido ou não de GA3, os tubos foram colocados em câmara de crescimento até iniciar a germinação e, posteriormente, sob condições de luminosidade com irradiância de 40µmol.m⁻².s⁻¹, fotoperíodo de 16 horas e temperatura 25±2°C. As avaliações foram realizadas aos 7, 14 e 21 dias, observando-se o desenvolvimento dos eixos radicular, apical e tamanho das plântulas. Verificou-se, entre os tratamentos testados, que a embebição previa de sementes de Baio forrageiro em água contendo 0,5mg.L⁻¹ de GA3, por 24hs, seguida de inoculação dos explantes em meio MS (T5), possibilitou melhor resposta para regeneração das plantas.

Palavras – chave: *Arachis hypogaea*, germoplasma, cruzamento, germinabilidade

INTRODUÇÃO

O gênero *Arachis* é composto de mais de 80 espécies, porém, apenas *A. hypogaea* tem elevado valor econômico em nível mundial (VALLS, 2005). Várias espécies do gênero são originárias do Brasil, tornando este fato de grande relevância para o melhoramento genético da cultura.

No aspecto reprodutivo, o amendoim é uma planta alotetraplóide, que se reproduz quase exclusivamente por autogamia (SANTOS et al., 2005). Os trabalhos envolvendo cruzamentos interespecíficos com a espécie cultivada e seus ancestrais diplóides são raros, devido a alguns fatores,





tais como: baixa frequência de pegamento, incompatibilidade cromossômica, infertilidade entre híbridos gerados, fenótipos indesejáveis no aspecto agrônomo, entre outros.

Em 2001, a Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia (Cenargen) gerou populações de anfidiplóides sintéticos envolvendo as espécies *A. hypogaea* e os diplóides duplicados *A. duranensis* e *A. ipaënsis* (FÁVERO, 2001). Populações destes híbridos, já retrocruzadas com a espécie cultivada, foram encaminhadas em 2004 para Embrapa Algodão para trabalhos de seleção no programa de melhoramento. Com o avanço dos trabalhos de seleção, uma linhagem foi selecionada em 2007, denominada Baio forrageiro, de hábito rasteiro, vagens com duas sementes bege e com moderada constrição, sendo mais indicada para fins forrageiros. Após padronização das sementes, o germoplasma foi armazenado durante dois anos em câmara fria para posterior ensaios. Ao testar-se a germinabilidade do material, contudo, detectou-se baixíssimo poder de germinação e vigor pelos métodos convencionais, comprometendo a manutenção do germoplasma.

O presente trabalho teve como objetivo recuperar sementes da linhagem Baio forrageiro, por meio de técnicas de regeneração *in vitro*, utilizando-se meio de cultivo associado ou não ao ácido giberélico.

METODOLOGIA

Os ensaios foram realizados no Laboratório de Cultivo de Tecidos Vegetais, no setor de Biotecnologia da Embrapa Algodão, em Campina Grande, PB, em 2010.

Sementes da linhagem Baio forrageiro foram previamente desinfestadas conforme descrito em Carvalho et. al. (2005), permanecendo imersas em água adicionada ou não de $0,5\text{mg.L}^{-1}$ de ácido giberélico (GA3) por 24 e 48 horas. A seguir, foram retirados os eixos embrionários das sementes em câmara de fluxo laminar e, em seguida, inoculados em tubos de ensaio de 25×150 mm contendo 10mL de meio MS (MURASHIGE e SKOOG, 1962), contendo sais e vitaminas, suplementados com e/ou $0,1\text{mg.L}^{-1}$ de GA3. As sementes foram divididas em 8 tratamentos nas seguintes combinações de período de imersão x meios de cultivo: T1 - sementes sem tegumento (SST), embebidas em água por 24h e eixos embrionários inoculados (EE) em meio MS; T2 - SST embebidas em água por 48h e EE inoculados em meio MS; T3 - SST embebidas em água por 24h e EE inoculados em meio MS + $0,1\text{mg.L}^{-1}$ de GA3; T4 - SST embebidas em água por 48h e EE inoculados em meio MS + $0,1\text{mg.L}^{-1}$ de GA3; T5 - SST embebidas em água + $0,5\text{mg.L}^{-1}$ de GA3 por 24h e EE inoculados em meio MS; T6 - SST embebidas em água + $0,5\text{mg.L}^{-1}$ por 48h e EE inoculados em MS; T7 - SST embebidas em água +





0,5mg.L⁻¹ de GA3 por 24h e eixos embrionários inoculados em meio MS + 0,1mg.L⁻¹ de GA3; T8 - SST embebidas em água + 0,5mg.L⁻¹ por 48h e EE inoculados em meio MS + 0,1mg.L⁻¹ de GA3.

Todos os tratamentos foram suplementados com 30g.L⁻¹ de sacarose, 5,5g.L⁻¹ de agar e pH ajustado para 5,8 antes da autoclavagem, a 120°C, durante 20 minutos, e/ ou MS acrescido de 0,1mg.L⁻¹ de GA3.

O experimento foi instalado em delineamento inteiramente casualizado num fatorial 2x2x2 (dois tempos de imersão, dois tipos de imersão e dois meios de cultivo), constituído de três repetições, sendo cada uma composta por 10 tubos de ensaio e cada tubo contendo um eixo embrionário.

Após a inoculação dos eixos embrionários em meio básico MS acrescido ou não de GA3, foram colocados em câmara de crescimento no escuro até iniciar a germinação e, posteriormente, sob condições de luminosidade com irradiância de 40µmol.m⁻².s⁻¹, fotoperíodo de 16 horas e temperatura variando de 25±2°C.

As avaliações foram realizadas aos 7, 14 e 21 dias, observando-se o desenvolvimento dos eixos radicular, apical e tamanho das plântulas nos meios de culturas. Quando as plantas estavam totalmente desenvolvidas, foram aclimatadas e mantidas em casa de vegetação onde procederam o desenvolvimento de forma convencional. Os dados obtidos foram transformados em $\sqrt{x} + 0,5$ e submetidos a análise estatística utilizando-se o programa GENES versão 2007 (CRUZ, 2006).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos para emissão da radícula, emissão do eixo apical e tamanho dos explantes encontram-se na Figura 1. Verificou-se que em todos os tratamentos onde as sementes foram submetidas a embebição em água por 48h (T2, T4, T6 e T8), independente da adição de GA3, nenhuma plântula foi recuperada, indicando, possivelmente, que a exposição da semente a água por 48 hs pode ter levado a anoxia celular dos embriões. Por outro lado, constata-se que a embebição previa da semente em água contendo 0,5mg.L⁻¹ de GA3, por 24hs, seguida de inoculação dos explantes em meio MS (T5), possibilitou melhores condições para regeneração das plantas da Baio forrageiro, sem suplementação adicional deste hormônio, como visto no T7.

Com os valores obtidos por meio dos tratamentos utilizados neste trabalho percebe-se que os números de radículas e eixos axilares foram baixos, podendo ser um reflexo da baixa viabilidade das sementes. No entanto, apesar das giberelinas serem hormônios vegetais com larga





atividade no crescimento caulinar e quebra da dormência (MATUSUMOTO, 2000), é possível que um arranjo envolvendo outros hormônios possa contribuir para elevar a taxa de regeneração de plantas desta linhagem.

CONCLUSÃO

A embebição previa de sementes de Baio forrageiro em água contendo 0,5mg.L⁻¹ de GA3, por 24hs, seguida de inoculação dos explantes em meio MS (T5), possibilita melhor resposta para regeneração das plantas.

REFERÊNCIAS

CARVALHO, J. M. F. C.; CASTRO de, J. P.; FURTADO, C.M.; SUASSUNA, F.M.F.; SANTOS, J. W.; SANTOS, T.S.; Regeneração de germoplasma de amendoim (*Arachis hypogaea*) *in vitro*. Comunicado técnico, nº 237. p. 1-4, Abril, 2005.

FÁVERO, A.P. 2004. Cruzabilidade entre espécies silvestres de *Arachis* visando à introgressão de genes de resistência a doenças no amendoim cultivado. Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura 'Luiz de Queiroz', Universidade de São Paulo, Piracicaba. 165 p.

CRUZ, C.D. Programa Genes: Análise multivariada e simulação. Editora UFV. Viçosa (MG). 175p. 2006.

MATSUMOTO, K. Giberelinas. In: CID, L.P.B. Introdução aos hormônios vegetais. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2000.180p.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F.A.; Revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiologia Plantarum*, v. 15, p. 473-497, 1962.

SANTOS, R. C., GODY, J. I., FÁVERO, A. P. Melhoramento do amendoim. In: SANTOS, R. C. O agronegócio do amendoim no Brasil. Embrapa, Campina Grande, 2005, p 193-244.

VALLS, F.J.M. Recursos genéticos do gênero *Arachis*. In: SANTOS, R. C. O agronegócio do amendoim no Brasil. Embrapa, Campina Grande, p. 45-70.



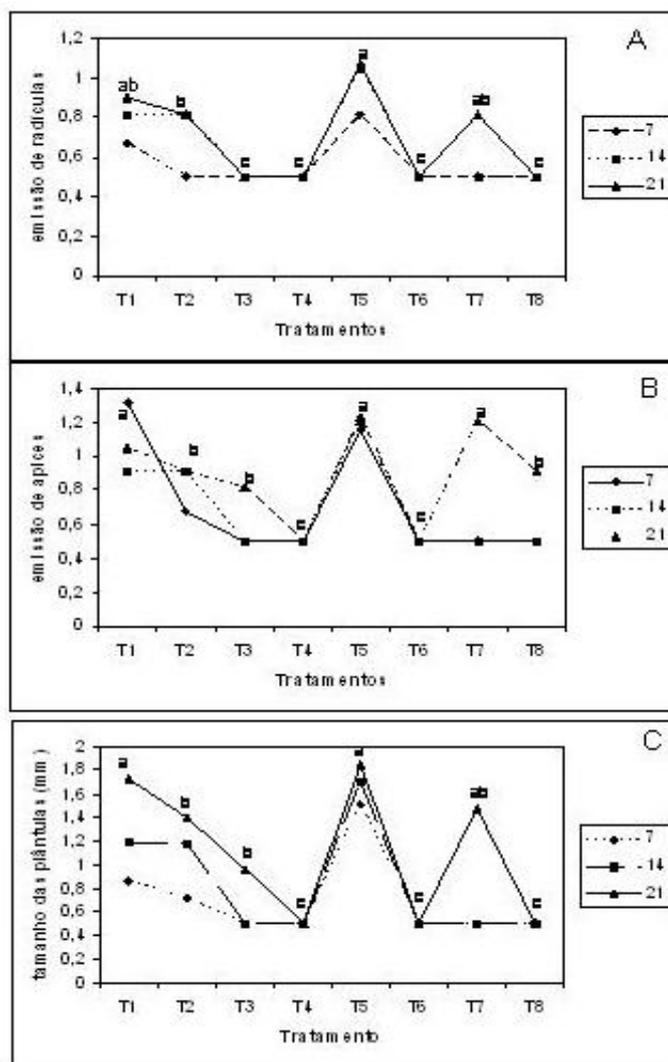


Figura 1. Número de radículas emitidas, de eixos apicais e tamanho de plântulas da linhagem Baio forrageiro em função dos tratamentos nos quais as sementes e explantes foram submetidos. T- tratamentos (ver material e métodos). Médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente entre tratamentos pelo teste de Tukey ($p < 0.05$).