



## REGENERAÇÃO IN VITRO DE ACESSOS DO BANCO ATIVO DE GERMOPLASMA DE MAMONA

Iara Cristina da Silva Lima<sup>2</sup>, Julita Maria Frota Chagas de Carvalho<sup>1</sup>, Máira Milani<sup>1</sup>, Mauricélia Macário Alves<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Embrapa Algodão, julita@cnpa.embrapa.br, maira@cnpa.embrapa.br; <sup>2</sup>Estagiárias da Embrapa Algodão, graduandas do curso de Ciências Biológicas da UEPB, iara.cristina19@gmail.com, maury\_macario@hotmail.com

**RESUMO** – As sementes de mamona perdem rapidamente o percentual de germinação. Assim, muitas vezes sementes do banco de germoplasma armazenadas por longo tempo precisam ser regeneradas *in vitro*. Objetivou-se regenerar, *in vitro*, diferentes acessos do Banco Ativo de Germoplasma de Mamona. As sementes foram desinfestadas e imersas em água bidestilada estéril por 24 horas. Posteriormente, os eixos embrionários excisados em câmara de fluxo laminar foram cultivados em meio básico MS acrescido com 30g.L<sup>-1</sup> de sacarose, 5,5g.L<sup>-1</sup> de ágar. Estes foram colocados em câmara de crescimento no escuro até iniciar a germinação e, posteriormente, sob condições de luminosidade com irradiância de 40µmol.m<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup>, fotoperíodo de 16 horas e temperatura 25±2°C. Do total de acessos utilizados, todos foram regenerados e das plantas encaminhadas para aclimação, todas foram recuperadas.

**Palavras-chave** – *Ricinus communis* L., cultura de tecidos, regeneração.

## INTRODUÇÃO

A mamoneira é uma espécie oleaginosa pertencente à família das euforbiáceas. Trata-se de uma espécie de ampla distribuição geográfica ocorrendo, no Brasil, de forma muito frequente (SAVY FILHO, 1999). A mamona (*Ricinus communis* L.) situa-se entre as oleaginosas mais significativas da atualidade, visto que suas sementes, depois de industrializadas, dão origem à torta e ao óleo da mamona que, entre as diversas utilidades, é empregado na indústria de plástico, siderúrgica, saboaria, perfumaria, curtume, tintas e vernizes, além de ser excelente óleo lubrificante para motores de alta rotação e carburante de motores a diesel (RURAL NEWS, 2003).

Por muito tempo, o óleo de rícino foi utilizado para geração de luz (energia) e para fins medicinais (purgativo e unguento para as moléstias das articulações, inflamações em geral, dor de ouvido e assaduras). Nas décadas de 1970 e 1980, a mamona, assim como outras fontes renováveis de energia, ganhou destaque pela possibilidade de utilização como substituto dos derivados do





petróleo (FREITAS e FREDO, 2005). O biodiesel do óleo da mamona criou uma perspectiva real para a expansão do cultivo da mamona, em escala comercial no semiárido brasileiro, principalmente na agricultura familiar, que já tem tradição no cultivo desta oleaginosa, uma vez que se tem buscado a sustentabilidade ambiental, com base na substituição progressiva dos combustíveis minerais derivados do petróleo, responsáveis diretos pelo efeito estufa, por combustíveis renováveis de origem vegetal (BELTRÃO et al., 2006).

A cultura de tecidos é feita a partir de um explante que é todo segmentado de tecido ou órgão vegetal utilizado para iniciar uma cultura *in vitro*. Pode ser usado um fragmento de folha, de raiz, de caule ou de qualquer tecido que responda as condições de indução do meio de cultura, com vista a regeneração vegetal (TORRES et al., 2000). O meio de cultura é constituído de todos os nutrientes necessário para o desenvolvimento da planta, assim como uma fonte de carbono e também se podem utilizar vitaminas e reguladores de crescimento (ANDRADE, 2002). As técnicas de cultura de tecidos têm sido empregadas de diferentes formas no desenvolvimento de cultivares superiores de plantas. Em geral, essas técnicas são utilizadas em uma ou outra etapa do melhoramento, não, necessariamente, no desenvolvimento direto de novas cultivares. Mas podem oferecer novas alternativas aos programas de melhoramento em suas diferentes fases e, muitas vezes, oferecem soluções únicas. (FERREIRA et al., 1998).

Objetivou-se, neste trabalho, regenerar *in vitro* sementes do Banco Ativo de Germoplasma de Mamona com baixa germinação em condições convencionais.

## METODOLOGIA

O trabalho foi realizado no Laboratório de Cultivo de Tecidos Vegetais, no setor de Biotecnologia da Embrapa Algodão, em Campina Grande, PB; nos meses de novembro de 2009, dezembro 2009 e janeiro de 2010.

As sementes dos acessos foram provenientes do Banco Ativo de Germoplasma (BAG) da Embrapa Algodão. Foram utilizados 35 acessos, divididos em 3 lotes, e com número de sementes entre 4 e 5 (Tabela 1).

Sementes dos acessos de mamona foram lavadas em água corrente e, retirados os tegumentos, desinfestadas em hipoclorito de sódio a 2,5% de cloro ativo durante 20 minutos e, após a desinfestação, as sementes foram lavadas três vezes, em água esterilizada, permanecendo imersas





em água por 24 horas (CARVALHO et al. 2000, 2002). Posteriormente, em câmara de fluxo laminar, foram retirados os eixos embrionários das sementes e, em seguida, cultivados em meio MS (MURASHIGE e SKOOG, 1962) sem reguladores de crescimento acrescido com  $30\text{gL}^{-1}$  de sacarose,  $5,5\text{gL}^{-1}$  de ágar e pH ajustado para 5,8 antes da autoclavagem, a  $120^{\circ}\text{C}$ , durante 20 minutos.

Mantiveram-se os eixos embrionários inoculados em tubos de ensaio contendo meio básico MS, em câmara escura, até iniciar a germinação e, posteriormente, sob condições de luminosidade com irradiância de  $40\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ , fotoperíodo de 16 horas e temperatura  $25\pm 2^{\circ}\text{C}$  por 30 dias.

Após este período foi avaliado a percentagem de plântulas desenvolvidas, dos acessos utilizados. Quando as plântulas apresentavam os primeiros pares de folhas verdadeiras e as raízes, foram transplantadas para copos plásticos, contendo um substrato esterilizado compostos com duas partes de turfa e vermiculita na proporção de 2:1. De cada acesso regenerado, duas plantas foram submetidas a aclimação.

Os dados de germinação foram avaliados pelo teste qui-quadrado, em que a Hipótese nula é que a variação entre proporções observadas e esperadas é devida ao acaso e a hipótese um é que os desvios não são devidos ao acaso. Já para avaliar se o lote teve influência na regeneração foi feito a análise estatística considerando cada acesso como uma repetição e o delineamento inteiramente casualizado.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Do total de acessos utilizados, todos foram regenerados. NO entanto, alguns tiveram menor percentagem de regeneração do que outros (Tabela 1). O número de sementes regeneradas foi superior à quantidade de sementes não regeneradas e contaminadas, demonstrado que os embriões delas ainda estavam vivos. A não regeneração de alguns acessos pode ser justificado pelo fato do embrião já estar morto e outros por apresentarem microorganismos nos embriões não sendo possível eliminá-los através da desinfestação das sementes (CARVALHO, 2005). Das plântulas que foram encaminhadas para aclimação, houve 100% de recuperação das plantas (tabela 1). Para aclimação não foi feita análise em virtude do observado ser igual ao esperado.

Com relação ao lote, não foi observada diferença estatística entre eles (Tabelas 2 e 3) indicando que independentemente da época que as plantas são regeneradas ou das pessoas que





realizam o procedimento, desde que siga a metodologia, não há variação significativa. Isto demonstra alta eficiência do método utilizado.

## CONCLUSÃO

Todos os acessos do banco ativo de germoplasma obtiveram plântulas regeneradas utilizando-se a técnica de cultivo *in vitro*.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDRADE, S. R. M. de; Princípios da cultura de Tecidos Vegetais. Platina: Embrapa Cerrados, 2002. p. 7-9. ISSN 1517-5111.

CARVALHO, J.M.F.C.; MORAES, A.M.; ANDRADE W.F.de ; NÓBREGA, M.B.M de; SANTOS, J.W. dos. Melhoria da Germinação das Sementes de Mamoneira (*Ricinus comunis* L.) *in vitro*, através da quebra de dormência e desinfestação. Comunicado Técnico, n. 125. p.1-4, out., 2000.

CARVALHO, J.M.F.; COSTA, N.; VIDAL, M.S.; SOUSA, D.M. Regeneração dos acessos do BAG de Algodão a partir de Embrião Zigótico. Comunicado Técnico, nº 251. p.1-3, nov., 2005.

CARVALHO, J.M.F.C.; PIO, K.B. Metodologia de Regeneração do Germoplasma de mamona Partir de sementes Sem Capacidade de Germinação *in vitro*. Comunicado Técnico, n. 168. p.1-3, dez., 2002.

FERREIRA, M. E.; CALDAS, L. S.; PEREIRA, E. A.; Aplicações da cultura de tecidos no melhoramento genético de plantas. 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. 21-44.

FREITAS, S. M. de; FREDO, C. D.; Biodiesel à base de óleo da mamona: algumas considerações. Revista Informações Econômicas, SP, v.35, n.1, jan. 2005.

GRATAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A. L.; CALDAS, L. S. (Ed.). Técnicas e aplicações da cultura de tecidos de plantas. Brasília, DF: ABCTP: EMBRAPA - CNPH, 1990, p. 89-164.

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







RURAL NEWS. Agricultura e outras culturas – mamona. Disponível em:<<http://www.ruralnews.com.br/agricultura/outras/index 2.htm./>> Acesso em: 02 abr. 2010.

SAVY FILHO, A. Melhoramento da mamona. In: Borém, A. (Ed.). Melhoramento de espécies cultivadas. Viçosa, MG: Editora da Universidade Federal de Viçosa, 1999. p. 385-407.

TORRES, A.C.; FERREIRA, A. T.; SÁ, F.G.; BUSO, J. A.; CALDAS, L. S.; NASCIMENTO, A. S.; BRÍGIDO, M.M.; ROMANO, E. Glossário de biotecnologia vegetal. Brasília: Embrapa Hortaliças, 2000. 128 p.





Tabela 1 – Número de sementes total, plantas regeneradas e plantas aclimatadas dos acessos do Banco Ativo de Germoplasma de Mamona e teste qui-quadrado para número de plantas regeneradas.

<b>lote</b>	<b>Acessos</b>	<b>número de sementes</b>	<b>regeneradas</b>	<b>aclimatadas</b>
1	013218	4	4	2
1	013285	5	5	2
1	014028	5	3	2
1	014541	5	3	2
1	013269	5	5	2
1	013587	4	4	2
1	014567	5	4	2
1	013579	5	4	2
1	014494	4	4	2
1	014575	5	5	2
2	013498	4	4	2
2	014010	5	2	2
2	013188	5	5	2
2	014371	4	2	2
2	013617	4	4	2
2	013536	5	4	2
2	013463	5	5	2
2	013820	5	4	2
2	013129	5	5	2
2	013561	4	4	2
3	014524	5	5	2
3	013528	5	3	2
3	014061	5	5	2
3	014559	4	3	2
3	013633	4	4	2
3	013641	4	4	2
3	014036	5	5	2
3	013455	5	5	2
3	013811	5	4	2
3	013501	5	5	2
3	013544	5	5	2
3	014320	5	4	2
3	013196	5	4	2
3	014401	5	4	2
3	014443	5	4	2
<b>Total</b>		<b>165</b>	<b>144</b>	
<b>X<sup>2</sup> calculado</b>			<b>41,209</b>	
<b>X<sup>2</sup> tabelado (p=0,95; 74gl)</b>			<b>55,442</b>	





Tabela 2 – Resumo da análise de variância para os 3 lotes divididos no tempo dos acessos em regeneração do Banco Ativo de Germoplasma de Mamona.

Fonte de variação	GL	Quadrado Médio
lote	2	0,44 <sup>ns</sup>
erro	31	0,73
CV	20,76	

Tabela 3 – Teste de médias para os lotes de acessos em regeneração do Banco Ativo de Germoplasma de Mamona.

Lotes	Médias <sup>Ω</sup>
1	4,10 a
2	3,90 a
3	4,29 a

<sup>Ω</sup> Médias seguidas da mesma letra na mesma coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey (p<0,05)

