

Ministério da Agricultura,
Pecuária e Abastecimento

Boletim de Pesquisa 64
e Desenvolvimento

ISSN 0103-0841
Dezembro, 2005

**Propagação *In Vitro* e Aclimação a partir de
Sementes Inviáveis Armazenadas no Banco Ativo
de Germoplasma de Mamona**



Embrapa

República Federativa do Brasil

Luiz Inácio Lula da Silva

Presidente

Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

Roberto Rodrigues

Ministro

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

Conselho de Administração

Luis Carlos Guedes Pinto

Presidente

Silvio Crestana

Vice-Presidente

Alexandre Kalil Pires

Hélio Tollini

Ernesto Paterniani

Cláudia Assunção dos Santos Viegas

Membros

Diretoria Executiva da Embrapa

Silvio Crestana

Diretor-Presidente

Tatiana Deane de Abreu Sá

José Geraldo Eugênio de França

Kepler Euclides Filho

Diretores Executivos

Embrapa Algodão

Robério Ferreira dos Santos

Chefe Geral

Luiz Paulo de Carvalho

Chefe Adjunto de Pesquisa e Desenvolvimento

Maria Auxiliadora Lemos Barros

Chefe Adjunto de Administração

José Renato Cortéz Bezerra

Chefe Adjunto de Comunicação e Negócios



ISSN 0103-0841
Dezembro, 2005

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Centro Nacional de Pesquisa de Algodão

Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 64

Propagação *In Vitro* e Aclimação a partir de Sementes Inviáveis Armazenadas no Banco Ativo de Germoplasma de Mamona

Julita Maria Frota Chagas Carvalho¹
Carla Sibere Nogueira Ribeiro²
Humberto Silva³
José Wellington dos Santos⁴

Campina Grande, PB.
2005

Exemplares desta publicação podem ser solicitados à:

Embrapa Algodão

Rua Osvaldo Cruz, 1143 – Centenário
Caixa Postal 174
CEP 58107-720 - Campina Grande, PB
Telefone: (83) 3315-4300
Fax: (83) 3315-4367
algodao@cnpa.embrapa.br
http://www.cnpa.embrapa.br

Comitê de Publicações

Presidente: Luiz Paulo de Carvalho
Secretária: Nívia Marta Soares Gomes
Membros: Cristina Schetino Bastos
Fábio Akiyoshi Suinaga
Francisco das Chagas Vidal Neto
Gilvan Barbosa Ferreira
José Américo Bordini do Amaral
José Wellington dos Santos
Nair Helena Arriel de Castro
Nelson Dias Suassuna

Supervisor Editorial: Nívia Marta Soares Gomes
Revisão de Texto: Julita Maria Frota Chagas Carvalho
Tratamento das ilustrações: Geraldo Fernandes de Sousa Filho
Capa: Flávio Tôrres de Moura/Maurício José Rivero Wanderley
Editoração Eletrônica: Geraldo Fernandes de Sousa Filho

1ª Edição

1ª impressão (2005): 500 exemplares

Todos os direitos reservados

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

EMBRAPA ALGODÃO (Campina Grande, PB).

Propagação *In Vitro* e Aclimação a partir de Sementes Inviáveis
Armazenadas no Banco Ativo de Germoplasma de Mamona, por Julita Maria
Frota Chagas Carvalho e outros. Campina Grande, 2005.

12p. (Embrapa Algodão. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 64).

1. Mamona-Sementes-Propagação *In vitro* 2. Mamona-Sementes-
Aclimação. I. Carvalho, J.M.F.C. II. Ribeiro, C.S.N. III. Silva, H. IV. Santos,
J.W. dos. V. Título. VI. Série

CDD 633.85

© Embrapa 2005

Sumário

Resumo	6
Abstract	7
Introdução	8
Material e Métodos.....	8
Resultados e Discussão	9
Conclusões	11
Referências Bibliográficas	12

Propagação *In Vitro* e Aclimação a partir de Sementes Inviáveis Armazenadas no Banco Ativo de Germoplasma de Mamona

Julita Maria Frota Chagas Carvalho¹

Carla Sibere Nogueira Ribeiro²

Humberto Silva³

José Wellington dos Santos⁴

Resumo

A mamoneira (*Ricinus communis* L.) é uma oleaginosa de destacada importância socioeconômica, o que justifica a conservação de seu germoplasma, material que constitui a base da herança genética. As técnicas de propagação *in vitro* se adequam a programas de introdução, armazenamento e intercâmbio de germoplasma. Com este trabalho, objetivou-se propagar sementes inviáveis de acessos do Banco Ativo de Germoplasma (BAG) de Mamona através do cultivo *in vitro* e a adaptação em processo de aclimação. As sementes dos 21 acessos do BAG foram desinfestadas em hipoclorito de sódio a 2,5% de cloro ativo durante vinte minutos e lavadas em água bidestilada estéril, permanecendo imersas durante 24 horas; posteriormente, retirou-se das sementes os eixos embrionários e cultivados em meio Murashige e Skoog (MS), com 30g/l sacarose, 0,55% de ágar e pH ajustado para 5,7 antes da autoclavagem a 120°C. Após o desenvolvimento, as plântulas foram transplantadas para substrato de aclimação. Observou-se regeneração de plântulas em quase todos os acessos, cujas maiores porcentagens foram encontradas em três acessos, obtendo-se 93,75, 93,75 e 62,5% de regeneração, nos demais acessos ocorreu redução na regeneração, com apenas dois acessos não se obtendo plântulas regeneradas. A aclimação foi eficaz na obtenção de plântulas sadias.

¹Eng^o Agr^o, Dr^a, Embrapa Algodão, CP. 174, CEP: 58107-720, Campina Grande, PB, E-mail: julita@cnpa.embrapa.br

²Estagiária da Universidade Estadual da Paraíba-UEPB, do Curso de Ciências Biológicas

³Eng^o Agr^o, Dr^o, Professor da Universidade Estadual da Paraíba-UEPB, Departamento de Biologia

⁴Eng^o Agr^o, MSc, Pesquisador da Embrapa Algodão, E-mail: jwsantos@cnpa.embrapa.br

Propagation In Vitro and Adaptation of Castor Beans from Stored Non Viable Seeds in the Germoplasm Seed Bank

Abstract

Castor (*Ricinus communis* L), a socioeconomic importance oleaginous, what necessary the germoplasm conservation, of genetic inheritance base constitutes matter. The introduction programs adjust it in vitro propagation techniques, storage and interchange of germoplasm. With work objective to regenerate (BAG) Castor of Germoplasm Active Bank of the accesses through the in vitro cultivation, and adaptation in acclimatization process. The seeds of the accesses of the BAG were been disinfested in 2,5% sodium hypochloride of active chloride for twenty minutes, rinsed with sterile bidistilled water, remaining immersed during 24 hours; Later, the embryonic and cultivated axes in Murashige e Skoog (MS) medium had been removed of the seeds, with 30g/l saccharose, 0.55% of agar and pH adjusted for 5,7 before the 120°C autoclavagem. After the development of plantules, had been transplant for acclimatization substratum. Were observed that in almost all the used accesses occurred regeneration of plantules, being the percentages biggest found in accesses three, getting 93,75, 93,75 and 62.5% of regeneration. In the too much accesses a regeneration reduction occurred, with only two regenerated accesses not getting plantules. The acclimatization were capable in the obtainment of healthy plantules.

Index terms: *Ricinus communis*, regeneration, culture of wovens, embryonic axles

Introdução

A mamoneira (*Ricinus communis* L.) também conhecida por carrapateira, palma - crísti e enxerida, é uma das mais de 7000 espécies da família Euforbiácea, possivelmente originária da antiga Abissínia, hoje Etiópia, no continente africano. É uma espécie perene que pode viver mais de 12 anos e atingir mais de 10 metros de altura (MOSHKIN, 1986).

A mamona vem se destacando como ótima alternativa de exploração para o semi-árido brasileiro, em função da capacidade de resistir à seca e produzir com rentabilidade. Com a possibilidade do óleo da mamona ser matéria prima para a produção de biodiesel, há excelente perspectiva da exploração desta oleaginosa no Brasil, em especial na Região Nordeste (BELTRÃO et al. 2003).

A tecnologia da cultura de tecidos é uma das áreas de grande importância da biotecnologia e vem sendo ampliada cada vez mais, visto que é conveniente que, das células e tecidos transformados, se obtenham plantas regeneradas (GYVES, 1994), além de possibilitar a produção de mudas em larga escala, de forma rápida, resultando em indivíduos geneticamente idênticos, em qualquer época do ano e em espaço físico reduzido.

Segundo o IBPGR (1991), germoplasma é o material que constitui a base da herança e se transmite de uma geração a outra, através de células reprodutivas. Em uma visão mais ampla, pode ser considerado a soma total dos materiais hereditários de uma espécie; outros ainda o definem como o indivíduo ou clone que representa uma espécie ou cultura passível de ser mantida em reservatório sendo, por esta razão, conservado para uso futuro em programas de melhoramento e estudos em genética.

Objetivou-se com este trabalho, propagar sementes inviáveis de acessos do Banco Ativo de Germoplasma de Mamona (BAG) através do cultivo "*in vitro*" e adaptar as plantas produzidas pelo processo de aclimação.

Material e Métodos

Utilizaram-se sementes de 21 acessos do Banco Ativo de Germoplasma de Mamona da Embrapa Algodão, cada um com seu respectivo BRA, que garante

sua classificação universal, sendo eles: a_1 (BRA12441), a_2 (BRA12459), a_3 (BRA12467), a_4 (BRA12475), a_5 (BRA12491), a_6 (BRA12505), a_7 (BRA12513), a_8 (BRA12521), a_9 (BRA12602), a_{10} (BRA12611), a_{11} (BRA12696), a_{12} (BRA12700), a_{13} (BRA12718), a_{14} (BRA12726), a_{15} (BRA12734), a_{16} (BRA12742), a_{16} (BRA12751), a_{17} (BRA12769), a_{18} (BRA12769), a_{19} (BRA12777), a_{20} (BRA12785) e a_{21} (BRA12793).

Das sementes retirou-se o tegumento e, posteriormente, foram desinfestadas em solução contendo hipoclorito de sódio a 2,5% de cloro ativo e uma gota de Tween 20 durante vinte minutos, lavadas 4 vezes em água bidestilada estéril e mantidas em imersão durante 24 horas na última água.

Após a desinfestação, os eixos embrionários das sementes foram retirados e inoculados em tubos de ensaio contendo 10mL do meio MS (MURASHIGE e SKOOG, 1962). 15 repetições foram utilizadas nos acessos a_1 , a_2 , a_{10} , a_{13} , a_{14} , a_{15} , 16 repetições para os acessos a_3 ao a_8 e do a_{16} ao a_{21} e 17 para os acessos a_9 e a_{11} . O meio de cultivo foi suplementado com 30 g/L de sacarose e 0,55% de ágar e o pH ajustado para 5,7, utilizando-se NaOH ou HCl antes da autoclavagem a 120 °C. As culturas permaneceram no escuro durante 72 horas e, posteriormente, foram mantidas 27 dias a 25°C, com um fotoperíodo de 16h de luz/8h de escuro e intensidade luminosa de 30 $\mu\text{mol m}^{-2}$.

Após 30 dias de cultivo, as avaliações foram realizadas considerando-se regenerados os eixos embrionários com desenvolvimento do meristema apical e radicular.

Foram aclimatadas plantas regeneradas com satisfatório desenvolvimento de 19 acessos, utilizando-se substrato contendo turfa e vermiculita, na proporção de 2:1 autoclavado durante 1h a 120 °C.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de frequência para cálculo da porcentagem de regeneração de cada acesso.

Resultados e Discussão

Observou-se que ao se inocular eixos embrionários do BAG de mamona em meio

MS, em quase todos os acessos testados ocorreu regeneração de plântulas, em que as maiores porcentagens foram encontradas para os acessos a_6 , a_{18} e a_{19} , os quais apresentaram porcentagem de 93,75, 93,75 e 62,5%, respectivamente. Nos demais acessos, o percentual de regeneração foi mais baixo, sendo que em dois acessos (a_{10} e a_{11}) não obteve-se plântula regenerada. Suspeita-se que esta baixa da porcentagem de regeneração em alguns acessos se deva ao fato das sementes do BAG apresentarem mais de dois anos de armazenamento, passando um período considerável, por condições inadequadas (fora da câmara fria), perdendo assim, a capacidade de germinação do eixo embrionário. Entretanto, apesar de ter ocorrido redução na regeneração de alguns acessos, este resultado é de grande valia, pois representa uma continuidade dos acessos do Banco Ativo de Germoplasma.

Encontram-se na Figura 2, os resultados obtidos no processo de aclimação, constatando-se que o percentual de plântulas resistentes foi satisfatório (Figura 3B) apenas no acesso a_{14} não se conseguiu fazer aclimação. Segundo Amorim Neto et. al (2001), a mamona possui boa capacidade de adaptação, por se tratar de uma planta tolerante a diferentes condições climáticas, apesar deste processo de aclimação ser considerado crítico (GRATTAPAGLIA e MACHADO, 1998).

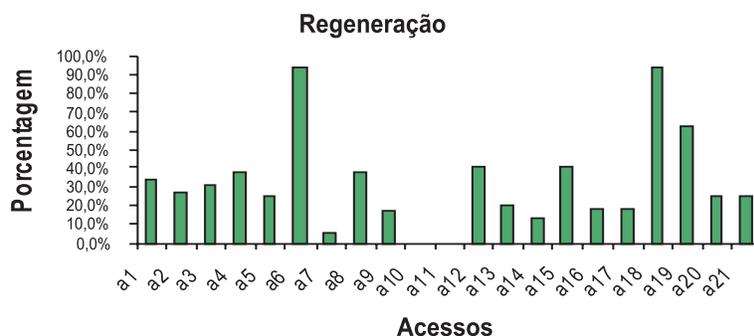


Fig. 1. Percentual de regeneração através do cultivo "in vitro" de eixos embrionários de acessos do Banco Ativo de Germoplasma de Mamona.

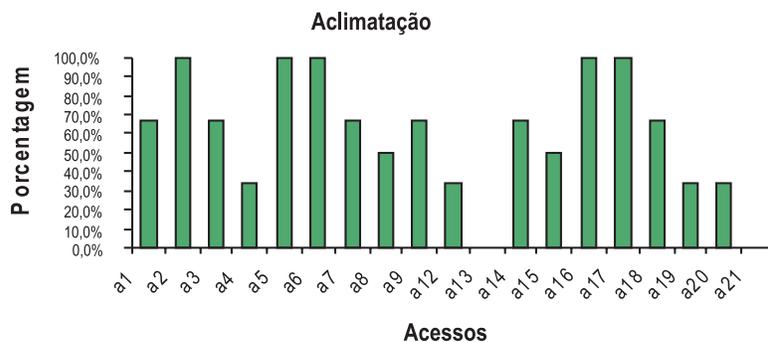


Fig. 2. Porcentagem de adaptação de plântulas de mamona regeneradas "*in vitro*" em processo de aclimação

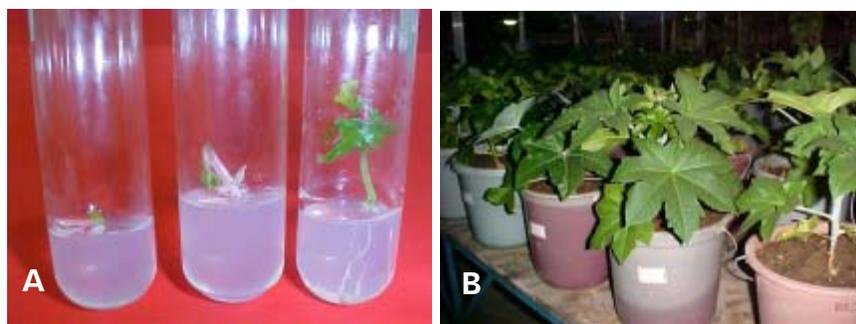


Fig. 3. Regeneração de acessos do BAG de mamona: (A) etapas do processo de regeneração: da germinação do embrião à obtenção da plântula completa; (B) aclimação das plântulas em casa de vegetação

Conclusões

- É possível propagar sementes de mamona a partir do explante eixo embrionário.
- O meio MS (Murashige e Skoog) é apropriado para regeneração do explante eixo embrionário de sementes de mamona.
- A aclimação das plântulas regeneradas é viável.

Referências Bibliográficas

AMORIM NETO, M. da S.; ARAÚJO, A.E. de; BELTRÃO, N.E. de M. Clima e Solo. In: AZEVEDO, D.M.P. de; LIMA, E.F. **O agronegócio da mamona no Brasil**. Brasília: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia, 2001. p. 63 – 76

BELTRÃO, N.E. de M.; MELO, F.B.; CARDOSO, G.D.; SEVERINO, L.S. **Mamona: árvore do conhecimento e sistemas de produção para o semi-árido brasileiro**. Campina Grande: Embrapa Algodão, 2003. 19p. (Embrapa Algodão. Circular Técnica, 70).

GYVES, E. M. **Agrobiotecnologia**. México: Iberoamérica, 1994.

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M.A. Micropropagação. In: TORRES, A.C.; CALDAS, L.S.; B USO, J.A. **Cultura de tecido e transformação genética**. Brasília: Embrapa-SPI/ Embrapa-CNPH, 1998. v.1. p. 183-260.

IBPGR (Roma, Itália). **Advisory committee on in vitro storage**: Report of the first meeting. Rome, 1983.

MOSHKIN, V. A. Morphology and anatomy. In: MOSHKIN, V. A. **Castor**. New Delhi: Amerind, 1986b. p. 29-34.

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



Ministério da Agricultura,
Pecuária e Abastecimento

