



I CONGRESSO BRASILEIRO DE MAMONA

Energia e Sustentabilidade

23 a 26 de novembro de 2004 - Campina Grande - PB

DESSECAÇÃO E CRIOCONSERVAÇÃO DE EIXOS EMBRIONÁRIOS DE MAMONA

Kilson Pinheiro Lopes¹; Francisco de Assis Cardoso Almeida¹; Maria Julita Frota Chagas Carvalho² e Riselane de Lucena Alcântara Bruno³ (1) DF/CCA/UFPB, Areia, PB (2) Embrapa Algodão, Rua Osvaldo Cruz, 1143 Centenario (3) CCA/UFPB, Areia, PB

RESUMO

Objetivou-se, com o presente trabalho, avaliar a crioconservação de eixos embrionários de mamona (*Ricinus communis* L) como método alternativo de conservação do patrimônio genético da espécie. Sementes das cvs. BRS188 Paraguaçu e BRS 149 Nordestina foram desinfetadas superficialmente e postas para embeber em água bidestilada esterilizada durante 24 horas. Eixos embrionários foram isolados das sementes em câmara de fluxo laminar, onde permaneceram em dessecação por 0, 30, 60 e 90 minutos e então imersos diretamente no nitrogênio líquido, durante 0, 5, 30 e 60 dias de armazenamento. A viabilidade dos eixos embrionários cultivados *in vitro* variou em função do tempo em que os mesmos permaneceram dessecando. Eixos embrionários de ambas as cultivares, dessecados durante 90 minutos, regeneraram após a crioconservação, independente do tempo de permanência no nitrogênio líquido, originando plântulas normais. Eixos embrionários com teor de água superior a 10%, menos de 30 minutos de dessecação, não resistiram a temperatura de nitrogênio líquido, resultando em morte das células ou má formação de plântulas. O método empregado apresenta-se prático e eficiente na conservação de germoplasma de mamona.

INTRODUÇÃO

A mamona é uma planta euforbiácea com ampla distribuição no País, ocorrendo em todas as regiões. Considerando-se suas características de planta rústica e que produz bem em situações de clima semi-árido, como as ocorrentes no Nordeste brasileiro, poderia ser melhor explorada, porém, incentivos por parte do governo e disponibilidade de cultivares com características adequadas, são ainda necessários.

Segundo Leite (2004), a partir de 1999 se desenvolveu grande esforço para enriquecer a variabilidade do banco de germoplasma de oleaginosas, em geral, e de mamona, em particular, conservadas no País. O armazenamento a longo prazo de sementes de oleaginosas é dificultado em função de inúmeros mecanismos importantes estarem associados ao processo de deterioração como, peroxidação de lipídios, acúmulo de substâncias, redução na atividade enzimática, na síntese protéica



I CONGRESSO BRASILEIRO DE MAMONA

Energia e Sustentabilidade

23 a 26 de novembro de 2004 - Campina Grande - PB

e na atividade respiratória (BRACCINI et al., 2001). A crioconservação apresenta-se como alternativa promissora para a conservação a longo prazo dos recursos genéticos vegetais, em virtude de paralisar qualquer atividade metabólica do material crioconservado. Pelo exposto, objetivou-se, com o presente trabalho, avaliar a crioconservação de eixos embrionários de mamona.

MATERIAL E MÉTODOS

Empregaram-se sementes de mamona das cvs. BRS188 Paraguaçu e BRS 149 Nordestina, as quais, antes dos procedimentos de crioconservação, foram padronizadas quanto ao seu teor de água utilizando-se a fórmula proposta por Almeida et al. (1997) para promover a perda ou o ganho de água pelas sementes, até o teor permitido para a crioconservação, que é de 4 a 10%, de acordo com Almeida et al. (2002). Sementes foram esterilizadas em solução de 100% de água sanitária, na concentração de 2,5% de cloro ativo, acrescida com uma gota de Tween-20 sob agitação por 20 minutos, seguida de tríplex lavagem em água bidestilada esterilizada e mantidas em embebição durante 24 horas, para posterior extração dos eixos embrionários em câmara de fluxo laminar.

Os eixos embrionários obtidos foram submetidos a dessecação em ar estéril, pelo período de 0, 30, 60 e 90 minutos, na câmara de fluxo laminar e, em seguida, colocados em recipientes estéreis de polipropileno de 4,5 mL (10 eixos por frasco) e imersos diretamente no nitrogênio líquido (NL) a -196°C , aí permanecendo 0, 5, 30 e 60 dias. A umidade dos eixos embrionários foi determinada depois de cada período de dessecação, pela pesagem do tecido e secagem em estufa a $103\pm 2^{\circ}\text{C}$ por 17 horas, conforme recomendado pela International Seed Testing Association (ISTA, 1985), empregando-se três repetições de 30 eixos. O conteúdo de umidade foi expresso em porcentagem, com base no peso fresco.

A crioconservação foi realizada com 40 eixos embrionários, em quatro réplicas de 10, que depois do período, os mesmos foram retirados e postos para descongelar sob temperatura ambiente, por 60 minutos e, posteriormente, cultivados em tubos de ensaio contendo meio MS e mantidos em câmara de crescimento regulada na temperatura de 28°C , fotoperíodo de 16/8h (claro/escuro) e intensidade luminosa de $50 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$. Realizaram-se avaliações no 30° dia após cultivo, mediante a porcentagem de regeneração e mensuração do comprimento de plântulas.

Os dados foram analisados segundo o delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial $2 \times 4 \times 4$, sendo duas cultivares (Paraguaçu e Nordestina), quatro tempos de dessecação (0, 30, 60 e 90 minutos) e quatro períodos de armazenamento dos eixos embrionários (0, 5, 30 e 60 dias), procedendo-se análise de regressão polinomial, para cada cultivar, em função do tempo de



I CONGRESSO BRASILEIRO DE MAMONA

Energia e Sustentabilidade

23 a 26 de novembro de 2004 - Campina Grande - PB

dessecação e do período de armazenamento, utilizando-se dos modelos de superfícies de resposta, selecionando aquele em que todas as variáveis do modelo apresentaram contribuição significativa.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A dessecação realizada nos eixos embrionários para dar início ao processo de crioconservação, conduzido em câmara de fluxo laminar pelos períodos de 30, 60, e 90 minutos, resultou em um abaixamento da umidade inicial de 17% para 10,8%, 7,2% e 5,6%, respectivamente, para as duas cultivares.

A regeneração de eixos embrionários de mamona submetidos a crioconservação variou em função do tempo de sua dessecação em câmara de fluxo laminar e do período de armazenamento (Figura 1, A e B). Este fator estar diretamente relacionado com o teor de água que os eixos continham ao serem imersos no nitrogênio líquido. A crioconservação dos eixos embrionários com 5,6% de água manteve a viabilidade dos mesmos em níveis elevados, superior a 80%, até o final do período de armazenamento, sendo superior estatisticamente aos que foram crioconservados com umidade de 10,8%, em ambos os materiais estudados (Figura 1, A e B). A dessecação por menos de 30 minutos não permitiu que os eixos atingissem o teor de água limite para sua crioconservação, ocorrendo morte do tecido ou má formação de plântulas originadas de tais eixos. Segundo Santos (2001) isto se deve à formação de cristais de gelo no meio intracelular, causando ruptura do sistema de membranas celulares, resultando em perda da semipermeabilidade e da compartimentação celular; em conseqüências disto, as células entram em colapso e morrem. Conforme se observa mediante resultados a umidade dos eixos embrionários no momento da crioconservação é ponto de partida para o sucesso de tal prática.

O comprimento de plântulas originadas dos eixos embrionários de mamona teve comportamento semelhante ao verificado para a regeneração, havendo destaque para eixos que foram dessecados durante 90 minutos em câmara de fluxo laminar, os quais originaram maiores plântulas, independente do tempo de armazenamento em nitrogênio líquido (Figura 2, A e B), enquanto eixos dessecados por menos de 30 minutos não toleraram a crioconservação. Gonzáles-Benito et al. (1998) estudando a dessecação e crioconservação de eixos embrionários de algodão, constataram maior perda de água durante os primeiros 30 minutos de dessecação em sílica gel e, ainda, que eixos embrionários não-dessecados e congelados não germinaram.

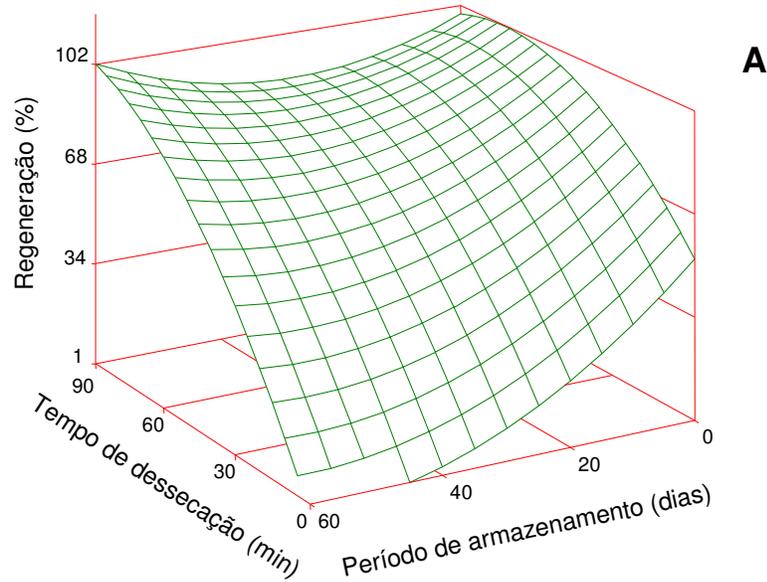


I CONGRESSO BRASILEIRO DE MAMONA

Energia e Sustentabilidade

23 a 26 de novembro de 2004 - Campina Grande - PB

$$\text{Reg (\%)} = 53,3806 - 1,87465**p + 0,015706**p^2 + 1,31569**d - 0,0090278**d^2 + 0,0109183**pd$$
$$R^2 = 0,71$$



$$\text{Reg (\%)} = 58,4907 - 1,9747*p + 0,015002**p^2 + 1,400581**d + 0,0107639**d^2 + 0,0115978**pd$$
$$R^2 = 0,79$$

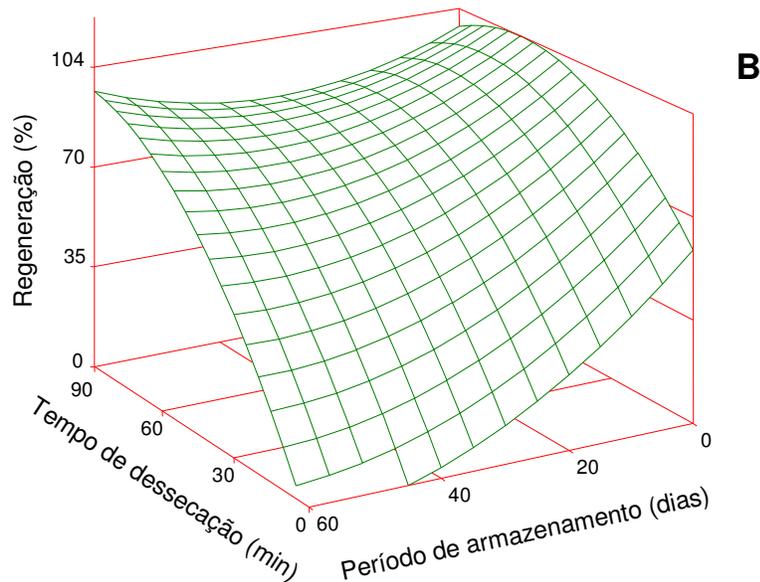


Figura 1. Porcentagem de regeneração de eixos embrionários de mamona em função do tempo de dessecação em câmara de fluxo laminar e do período de armazenamento em nitrogênio líquido. (A) cultivar BRS 188 Paraguaçu e (B) BRS 149 Nordestina

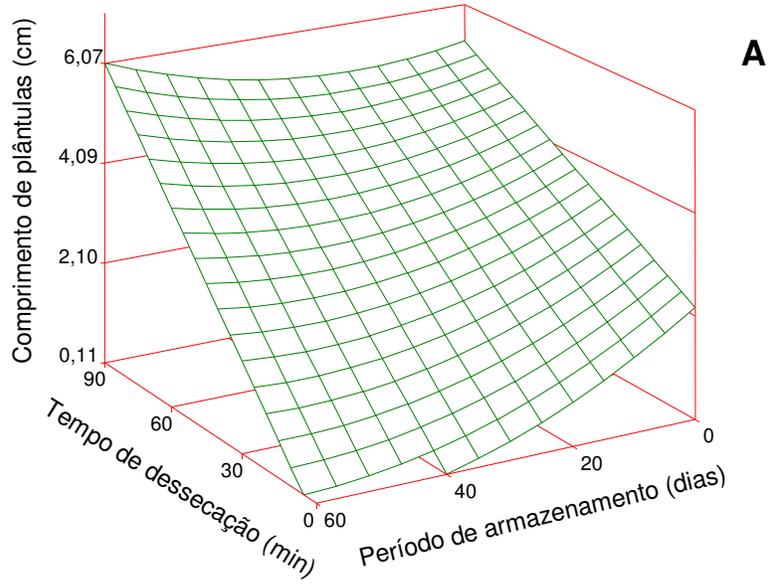


I CONGRESSO BRASILEIRO DE MAMONA

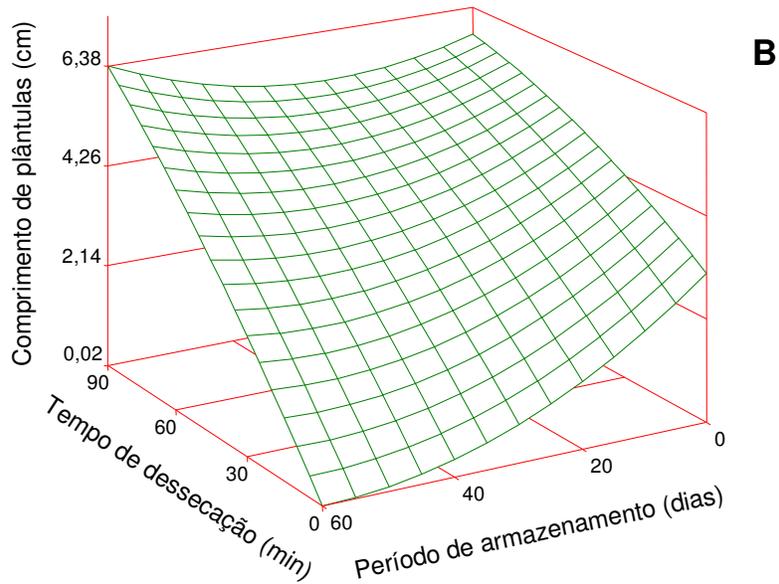
Energia e Sustentabilidade

23 a 26 de novembro de 2004 - Campina Grande - PB

$$\text{Comp (cm)} = 2,26613 - 0,0781964*p + 0,000605887*p^2 + 0,0338604*d + 0,000605877*pd$$
$$R^2 = 0,73$$



$$\text{Comp} = 3,07619 - 0,100929**p + 0,00083392**p^2 + 0,045446**d - 0,00173611**d^2 + 0,000675666**pd$$
$$R^2 = 0,79$$





I CONGRESSO BRASILEIRO DE MAMONA

Energia e Sustentabilidade

23 a 26 de novembro de 2004 - Campina Grande - PB

Figura 2. Comprimento de plântulas originadas de eixos embrionários de mamona em função do tempo de dessecação em câmara de fluxo laminar e do período de armazenamento em nitrogênio líquido. (A) cultivar BRS 188 Paraguaçu e (B) BRS 149 Nordestina

CONCLUSÕES

Eixos embrionários de *Ricinus communis* L., das cvs. BRS188 Paraguaçu e BRS 149 Nordestina, dessecados para 5,6% do teor de água por 90 minutos, em câmara de fluxo laminar, podem ser crioconservados e regenerar mais de 80% de plântulas normais *in vitro*.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, F. de A.C.; MATOS, V.R.; CASTRO, J.R. de; DUTRA, A.S. Avaliação da qualidade e conservação de sementes a nível de produtor. In: ALMEIDA, F. de A.C.; HARA, T.; CAVALCANTI MATA, M.E.R.M. ed.. **Armazenamento de grãos e sementes nas propriedades rurais**. Campina Grande: UFPB/SBEA, 1997. 201p.

ALMEIDA, F. de A.C.; MORAIS, A.M. de; CARVALHO, J.M.F.C.; GOUVEIA, J.P.G. de. Crioconservação de sementes de mamona das variedades nordestina e pernambucana. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v.6, n.2, p.295-302, 2002.

BRACCINI, A.L.; BRACCINI, M.C.L.; SCAPIN, C.A. Mecanismos de deterioração das sementes: aspectos bioquímicos e fisiológicos. **Informativo ABRATES**, Londrina, v.11, n.1, p.10-15, 2001.

GONZÁLEZ-BENITO, M.E.; CARVALHO, J.M.F.C.; PÉREZ, C. Effect of desiccation and cryopreservation of embryonic axes and seeds of cotton. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. Brasília, v.33, n.1, p.17-20, 1998.

ISTA. International rules for seed testing. **Seed Science and Technology**, v.13, n.2, p.299-355, 1985.

LEITE, E.J. **Introdução e conservação de germoplasma de mamona no Brasil, no período 1999 a 2001**. Disponível em: <<http://www.giacometti.org.br/htm/artigo>> Acesso em 15 setembro 2004.

SANTOS, I.R.I. Criopreservação de germoplasma vegetal. **Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento**, Brasília, v.4, n.20, p.60-65, 2001.