



I CONGRESSO BRASILEIRO DE MAMONA

Energia e Sustentabilidade

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

MÉTODOS DE REGENERAÇÃO *IN VITRO* DA MAMONEIRA A PARTIR DE DIFERENTES TIPOS DE EXPLANTES

Maria Socorro Rocha¹, Kátia Cristina De Oliveira², Mauro da Nóbrega da Costa², Adriane Oliveira Cunha², Julita Maria Frota Chagas Carvalho³ e José Wellington dos Santos³. (1) DEAg/CCT/UFCG, Campina Grande, PB. (2) DF/CCA/UFPB, Areia, PB. (3) Embrapa Algodão, Rua Osvaldo Cruz, 1143, Centenário, 58107720, Campina Grande, PB.

RESUMO

Considerando-se o elevado índice de contaminação de sementes no processo de sua multiplicação e a necessidade da manutenção da qualidade fisiológica das sementes de Banco de Germoplasma, objetivou-se estudar métodos de regeneração da mamoneira a partir de diferentes tipos de explantes e sua contaminação *in vitro*, através dos seguintes explantes: sementes inteiras, quebradas e sem tegumento e eixos embrionários obtidos a partir de sementes embebidas e não embebidas em água estéril. As sementes foram desinfetadas em solução de hipoclorito de sódio a 2,5% de cloro ativo, durante 20 minutos. O delineamento estatístico foi o inteiramente casualizado em esquema fatorial (5 X 5) cinco tipos de explantes, SI (semente inteira), SQ (semente sem tegumento), EENEA (eixo embrionário obtido de semente não embebida em água estéril) e EEEA (eixo embrionário obtido de semente embebida em água estéril por 24 horas) e cinco períodos de avaliação (5, 10, 15, 20 e 25 dias após a inoculação), com 15 repetições e três explantes por repetição. Os resultados evidenciaram correlação, $r = -0,76$ entre o número de explantes regenerados e contaminados enquanto o melhor desempenho no processo regenerativo foi conseguido a partir da utilização de eixo embrionário como explante.

INTRODUÇÃO

A cultura da mamona se apresenta como alternativa de relevante importância econômica e social pois, dadas as suas características, é capaz de produzir satisfatoriamente bem até sob condições de baixa precipitação pluvial, sobressaindo-se também como alternativa para o semi-árido nordestino, onde a cultura, mesmo tendo sua produtividade afetada, tem-se mostrado resistente ao clima adverso quando se



I CONGRESSO BRASILEIRO DE MAMONA

Energia e Sustentabilidade

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

verificam perdas totais em outras culturas, e serve, desta forma, como uma das poucas alternativas de trabalho e de renda para o agricultor da região (VIERA e LIMA, 2003).

Thomas (1953) afirma que a mamoneira é suscetível a mais de 150 diferentes microrganismos, alguns transmitidos pela própria semente. Como a manutenção da qualidade fisiológica da semente de um Banco de Germoplasma implica na regeneração de pequenas amostras de sementes, a perda de acessos decorrente de sementes contaminadas se verifica mais intensamente no processo convencional de multiplicação. Assim sendo, este trabalho objetivou avaliar métodos de regeneração da mamoneira a partir de diferentes tipos de explantes e sua contaminação *in vitro*.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Laboratório de Biotecnologia do Centro Nacional de Pesquisa do Algodão (Embrapa Algodão), em Campina Grande, PB, em cujo estudo foram utilizados os seguintes tipos de explantes: **SI** (semente inteira), **SQ** (semente quebrada), **SST** (semente sem tegumento), **EENEA** (eixo embrionário obtido de semente não embebida em água estéril) e **EEEEA** (eixo embrionário obtido de semente embebida em água estéril por 24 hora), provenientes de sementes da cultivar Nordeste, as quais foram desinfetadas em solução de hipoclorito de sódio com 2,5% de cloro ativo, adicionando-se uma gota de Tween 20 para cada 100 mL de solução, durante 20 minutos, seguida de três lavagens em água esterilizada. A inoculação dos explantes se deu em meio básico MS (MURASHIGE e SKOOG, 1962) sem reguladores de crescimento, acrescido de 30g/L de sacarose e 8,25 g/L de ágar. O pH do meio foi ajustado para 5,7 antes da autoclavagem, a 120°C por 20 minutos. Em todos os casos, a incubação foi mantida a 25±2°C com fotoperíodo de 16h luz/8h escuro e intensidade luminosa de 30 $\mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$. Foram utilizados 15 recipientes por tratamento, com três explantes cada um, e as observações realizadas nos períodos de 5, 10, 15, 20 e 25 dias após a inoculação, avaliando-se o número de explantes regenerados e contaminados. Após o período de germinação foi verificada a contaminação por fungos nos frascos utilizados para o cultivo *in vitro*, sendo incubado, durante 10 dias a temperatura de 30°C e submetido a luz fluorescente e posteriormente identificados. A identificação fitológica foi realizada em colônia de fungos por frasco contaminado. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial 5 x 5 (cinco tipos de explantes e cinco períodos de avaliação) com quinze repetições. Os dados referentes ao número de explantes regenerados e contaminados foram transformados em $\sqrt{x+1}$ e



I CONGRESSO BRASILEIRO DE MAMONA

Energia e Sustentabilidade

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

analisados mediante o procedimento "General Linear Model SAS/STAT... 2000, versão 8.2 e as médias comparadas pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 1 encontra-se o resumo da análise a variância referente às variáveis número de explantes contaminados e regenerados. Observa-se efeito significativo para tratamentos e períodos de avaliação em relação ao número de explantes regenerados e contaminados, com interação significativa para número de explantes contaminados.

TABELA 1. Resumo da análise de variância para número de explantes contaminados e regenerados

Fonte de Variação	GL	Quadrados médios ⁽¹⁾	
		Contaminação	Regeneração
Tipos de explantes (T)	4	15,78 **	13,41 **
Períodos (PA)	4	0,46 **	0,22 **
(T x PA)	16	0,39 **	0,05 ns
Erro	350	0,03	0,04
CV (%)		12,861	13,104

ns não significativo

** Significativo ($P < 0,01$)

(1) Dados transformados em $y = \sqrt{x + 1}$

O resultado do desdobramento da interação tipos de explantes x períodos de avaliação relativo ao número de explantes contaminados é apresentado na Tabela 2, na qual se verifica que as médias de contaminação dos tipos de explantes SI (semente inteira) e SQ (semente quebrada) não diferiram estatisticamente entre si; entretanto, o tipo de explante SI apresentou, aos 10 dias, 100% de contaminação. Os tipos de explantes EENEA e EEEA indicaram os menores valores de contaminação. Este alto valor de contaminação em sementes de mamona com tegumento também foi constado por Carvalho et al. (2002), o que, pode ser atribuído à ineficiência do tratamento de desinfestação utilizado.

TABELA 2. Valores médios do número de explantes contaminados nos períodos de avaliação

Tipos de explantes	Períodos (dias)
--------------------	-----------------



I CONGRESSO BRASILEIRO DE MAMONA

Energia e Sustentabilidade

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

	5	10	15	20	25
SI	2,33 A	3,00 A	3,00 A	3,00 A	3,00 A
SQ	2,40 A	2,40 A	2,40 A	2,40 A	2,40 A
SST	0,20 B	0,20 B	0,20 B	0,40 B	2,60 A
EENEA	0,00 B	0,00 B	0,00 B	0,00 B	0,00 B
EEEE	0,00 B	0,00 B	0,00 B	0,00 B	0,00 B
	CV (%) 12,861				

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade

SI (semente inteira), **SQ** (semente quebrada), **SST** (semente sem tegumento), **EENEA** (eixo embrionário a partir de sementes não embebidas em água estéril), **EEEE** (eixo embrionário a partir de sementes embebidas em água estéril por 24 horas)

Na Figura 1, encontram-se os valores médios de regeneração em função do tipo de explante utilizado, na qual se observa, que o maior número de explantes regenerados ocorreu quando se utilizaram os tipos de explantes SST, EENEA e EEEE, com média de 2 explantes. Os tipos de explantes SI e SQ, mostraram valores médios menores de regeneração, observando-se correlação negativa entre o número de explantes regenerados e contaminados, estimado em $r = -0,76$. Nesta Figura, também se pode observar que as sementes sem tegumento apresentaram valores superiores em relação às sementes inteiras e quebradas devido, provavelmente, à maior facilidade de regeneração pela extração do tegumento e à menor interferência de microrganismos. Para os tipos de explantes eixo embrionário obtido de semente não embebida em água estéril e eixo embrionário obtido de semente embebida em água estéril, não se verificou efeito dos períodos de avaliação sobre a contaminação dos mesmos.

Na Figura 2 encontra-se o número de sementes inteiras contaminadas em função dos períodos de avaliação, na qual se constata crescimento do número de explantes contaminados até 10 dias após a inoculação. Após este período, houve estabilidade no número de sementes contaminadas, cujo valor estimado foi de 2,86 caracterizando uma resposta linear em Plateau. Verifica-se também que 92% da variabilidade se explicam através do modelo considerado.



I CONGRESSO BRASILEIRO DE MAMONA

Energia e Sustentabilidade

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

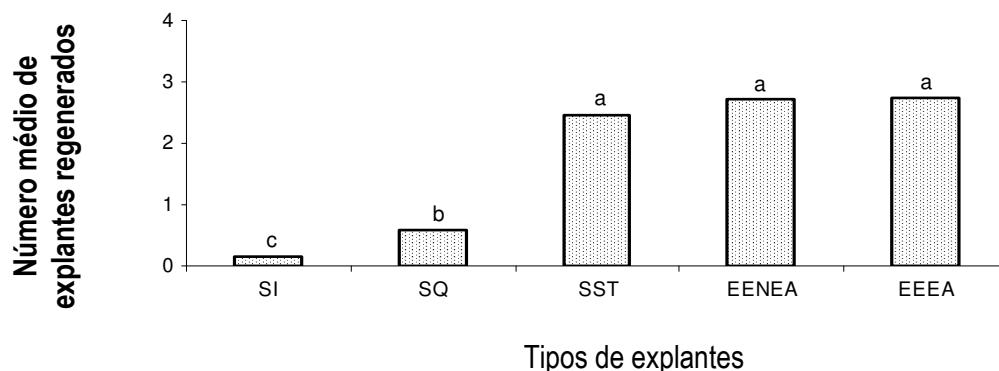


Fig 1.. Valores médios do número de explantes regenerados em função do tipo de explante. SI (semente inteira), SQ (semente quebrada) SST (semente sem tegumento), EENEA (eixo embrionário não embebido em água estéril) e EEEA (eixo embrionário embebido em água estéril).

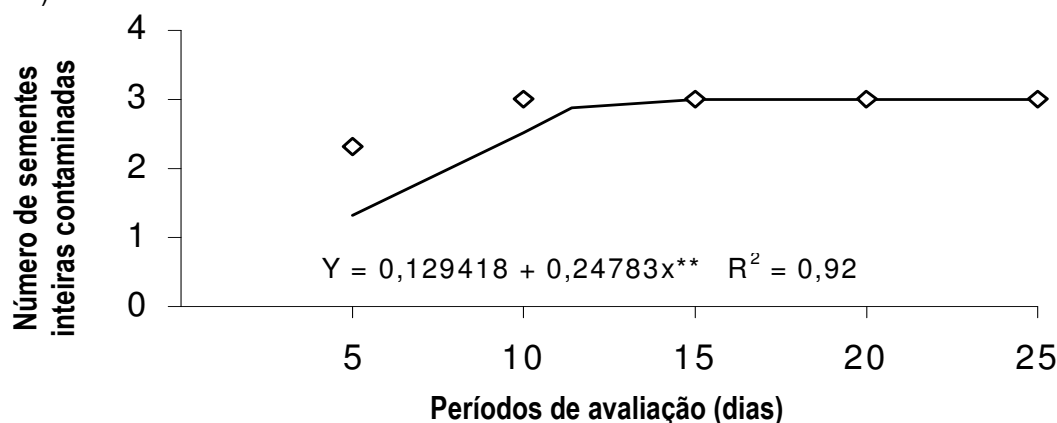


Fig 2. Número de sementes inteiras contaminadas em função dos períodos de avaliação

Os principais tipos de fungo contaminantes encontrados nos explantes, foram: *Aspergillus flavus*, *Aspergillus sp*, *Penicillium sp* e *Alternaria*, com maior incidência do gênero *Aspergillus*.

Os fungos encontrados induzem a formação de várias doenças, no entanto, provocam danos às sementes, por exemplo, *Aspergillus* e *Penicillium* são fungos característicos ao processo de armazenamento e provocam: a) decréscimo de germinação; b) descoloração bioquímicas; e) produção de toxinas; f) modificações celulares entre outros.(SOAVE,1987) .

CONCLUSÕES



I CONGRESSO BRASILEIRO DE MAMONA

Energia e Sustentabilidade

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

- Os tipos de explantes EENEA (eixo embrionário obtido de semente não embebida em água estéril) e EEEA (eixo embrionário obtido de semente embebida em água estéril), são os mais indicados para o processo de regeneração *in vitro* da mamoneira.
- Os tipos de explantes SI (sementes inteira) e SQ (sementes quebra), não são indicados para o processo de regeneração *in vitro* da mamoneira por apresentar alto nível de contaminação por fungo gênero (*Aspergillus flavus* sp).

REFERÊNCIAS

- AZEVEDO, D.M.P. de; LIMA, E.F.; BATISTA, F.A.S.; BELTRÃO, N.E. de M.; VIEIRA, D.J.; NOBREGA, L.B. da; DANTAS, E.S.B.; ARAÚJO, J.D. de. **Recomendação técnica para o cultivo da mamoneira (*Ricinus communis* L.) no Nordeste do Brasil**. Campina Grande: Embrapa Algodão, 1977. 51p. (Embrapa Algodão. Circular Técnica, 25).
- CARVALHO, J.M.F.; PIO, K.B.; SANTOS, W. dos S.; ALMEIDA, F. de A.C. Germinação e contaminação de sementes de mamoneira *in vitro* mediante quebra de dormência e desinfecção. **Revista Brasileira Oleaginosas e Fibrosas**, v. 6, n. 1, p. 483 - 490, 2002.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, v.15, p. 473 - 497, 1962.
- SAS/STAT User's Guide. In: SAS INSTITUTE. **SAS online Doc: Version**. Cary, 2000. CDROM.
- SOAVE, J; WETEL, M.M.V.S **Patologia de sementes**. Campinas-SP. Fundação Cargill, 1987, 480p.
- THOMAS, C.A. Plant diseases. **The Yearbook of Agriculture**, p.867-868, 1953.
- VIEIRA, R. de M.; LIMA, E.F. Importância sócioeconômica e melhoramento genético da mamoneira no Brasil. Disponível em: < www.embrapa.br > Acesso em: 15/05/2003.
- WAUGH, D. L.; CATE JR., R.B.; NELSON, C.A. & MANZANO, A. .New concepts in biological and economical interpretations of fertilizer response. In: EMBRAPA (Brasília,DF). **Interpretação de resultados de adubação**. Brasília, 1974. 15p.