

## Correlação entre características da germinação de sementes e o potencial regenerativo de diferentes cultivares de *Vigna unguiculata* (L.) Walp.

Silva, Karime Soares da<sup>1</sup>; Dias, André Luís de França<sup>2</sup>; Rivas, Rebeca<sup>2</sup>; Montarroyos, Pedro Augusto Veras<sup>1</sup>; Maia, M. M. D.<sup>1</sup>; Costa, Antonio Félix da<sup>3</sup>; Houllou-Kido, Laureen Michelle<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), Departamento de Agronomia, Av. Dom Manuel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos, Recife/PE telefone: (81)33206003 e-mails: karyagronomia@hotmail.com; [pedro\\_montarroyos@hotmail.com](mailto:pedro_montarroyos@hotmail.com) e mascena2000@yahoo.com.br <sup>2</sup> Universidade de Pernambuco (UPE) – Instituto de Ciências Biológicas (ICB), Av. Agamenon Magalhães, s/n, Santo Amaro, Recife/PE, CEP 50100-010, fone (81) 3416-4000, e-mails: andreluisfd@hotmail.com; rebecarivas@gmail.com; <sup>3</sup> Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária (IPA), Lab. de Genoma e de Cultura de Tecidos Vegetais, Av. Gal. San Martin 1371, Bonji, Recife/PE. Telefone (81)21227372 e-mails: [felix@ipa.br](mailto:felix@ipa.br), [laureenkido@ipa.br](mailto:laureenkido@ipa.br);

### INTRODUÇÃO

O caupi é uma leguminosa comestível com excelente capacidade de fixação de nitrogênio e com alto valor protéico. O feijão-caupi, feijão-de-corda ou feijão-macassar (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) é uma excelente fonte de proteínas (23-25% em média) e apresenta todos os aminoácidos essenciais, carboidratos (62%, em média), vitaminas e minerais além de possuir grande quantidade de fibras dietéticas, baixas quantidade de gordura (teor de óleo de 2%, em média) e não conter colesterol (<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Feijao/FeijaoCaupi/importancia.htm>). Originária da África adaptou-se muito bem às diferentes condições edafoclimáticas do Brasil. Destaca-se no norte e nordeste brasileiro como uma das principais culturas de subsistência especialmente para as áreas do sertão, do semi-árido e da Amazônia (ARAÚJO, J.P.P. 1988).

A utilização de técnicas alternativas de melhoramento (transformação genética ou a mutagênese induzida) poderia auxiliar os programas de melhoramento dessa cultura (B, ALUÍZIO 2005). No entanto, esta espécie é considerada recalcitrante com relação à regeneração em condições de cultivo *in vitro*. O presente trabalho objetivou avaliar o potencial regenerativo de diferentes cultivares de *V. unguiculata* e correlacionar o potencial regenerativo com as características de germinação das sementes.

### METODOLOGIA

O experimento foi conduzido nos Laboratórios de Genoma e Cultura de Tecidos Vegetais da Empresa Pernambucana de Pesquisas Agropecuárias (IPA). Foram utilizadas as seguintes cultivares de *V. unguiculata* IPA 206, TE 96 290 G12, TE 97 304 12G, IPA 207, TE 97 304 G4 e TE 96 290 6G. As sementes foram inicialmente desinfestadas (10 sementes de cada cultivar), em álcool 70% (três minutos) e em solução de hipoclorito de sódio 5% (10 minutos). Em seguida, as sementes foram lavadas em água destilada (autoclavada) duas vezes (cinco minutos) e incubadas em solução de antibiótico por 24 horas (cefalexina 500mg/100ml).

Após 24h, as sementes foram transferidas sob condições assépticas para placas de Petri (cinco sementes/placa) contendo papel filtro umedecido com água destilada estéril. Durante cinco dias as placas ficaram em sala de crescimento, em uma temperatura constante de 27°C, com fotoperíodo de 16 horas/luz, onde foi avaliada a germinação, como mostra a tabela 1. Após esse período, em condições assépticas e com a ajuda de um jogo de pinças foram isolados os cotilédones e os eixos embrionários. Os explantes foram colocados em meio de cultura para induzir regeneração (MR): Sais e vitaminas de MS (Murashige e Skoog, 1962), acrescido de tiamina 0,5 mg L<sup>-1</sup>, piridoxina 0,5 mg L<sup>-1</sup>, Ác. nicotínico 0,5 mg L<sup>-1</sup>, BAP 2 mg L<sup>-1</sup>, sacarose 30g L<sup>-1</sup>, Agar 9g L<sup>-1</sup> com o pH ajustado para 5,9 antes da autoclavagem. Os frascos utilizados continham 35 ml de meio em frasco de 250ml de capacidade. Em cada frasco foram colocados dois eixos embrionários e quatro cotilédones (a parte interna do cotilédone voltada para o meio de cultura). Foram usados 10 eixos embrionários e 20 cotilédones por cultivar. Esse material foi colocado em sala de crescimento e avaliado semanalmente, observou se estágios de desenvolvimento tais como:

emissão de liberação de folhas primárias e emissão de raiz, para a cultivar TE 96 290 6G, foram utilizados eixos embrionários em desenvolvimento mas que não conseguiram emitir as folhas primárias fora do tegumento. Os dados estão descritos na tabela 1. O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado. Foram utilizados 120 cotilédones e 60 eixos embrionários em todo o experimento. Nessa primeira fase do experimento foram avaliados índices de necrosamento e o início de regeneração. Após essa fase, os explantes desenvolvidos foram inoculados novamente em meio MR e passaram 15 dias em sala de crescimento. Após esse tempo os explantes foram colocados em meio para desenvolvimento dos ápices caulinares (MD): Sais e vitaminas de MS acrescido de tiamina 0,5 mg L<sup>-1</sup>, piridoxina 0,5 mg L<sup>-1</sup>, Ác. nicotínico 0,5 mg L<sup>-1</sup>, BAP um mg L<sup>-1</sup>, ANA 0,2 mg L<sup>-1</sup>, sacarose 30g L<sup>-1</sup>, Agar 9g L<sup>-1</sup> com o pH foi ajustado para 5,9 antes da autoclavagem. Os frascos utilizados, com capacidade para 250 ml, continham 35 ml de meio MD.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Sob condições assépticas, foram desinfestadas 20 sementes de *V. unguiculata* colocadas em placas de petri contendo papel filtro estéril umedecido com água destilada estéril e após oito dias foram observados alguns indicadores da germinação nas variedades (figura1), como mostra a tabela abaixo:

Tabela1: indicadores de germinação em diferentes cultivares de *V. unguiculata*.

Variedade	Índice de germinação (%)	Comprimento médio de raízes laterais (cm)	Percentagem de liberação do tegumento	Percentagem de liberação das folhas primárias	Comprimento médio da raiz pivotante (cm)
IPA 206	80	6,35	40	36	5,97
TE 96 290 12G	80	2,9	28	40	3,72
TE 97 304 G12	92	8,95	44	28	6,65
IPA 207	100	10,56	52	52	8,35
TE 96 290 6G	60	0,00	0,0	8	1,5
TE 97 304 G4	85	7,41	44	40	7,12

Pode-se observar que as cultivares IPA 206 e IPA 207 apresentaram maior vigor em relação às cultivares estudadas e os resultados obtidos confirmam o seu valor para pesquisas em cultivo *in vitro*.

Foi observada uma diferença na germinação das sementes das diferentes cultivares de *V. unguiculata*. A cultivar que apresentou melhor desenvolvimento foi a cultivar IPA 206 tanto em desenvolvimento de organogênese quanto em ápices caulinares (Figura 2 e 4), embora a TE 97 304 G12 tenha apresentado melhor potencial organogênico, os seus explantes apresentam alto índice de necrosamento, com pouco desenvolvimento. Após a transferência dos explantes (cotilédones e eixos embrionários) para meio de regeneração, foi observado que os explantes que apresentaram potencial regenerativo desenvolveram coloração esverdeada. Foi observado, também, que os eixos embrionários formam mais calo que os cotilédones (figura 3). Nas cultivares que apresentaram potencial regenerativo, foi observado que a taxa de regeneração é mais alta em cotilédones, com a exceção da cv TE 96 290 12G, que apresentou regeneração apenas em cotilédones. Os explantes que não se

mostraram viáveis à regeneração, necrosaram. Os explantes inoculados em meio MD acrescido com ANA desenvolveram-se e atualmente estão na fase de alongamento caulinar para posteriormente serem aclimatados.

Vinte e um dias após a inoculação foi observado que, embora fosse dado o mesmo tratamento para as diferentes variedades, houve um desenvolvimento significativo dos eixos embrionários em relação aos seus respectivos cotilédones. Foi observada que as variedades IPA 206, IPA 207 e TE 97 304 G12 obtiveram índice de desenvolvimento de 100,00%, em relação ao desenvolvimento de explantes e formação de calos, enquanto que os respectivos cotilédones apresentaram uma média de 33,33% de desenvolvimento. Os cotilédones das variedades TE 97 304 12G, IPA 206 e IPA 207 apresentaram potencial regenerativo.



Figura 1. Aspecto da germinação das diferentes cultivares de *V unguiculata* Cultivar: 1 IPA 206, 2- TE 96 290 12G, 3- TE 97 304 G12, 4- IPA 207, 5- TE 96 290 6G, 6- TE 97 304 G4, oito dias após a germinação.



Figura 2. Aspecto de cotilédone da cv. IPA 206 apresentando organogênese.

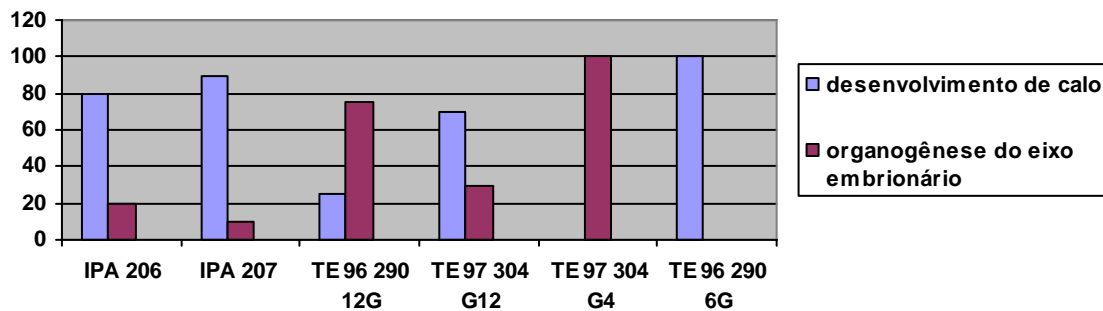


Figura 3: Comparação do índice de desenvolvimento de eixo embrionário de *V. unguiculata* após 21 dias de cultivo *in vitro*.



Figura 4. IPA 206 em meio MD para alongamento de ápices caulinares e posterior aclimação em telado.

#### CONCLUSÃO

As cultivares testadas apresentam diferenças no potencial organogênico e de formação de calo devido, provavelmente, a diferenças genotípicas.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARAÚJO, J.P.P. **O caupi no Brasil**. 1 ed. Brasília – DF: IITA/EMBRAPA.1988. 722p.

B, ALUÍZIO. **Melhoramento de espécies cultivadas**. Viçosa: ed. UFV. 2005. 969p.

EMBRAPA cultivo de feijão caupi disponível em: <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Feijao/FeijaoCaupi/importancia.htm>. Acesso em 6 de maio de 2007

MURASHIGE T.; SKOOG F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 15, n. 4, p. 473-497, 1962.

## PALAVRAS-CHAVE

Feijão-caupi, organogênese, *in vitro*.

---

<sup>i</sup> Agradecimentos: IPA, UFRPE.