

Efeito da assepsia em sementes após a retirada do tegumento sobre a regeneração, contaminação e o desenvolvimento de propágulos de mamoneira (*Ricinus communis* L.) cultivados *in vitro*.

Dias, Márcia Maria¹; Vieira, Jaci Mendes²; Nietche, Silvia³; Faria, Maria Aparecida Vilela de Rezende³; Gonçalves, Nívio Poubel⁴; Pereira, Marlon Cristian Toledo³.

¹Mestranda do Programa de Pós graduação em Agronomia (UFLA - DAG), Caixa Postal 3037, CEP 37200-000, Lavras, Minas Gerais, fone: (35) 3829-1329, e-mail: marciamaridias@yahoo.com.br;

²Graduanda em Agronomia da Universidade Estadual de Montes Claros – Campus de Janaúba;³ Professores da Universidade Estadual de Montes Claros - Campus de Janaúba (UNIMONTES), CEP 39440-000, Janaúba, Minas Gerais, fone: (38) 3821-2756, e-mail: marlonsilvia@nortecnet.com.br; ⁴ Pesquisador da Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais, Rodovia MGT 122 KM 155, Caixa Postal 12, CEP 39525-000, Nova Porteirinha, MG, fone (38) 38212160, e-mail: niviopg@epamig.br.

INTRODUÇÃO

A mamoneira (*Ricinus communis* L.), planta pertencente à família Euphorbiaceae é atualmente difundida em muitos estados brasileiros (Tavora, 1982). Constitui-se em importante atividade econômica e devido à rusticidade que apresenta, se adapta perfeitamente às regiões semi-áridas, atuando na fixação da mão de obra do homem no campo (Monteiro, 2005). A espécie é utilizada para produção de combustíveis renováveis alternativos aos combustíveis fósseis, devido à preocupação atual com a redução de gases poluentes e o aquecimento global (Barbosa, 2006).

A mamoneira é de fácil propagação, no entanto, no campo encontram-se misturadas cultivares produtivas, juntamente com espécies que produzem baixo teor de óleo. A maioria das frustrações pelos agricultores com a cultura é devido ao plantio de sementes não selecionadas (Barros, 1971). Várias espécies são utilizadas nos programas de melhoramento com o objetivo de aumentar a produtividade entre outras características de interesse pelo produtor.

Como forma de regenerar acessos importantes em programas de melhoramento para a seleção de espécies mais produtivas e visando a manutenção da qualidade fisiológica das sementes através das técnicas de cultura de tecidos torna-se necessário estabelecer um método eficaz para a regeneração de sementes da mamoneira. A utilização de sementes submetidas à retirada de tegumento antes da realização de assepsia agiliza o processo de introdução dos eixos embrionários devido à dificuldade de realização do corte destas sementes de tegumento duro dentro da câmara para a retirada dos eixos. No entanto sementes protegidas pelo tegumento apresentam menor contaminação por microrganismos.

Desta forma este trabalho tem como objetivo avaliar a regeneração, incidência de contaminações e o desenvolvimento de propágulos cultivados *in vitro* obtidas de eixos embrionários extraídos de sementes com e sem tegumento, posteriormente submetidas à assepsia.

METODOLOGIA

O experimento foi conduzido no Laboratório de Cultura de Tecidos e Células Vegetais da Universidade Estadual de Montes Claros – Unimontes, Campus de Janaúba, MG.

Para a condução do experimento, as sementes de *Ricinus communis* L. foram coletadas na Fazenda Experimental do Vale do Gortuba, localizada em Nova Porteirinha, Minas Gerais. Uma semana após a coleta, as sementes foram submetidas à assepsia conforme os tratamentos que foram constituídos de T1- assepsia de sementes inteiras, ou seja, com o tegumento e T2- assepsia de sementes sem o tegumento. A assepsia foi realizada submetendo-se as sementes com o tegumento e após a retirada deste, conforme os tratamentos, à solução de hipoclorito de sódio a 2,5% de cloro ativo adicionado de 2

gotas de Tween 20 durante 20 minutos e em seguida realizada a tríplex lavagem em água desionizada, permanecendo em imersão durante 22 horas na última água. Posteriormente retirou-se a água e adicionou-se às sementes uma solução fungicida Derosal 0,3% por 10 minutos, em seguida imersas em Sulfato de Estreptomicina 0,3 g.L⁻¹ durante 10 minutos, e posteriormente em álcool 92,8° GL por 60 segundos e novamente em solução de hipoclorito de sódio 2,5% P/V (peso/volume) adicionada de 2 gotas de Tween 20. Nesta solução as sementes foram levadas para a câmara de fluxo laminar procedendo-se a retirada dos eixos embrionários. Estes eixos foram inoculados em tubo de ensaio contendo meio MS (Murashige & Skoog, 1962) sem regulador de crescimento, suplementado com 30 g.L⁻¹ de sacarose e 0,55% de agar. Ajustou-se o pH do meio para 5,7 e posteriormente procedeu-se a autoclavagem à 120° C durante 20 minutos. As culturas foram submetidas ao escuro por 72 horas e posteriormente mantidas por 37 dias em sala de cultivo com lâmpadas fluorescente do tipo super luz do dia de 40 watts e uma radiação fotossintética ativa de 52 µmol.m⁻².s⁻¹, temperatura de 25 ± 3°C e fotoperíodo de 16 horas de luz e oito horas no escuro.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com 2 tratamentos (1- assepsia de sementes com tegumento e 2- sem tegumento), 4 repetições e 2 sementes por parcela. Foram avaliadas as seguintes características: porcentagem de regeneração, porcentagem de contaminação, comprimento radicular, comprimento da parte aérea, porcentagem de calos e porcentagem de brotações aos 40 dias após a introdução em meio de cultivo. O comprimento da parte aérea e comprimento da raiz foram medidos com auxílio de régua graduada de 30 cm e as demais características foram avaliadas visualmente. Os dados obtidos foram submetidos ao Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. A análise foi realizada com auxílio do programa SISVAR (Sistema de Análise de Variância de Dados Balanceados).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com os resultados da tabela 1 ambos os tratamentos de assepsia com e sem o tegumento (93,75 e 100% respectivamente) apresentaram altas porcentagens de regeneração dos eixos embrionários, no entanto a assepsia de sementes após a retirada do tegumento apresentou resultado superior que não diferiu significativamente pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. A porcentagem de regeneração dos eixos embrionários a partir de sementes de mamoneira das quais foram retiradas os tegumentos foi maior que o observado por Carvalho et al. (2005). Neste estudo, Carvalho et al. (2005) após desinfestar sementes de mamoneira sem tegumento em hipoclorito de sódio a 2% de cloro ativo e uma gota de Tween 20 por vinte minutos, emergiu as mesmas durante 24 horas em água bidestilada estéril e obteve maiores porcentagens de regeneração de plântulas (93,75; 93,75 e 62,5%) nos acessos BRA 12505, BRA 12769 e BRA 12777 do Banco Ativo de Germoplasma.

Tabela 1: Efeito da asepsia em sementes de mamoneira com tegumento e após a retirada do mesmo sobre a porcentagem de regeneração (PRG), porcentagem de contaminação (PCN), comprimento radicular (CPR), comprimento da parte aérea (CPA) porcentagem de calos (PCA), porcentagem de brotações (PBR) obtidos de explantes de *Ricinus communis* L.) Unimontes, Janaúba, MG, 2007.

ASSEPSIA	CARACTERÍSTICAS					
	PRG	PCN	CPR	CPA	PCA	PBR
Com tegumento	93,75 a	0,00 a	9,60 a	4,48 a	6,25 b	0,00 b
Sem tegumento	100,00 a	18,75 a	2,60 b	3,33 a	100,0 a	25,00 a

As médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Apesar da maior porcentagem de regeneração obtida de eixos embrionários de sementes com tegumento retirado e posteriormente submetidas à assepsia, este tratamento apresentou 18,75% de porcentagem de contaminação não diferindo significativamente ao nível de 5% de probabilidade (tabela 1) em relação às sementes tratadas sem o tegumento em que não foram observadas contaminações.

Rocha et al. (2004) também não observou contaminação de eixos embrionários de sementes de mamoneira da cultivar Nordestina embebidas em água estéril por 24 horas e desinfestadas com solução de hipoclorito de sódio a 2,5% de cloro ativo adicionado de uma gota de Tween 20/100L de solução.

Em relação às características relacionadas ao desenvolvimento de propágulos de mamoneira (tabela 1), os eixos obtidos de sementes com tegumento apresentaram melhores resultados. Para o comprimento da parte aérea dos propágulos, o resultado superior obtido a partir de eixos embrionários de sementes submetidas à assepsia com tegumento (4,48 cm) não diferiu estatisticamente do observado em sementes que tiveram o tegumento retirado antes da realização da assepsia (3,33 cm). Semelhantemente o comprimento radicular foi maior em propágulos obtidos de eixos embrionários de sementes com tegumento (9,60), no entanto, para esta característica houve diferença significativa ao nível de 5% de probabilidade quando comparadas aos propágulos oriundos de sementes sem tegumento (2,60 cm). Resultados semelhantes foram obtidos por Nunes (2007) na cultura de embriões *in vitro* de *Jatropha curcans*, a qual apresentou maior comprimento de parte aérea de 4,03 cm aos 30 dias, porém, deve-se enfatizar que no embrião existem reservas nutricionais nos cotilédones.

Quanto às porcentagens de calos e brotações, estas foram maiores no tratamento do qual as sementes tiveram retirados os tegumentos diferindo significativamente entre si para ambas as características, demonstrando-se que houve influência da assepsia sobre as sementes com tegumentos ausentes com relação à formação de calos e porcentagem de brotações, uma vez que estas se desenvolveram a partir dos calos.

CONCLUSÕES

Os eixos embrionários de sementes sem tegumento submetidas à assepsia propiciaram maiores porcentagens de regeneração, formação de calos e brotações, enquanto que a partir de eixos de sementes com tegumento obteve-se propágulos mais desenvolvidos e com menor percentual de contaminação.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BARBOSA, R. L. **Desempenho comparativo de um motor de ciclo diesel utilizando diesel e misturas de biodisel**. 2006. 55p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

BARROS, M. R. **Mamona também pode ser lucrativa**. Cerrado, Brasília, 4(13): 11-3, 1971.

CARVALHO, J. M. F. C.; RIBEIRO, C. S. N.; SILVA, H.; SANTOS, J. W. Propagação In Vitro e Aclimação a partir de Sementes Inviáveis Armazenadas no Banco Ativo de Germoplasma de Mamona. **Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento**. Embrapa Algodão - Campina Grande, PB. N. 64, p.12, 2005.

MONTEIRO, J. V. **Produtividade da mamoneira ‘ Al Guarany 2002’ (*Ricinus communis* L.) em função de diferentes arranjos populacionais**. 2005. 89p. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

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

NUNES, C. F. **Caracterização de frutos, sementes e plântulas e cultivo de embriões de pinhão-manso (*Jatropha curcans* L.)**. 2007. 78p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

ROCHA, M. S.; OLIVEIRA, K. C.; COSTA, M. N.; CUNHA, A. O.; CARVALHO, J. M. F. C.; SANTOS, J. W. Métodos de regeneração *in vitro* da mamoneira a partir de diferentes tipos de explantes. **Revista Brasileira de Oleaginosas e fibrosas**. Campina Grande, PB. v. 7, n. 1, p. 647-652, Jan/abr. 2003.

TAVORA, F. J. A. F. **A cultura da mamona**. Fortaleza, EPACE-CEARÁ, 1982, 112p.

PALAVRAS-CHAVE

Ricinus communis L., mamoneira, cultivo *in vitro*, sementes, eixos embrionários.

Agradeço à Fapemig pela concessão da bolsa de estudos durante a Graduação.