

Efeito de bioestimulante vegetal no cultivo e regeneração *in vitro* de embriões de mamona (*Ricinus communis* L.).

Bertozzo, Fernanda¹; Machado, Isaac Stringueta²; Cantanhede, Ilka South de Lima³; Soriano, Leonardo⁴; Barbosa, Luciano⁵; Zanotto, Maurício Dutra⁶.

¹Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Agronomia (UNESP-FCA), Campus Botucatu, Caixa Postal 237, CEP 18610-307, Botucatu, São Paulo, fone (14) 3811-7162, e-mail: bertozzo@fca.unesp.br; ²Professor Doutor- (UNESP-FCA)- Departamento de Recursos Naturais, Campus Botucatu, Caixa Postal 237, CEP 18610-307, Botucatu, São Paulo, fone (14) 3811-7162, e-mail: isaac@fca.unesp.br; ³Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Agronomia (UNESP-FCA), Campus Botucatu, Caixa Postal 237, CEP 18610-307, Botucatu, São Paulo, fone (14) 3882-5172, e-mail: ilkalc@fca.unesp.br; ⁴Graduando do Curso de Engenharia Florestal (UNESP-FCA), Campus Botucatu, Caixa Postal 237, CEP 18610-307, Botucatu, São Paulo, fone (19) 9141-8231, e-mail: lsoriano@fca.unesp.br; ⁵Professor Doutor- Instituto de Biociências (UNESP-IBB), Departamento de Bioestatística, Campus Botucatu, Caixa Postal 510, CEP 18618-000, Botucatu, São Paulo, fone (14) 3811-6097, e-mail: lbarbosa@ibb.unesp.br; ⁶Professor Doutor- (UNESP-FCA), Departamento de Produção Vegetal, Campus Botucatu, Caixa Postal 237, CEP 18610-307, Botucatu, São Paulo, fone (14) 3811-7161, e-mail: zanotto@fca.unesp.br.

INTRODUÇÃO

A mamoneira (*Ricinus communis* L.) é uma espécie oleaginosa originária da Índia, de onde se espalhou por quase todo o mundo, principalmente nas regiões tropicais e subtropicais. Seu cultivo apresenta importância socioeconômica crescente, pois o óleo, extraído de suas sementes, presta-se a uma ampla gama de setores da indústria. Representa hoje, devido às suas características físico-químicas, uma das principais alternativas para produção de biodiesel; podendo ser utilizada ainda, como matéria prima da indústria de fármacos e biopolímeros.

Os processos de germinação das sementes e o desenvolvimento das plântulas de mamona são bastante variáveis e podem ser influenciados por uma série de fatores como a cultivar agrônômica, condições edafo-climáticas e as de armazenamento empregadas, entre outros. A germinação pode ser demorada, ultrapassando três semanas, o que acarreta maior susceptibilidade a patógenos ou outras intempéries do ambiente. Com isto, tornam-se relevantes os estudos de métodos alternativos que busquem maior rapidez e segurança que os convencionais.

A técnica de cultivo de eixos embrionários tem sido utilizada para superar a dormência de sementes, em virtude da imaturidade do embrião, ou presença de substâncias inibidoras no endosperma; estudar os aspectos nutricionais e fisiológicos do desenvolvimento do embrião; testar viabilidade de sementes; recuperar híbridos raros de cruzamentos incompatíveis e como fonte de explantes com tecido de elevada totipotência, sendo esta a busca mais freqüente (Hu e Ferreira, 1998). Rocha et al. (2003), estudando a regeneração *in vitro* da mamoneira a partir de diferentes tipos de propágulos, confirmaram ser o eixo embrionário, a melhor fonte de explante.

O Stimulate® (0,009% de cinetina, 0,005% de ácido giberélico e 0,005% de ácido indolbutírico) é um regulador vegetal comercial que vem sendo bastante utilizado como indutor da morfogênese *in vitro* e *ex vitro* de células e tecidos de plantas, em diferentes fases do ciclo de desenvolvimento e em uma grande variedade de espécies vegetais. Foi descrito e testado por Vieira e Castro (2001) em sementes de soja, feijão e arroz, resultando em aumento da germinação de sementes, vigor das plântulas, crescimento radicular, área foliar e produtividade.

Este trabalho teve como principal objetivo a avaliação do efeito da suplementação exógena do produto Stimulate® no estabelecimento do eixo embrionário em cultura asséptica, bem como os processos morfogenéticos de diferenciação e regeneração em parte aérea e raiz *in vitro*.

METODOLOGIA

O trabalho foi conduzido no Laboratório de Biotecnologia Ambiental, do Departamento de Recursos Naturais, da Faculdade de Ciências Agrônômicas – UNESP - Botucatu/SP. De um lote selecionado de sementes da cultivar Sara, foram retirados os tegumentos; lavadas em água corrente e desinfestadas em solução de hipoclorito de sódio a 2% de cloro ativo e Tween 20 (1 gota/100ml), por 20 minutos. Posteriormente, enxaguadas 4 vezes em água destilada e deionizada estéril (100ml), sendo então imersas na última água contendo diferentes concentrações de Stimulate®, calculadas segundo o esquema: T1 – 0 (testemunha), T2 - 2.5, T3 - 5.0 e T4 - 10ml/kg de sementes. Foram preparadas 20 sementes para cada tratamento.

Em câmara de fluxo laminar, sob condições assépticas, as sementes pré-tratadas foram dissecadas e os eixos embrionários inoculados em tubos de ensaio contendo 10 ml de meio MS (Murashige & Skoog, 1962) basal, suplementado com 0,250 g/L de PVP e 7 g/L de ágar. O experimento foi inteiramente casualizado, com 20 repetições para cada tratamento, sendo 1 eixo embrionário por frasco.

As culturas foram mantidas em câmara de germinação (B.O.D.), com temperatura constante de 26°C, inicialmente no escuro por 72 horas e, posteriormente, em fotoperíodo de 16 h de luz/8h de escuro e intensidade luminosa de 1000 lux.

O resultado foi avaliado através da porcentagem de morfogênese completa das estruturas anatômicas (parte aérea e raiz), após 18 dias de cultivo. O comportamento fisiológico das plântulas pôde ser analisado pela medição das partes aéreas (H), número de folhas (NF), número de raízes (NR), comprimento das raízes (CR), produção de matéria fresca (MF) e seca (MS). Os valores médios dos parâmetros fisiológicos foram comparados estatisticamente através do programa SigmaStat, teste de comparações múltiplas (método Student-Newman-Keuls).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As freqüências de regeneração de plântulas de mamona nos tratamentos empregados podem ser visualizadas na Figura 1, que mostra um efeito inibidor da organogênese *in vitro* nas concentrações de 5 e 10ml do Stimulate® (T3 e T4).

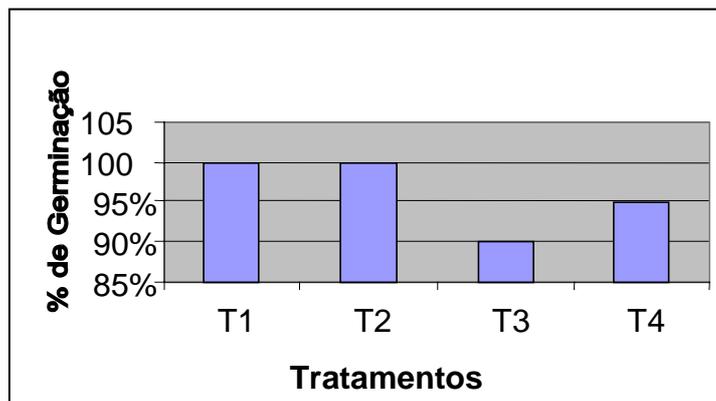


Figura 1. Regeneração de plântulas de mamona (*Ricinus communis*) a partir do cultivo de eixos embrionários estabelecidos *in vitro* e em concentrações crescentes de Stimulate® (T1-0, T2-2,5, T3-5 e T4-10 ml/kg de semente).

Os resultados da morfogênese da parte aérea das plântulas (Tabela 1) revelam que na ausência do produto (T1), o alongamento e a produção de biomassa foram superiores; contudo, o número de folhas diferenciadas foi semelhante ao Tratamento 2. Os valores encontrados nos outros parâmetros fisiológicos mostraram efeito inibidor com o aumento da concentração do Stimulate®.

Tabela 1. Valores médios de altura (H), número de folhas (NF), massa fresca (MF) e massa seca (MS) da parte aérea das plântulas de mamona regeneradas a partir do cultivo de embriões.

	H (cm)	NF	MF (g)	MS (g)
Tratamento 1	5,425 a	2,15 a	0,184040 a	0,00825 a
Tratamento 2	4,520 b	2,40 a	0,148225 ab	0,01540 b
Tratamento 3	3,850 b	1,00 b	0,041710 b	0,00535 b
Tratamento 4	3,715 b	1,25 b	0,127465 ab	0,00640 b

Médias seguidas de letras iguais na vertical, não diferem estatisticamente, ao nível de 5% de probabilidade.

Com relação à influência na rizogênese (Tabela 2), o efeito repressor da morfogênese não foi tão significativo como na parte aérea, pois até o Tratamento 3 a produção de biomassa não diferiu significativamente. Quanto ao comprimento e número de raízes, houve influência inibitória do regulador, em comparação ao tratamento controle (T1).

Tabela 2. Valores médios de comprimento (CR), número (NR), massa fresca (MF) e massa seca (MS) das raízes das plântulas de mamona regeneradas a partir do cultivo de embriões.

	CR (cm)	NR	MF (g)	MS (g)
Tratamento 1	5,750 a	7,15 a	0,168150 a	0,01745 a
Tratamento 2	5,090 ab	5,90 ab	0,099135 a	0,01665 ab
Tratamento 3	3,885 b	2,85 c	0,089115 a	0,00360 b
Tratamento 4	3,450 b	4,00 b	0,049125 b	0,00605 b

Médias seguidas de letras iguais na vertical, não diferem estatisticamente, ao nível de 5% de probabilidade.

Os resultados encontrados estão de acordo com Severino et al. (2004), que utilizaram diferentes concentrações do regulador vegetal Stimulate®, em sementes de mamona (cultivar BRS 149 Nordeste), resultando em uma redução linear na altura das plantas, de acordo com o aumento da concentração do produto. Contudo, Albuquerque et al. (2004) também utilizando sementes de mamona (cultivar BRS 188 Paraguassu) imersas em diferentes concentrações de Stimulate®, por diferentes períodos de tempo, concluíram que o produto não influenciou no crescimento das plantas, porém a dose de 35ml/0,5 kg de semente teve efeito significativo referente à variável área foliar com um aumento de 19% em relação à testemunha.

Os resultados observados por Neto et al. (2004) são discordantes dos encontrados, pois trabalhando com sementes de milho, notaram que o Stimulate® aumentou a produção de grãos. Em adição a isto, Consorte (2006) estudou o efeito do Stimulate® em sementes do tomate 'Micro-Tom' e encontrou aumento significativo na biomassa de raízes e frutos. Em sementes de amendoimzeiro, a mesma autora verificou aumento no número de plântulas normais, maior comprimento do hipocótilo e da raiz primária e teor superior de biomassa total. Ainda neste trabalho, observou em sementes de trigo, aumento da altura e massa seca da parte aérea. Klahold et al. (2006) verificaram que o Stimulate® em sementes de soja apresentou resultados positivos em relação ao número e à massa seca das flores, das raízes e da razão raiz/parte aérea, além de aumentar o número de vagens e de grãos.

CONCLUSÕES

Concentrações crescentes de Stimulate® na pré-embebição de sementes, dentro da faixa de 2,5 a 10 ml/Kg semente, apresentam efeito inibitório na morfogênese de plântulas de mamona regeneradas a partir de eixos embrionários estabelecidos *in vitro*. O efeito repressor foi mais pronunciado na organogênese da parte aérea do que na rizogênese.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBUQUERQUE, R. C.; GUIMARÃES, M. M. B.; BELTRÃO, N. E. de M.; JERÔNIMO, J. F. Efeitos do bioestimulante Stimulate em sementes pré-embebidas de mamona (*Ricinus communis* L.). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MAMONA, 1., 2004, Campina Grande. **Anais...** Campina Grande: Universidade Estadual da Paraíba, 2004.

CONSORTE, C. S. **Ação do bioestimulante nas culturas do amendoizeiro, sorgo e trigo e interações hormonais entre auxinas, citocininas e giberelinas**. 2006. Tese (Doutorado em Produção e Tecnologia de Sementes) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2006.

HU, C. Y.; FERREIRA A. G. Cultura de embriões. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A., Eds. **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: Embrapa-SPI/Embrapa-CNPQ, 1998. p. 371-394.

KLAHOLD, C. A.; GUIMARÃES, V. F.; ECHER, M. M.; KLAHOLD, A.; CONTIERO, R. L.; BECKER, A. Resposta da soja (*Glycine max* (L.) Merrill) à ação de bioestimulante. **Acta Sci. Agron.** Maringá, v. 28, n. 2, p. 179-85, 2006.

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

NETO, D. D.; DARIO, G. J. A.; JÚNIOR, P. A. V.; MANFRON, P. A.; MARTINS, T. N.; BONNECARRÉRE, R. A. G.; CRESPOS, P. E. N. Aplicação e influência do fitorregulador no crescimento das plantas de milho. **Rev. Fac. Zootec. Vet. Agro.**, v. 11, n. 1, p. 93-102, 2004.

ROCHA, M. S.; OLIVEIRA, K. C.; COSTA, M. N.; CUNHA, A. O.; CARVALHO, J. M. F. C.; SANTOS, J. W. **Rev. Bras. Ol. Fibrós.**, Campina Grande, v. 7, n. 1, p. 647-652, 2003.

SEVERINO, L. S.; LIMA, C. L. de; FARIAS, V. de A.; BELTRÃO, N. E. de M.; CARDOSO, G. D. Regulador de crescimento Stimulate aplicado a sementes de mamona. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MAMONA, 1., 2004, Campina Grande. **Anais...** Campina Grande: Universidade Estadual da Paraíba, 2004.

VIEIRA, E. L.; CASTRO, P. R. C. Ação de bioestimulante na germinação de sementes, vigor das plântulas, crescimento radicular e produtividade de soja. **Rev. Brasileira de Sementes**, v. 23, n. 2, p. 222-228, 2001.

PALAVRAS-CHAVE:

Ricinus communis L.; cultivo de eixo embrionário; bioestimulante; cultura *in vitro*; sementes.