

## Regeneração de Gemas de Algodoeiro (*Gossypium hirsutum* L.) da Cultivar BRS 201

Julita Maria Frota Chagas Carvalho<sup>1</sup>

Kilson Pinheiro Lopes<sup>2</sup>

Francisco de Assis Cardoso Almeida<sup>3</sup>

Rosemberg Lima de Sousa Júnior<sup>4</sup>

A pesquisa busca, na conservação de germoplasma, técnicas para conservação, em longo prazo, da variabilidade genética de espécies vegetais (BAJAJ, 1995). São duas as estratégias básicas de conservação de espécies vegetais: conservação *in situ*, realizada no seu habitat natural, e *ex situ*, fora do seu ambiente natural. A criopreservação, conservação de material biológico em nitrogênio líquido a  $-196^{\circ}\text{C}$  ou em fase de vapor  $-150^{\circ}\text{C}$ , é um dos métodos mais promissores de conservação *ex situ* (KHARTA, 1985 e CGIAR, 1993). Várias estruturas da planta podem ser criopreservadas, como é o caso dos protoplastos, gemas apicais e laterais, sementes, embriões somáticos e zigóticos, entre outras (SAKAI, 1995 e STUSHNOFF & SEUSFFERHELD, 1995). A sobrevivência de tecidos vegetais à criopreservação exige o desenvolvimento de protocolo baseado nos mecanismos bioquímicos e biofísicos associados à desidratação e congelamento. Além disso, para a conclusão desta técnica faz-se necessário que os tecidos criopreservados sejam regenerados em plantas que

expressem suas características genéticas; desta forma, a eficiência do sistema de cultura de tecidos *in vitro* é indispensável quando se quer regenerar explantes criopreservados, estando isto na dependência do controle da morfogênese, a qual é influenciada por vários fatores como espécie, cultivar, tipo de explante, componentes do meio, reguladores de crescimento e ambiente de cultura (RAO *et al.*, 1996 e SCHUCH & PETERS, 2002).

Visando obter maiores informações para trabalhos futuros, objetivou-se avaliar a regeneração de explantes de algodoeiro em diferentes meios.

O experimento foi realizado no Laboratório de Cultura de Tecidos do Setor de Biotecnologia da Embrapa Algodão, em Campina Grande, PB. As plântulas utilizadas como fonte de explantes provinham de sementes cultivadas *in vitro* em meio contendo sais minerais de Murashige e Skoog – MS (1962) suplementado com  $30\text{ g.L}^{-1}$  de sacarose,  $5,5\text{ g.L}^{-1}$  de Ágar e pH ajustado para 5,7, antes da

<sup>1</sup>Eng. Agr. Ph.D da Embrapa Algodão, Rua Osvaldo Cruz, 1143, Centenário, CP 174, CEP 58.107-720, Campina Grande, PB. e-mail: julita@cnpa.embrapa.br

<sup>2</sup>Eng. Agr., M.Sc., Doutorando em agronomia, DF/CCA/UFPB, Areia, PB. e-mail: kilsonlopes@terra.com.br

<sup>3</sup>Eng. Agr. Dr. Prof. Adjunto do DEAg/CCT/UFCG, Campina Grande, PB. e-mail: diassis@deag.ufpb.br

<sup>4</sup>Estudante de Biologia, Departamento de Farmácia e Biologia, UEPB/CCBS, Campina Grande, PB. e-mail: saojunio@hotmail.com

adição do solidificante. Foram utilizados, como explantes, ápices caulinares e nós cotiledonares de aproximadamente 5 a 7 mm de comprimento, obtidos de plântulas com 25 dias. Para a regeneração dos explantes foram avaliados meios de cultura semi-sólidos com sais minerais de Murashig e Skoog – MS (1962), diferindo na sua composição quanto aos constituintes orgânicos e o agente solidificante empregando-se, num deles, 30 g.L<sup>-1</sup> de sacarose e 5,5 g.L<sup>-1</sup> de ágar e, no outro, 30 g.L<sup>-1</sup> de glicose, 10 ml.L<sup>-1</sup> de cloreto de magnésio e 2 g.L<sup>-1</sup> de Gelrite. Antes do acréscimo dos agentes solidificantes os meios tiveram seu pH ajustado para 5,7.

Quatro repetições de 10 tubos de ensaio contendo os explantes foram mantidos durante quatro semanas em sala de crescimento, com temperatura de 28 °C, fotoperíodo de 16/8 h (claro/escuro) e intensidade luminosa de 50 mmol.m<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup>. As avaliações de porcentagem de regeneração, número de brotos por explante e comprimento do maior broto, foram realizadas a cada sete dias de cultivo.

O delineamento experimental adotado foi inteiramente casualizado em parcela subdividida no tempo, com as variáveis submetidas às análises de variância e regressão polinomial.

## Resultados e Discussão

A regeneração dos explantes de algodoeiro não apresentou diferença significativa nos meios testados com os diferentes agentes solidificantes (Figura 1). No que diz respeito ao período de avaliação da regeneração dos explantes constatou-se que, em torno dos 21 dias, os mesmos já

apresentavam valores acima dos 90% de regeneração.

O número de brotos emitidos dos ápices caulinares (Figura 2) não sofreu variação diante dos meios utilizados; contudo, os nós cotiledonares postos para regenerar no meio com o ágar, emitiram um número maior de brotos aos 28 dias de avaliação.

O maior comprimento dos brotos foi verificado nos ápices caulinares regenerados em meio com o solidificante Gelrite, principalmente quando avaliados aos 28 dias (Figura 3); resultados semelhantes foram alcançados por Carvalho *et al.*, (1997) trabalhando com gema apical e axilar de plântulas do algodoeiro, cultivar CNPA Precoce 2, em que o meio suplementado com glicose e solidificado com gelrite produziu maior número de nós por clone.

Os nós cotiledonares não apresentaram diferenças significativas quanto ao comprimento dos brotos nos variados meios de cultura (Figura 3).

## Conclusões

- Nós cotiledonares cultivados em meio em que foi utilizado o ágar, como solidificante, apresentam maior número de brotos por explante regenerado;
- O meio solidificado com Gelrite, apresentam ápices caulinares mais desenvolvimento durante a regeneração;
- Plântulas matrizes podem ser utilizadas para retirada dos explantes, ápices caulinares e nós cotiledonares, a partir dos 21 dias de cultivo, no meio de germinação.

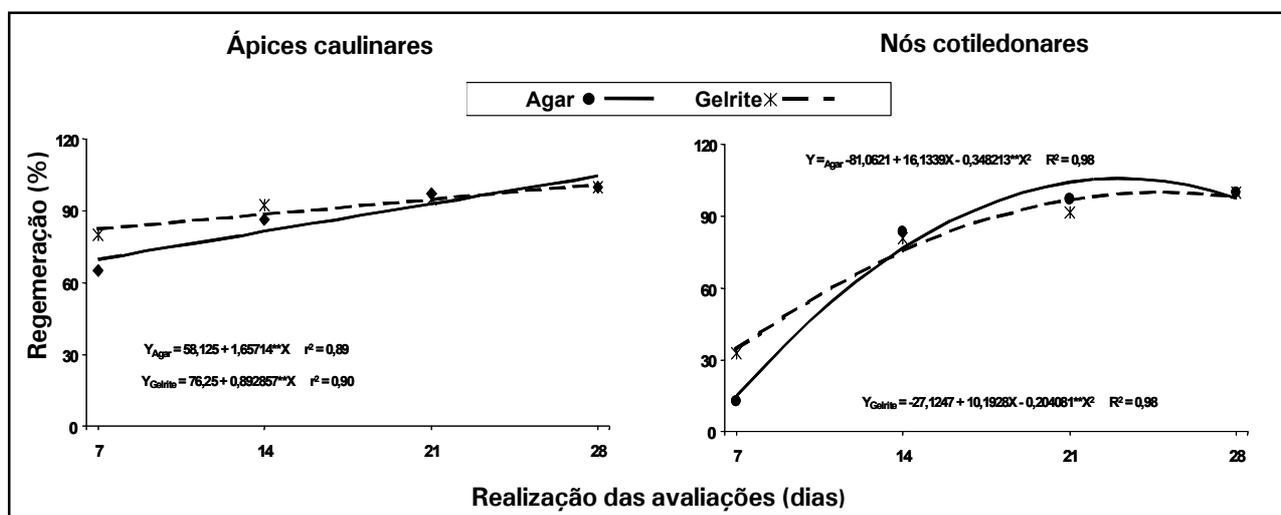


Fig. 1. Porcentagem de regeneração de explantes de algodoeiro, cultivar BRS 201, em meios com diferentes componentes orgânicos e agentes solidificantes.

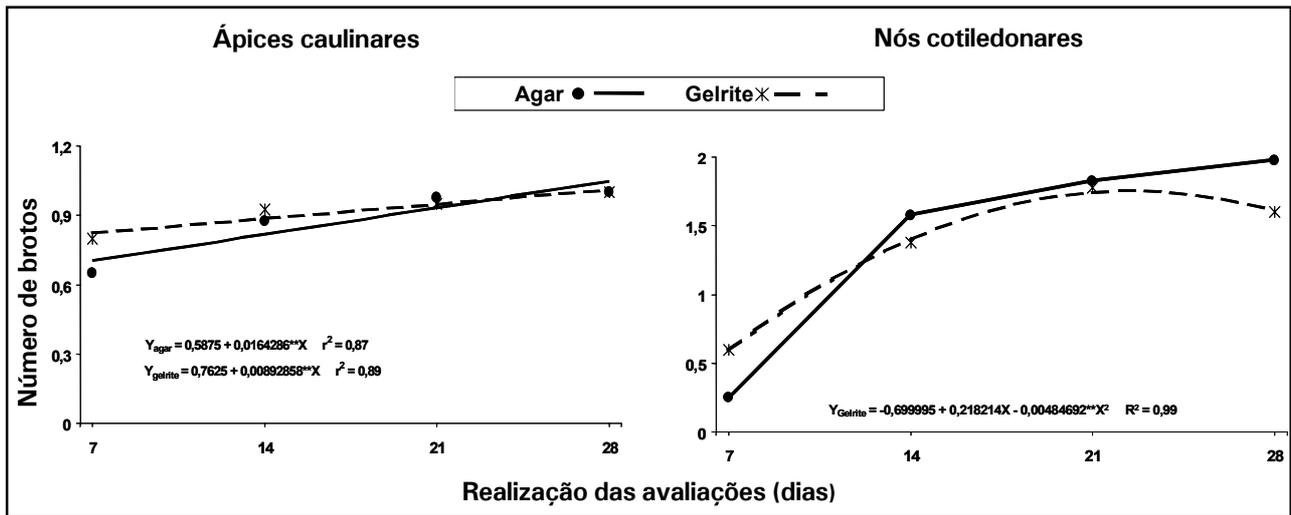


Fig. 2. Número de brotos emitidos por explante de algodoeiro, cultivar BRS 201, em meios com diferentes componentes orgânicos e agentes solidificantes.

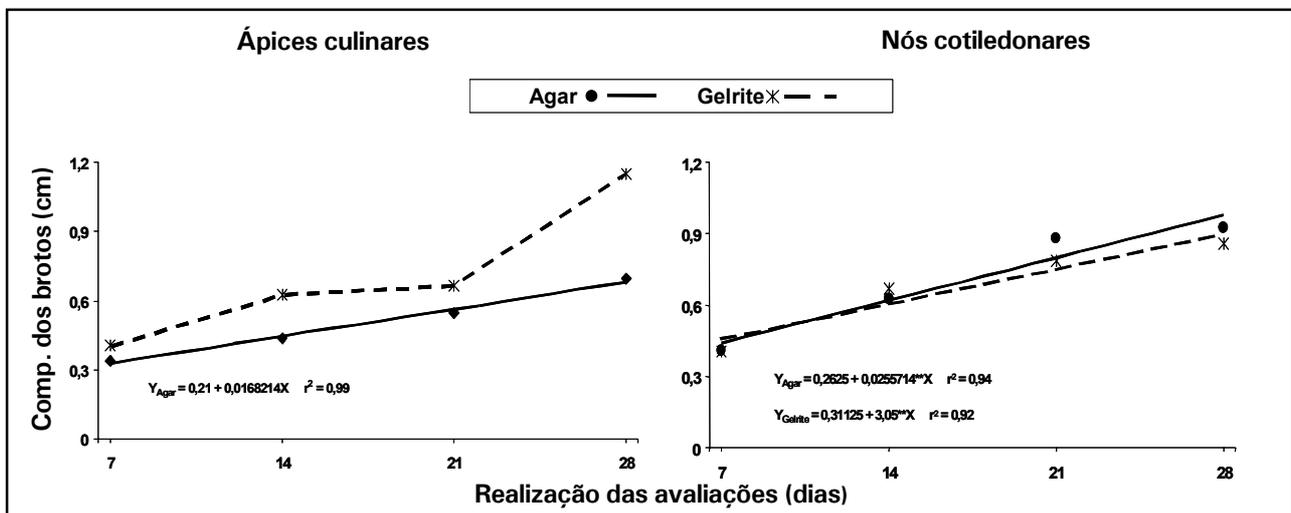


Fig. 3. Comprimento do maior broto emitido por explante de algodoeiro, cultivar BRS 201, em meios com diferentes componentes orgânicos e agentes solidificantes.

## Referências Bibliográficas

BAJAJ, Y.P.S. Cryopreservation of plant cell, tissue, and organ culture for the conservation of germplasm and biodiversity. In: Bajaj, Y.P.S. (Ed.) **Biotechnology in agriculture and forestry. Cryopreservation of plant germplasm I**. Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag, 1995, v.32, p.3-28.

CARVALHO, J.M.F.C; GONZÁLEZ-BENITO, E.; PEREZ, C.; SANTOS, J.W. dos. Efeito da origem das gemas, fonte de carbono e agente solidificante sobre a micropropagação da cultivar de algodão CNPA Precoce 2. **Revista de Oleaginosas e Fibrosas**, Campina Grande, v.1, n.1, p.81- 86, 1997.

CGIAR Consultive Group on International Agricultural Research **People and plants: the**

**development agenda**. Roma: IBPCGR, 1993.

KHARTA, K.K. Meristem culture and germplasm preservation. In: Kharta, K.K. (Ed.) **Cryopreservation of plant cells and organs**. Boca Raton, Florida: CRC Press, 1985. p.115-134.

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

RAO, C.D.; GOH, C.J.; KUMAR, P.P. High frequency adventitious shoot regeneration from excised of *Pawlonia* spp. Cultured in vitro. **Plant Cell Reports**, Berlin, v.16, p.204-209, 1996.

SAKAI, A. Cryopreservation of germplasm of

woody plants. In: Bajaj, Y.P.S. (Ed.) **Biotechnology in agriculture and forestry. vol. 32. Cryopreservation of plant germplasm I.** Berlin, Heidelberg, New York, Springer-Verlag, 1995. p.53-69.

SCHUCH, M.W. & PETERS, J.A. Regeneração de brotações de macieira (*Malus domestica*, Borkh) cv. Gala. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal,

São Paulo, v.24, n.2, p.301-305, 2002.

STUSHNOFF, C.; SEUFFERHELD, M. Cryopreservation of apple (*Malus species*) genetic resources. In: Bajaj, Y.P.S. (Ed.) **Biotechnology in agriculture and forestry: Cryopreservation of plant germplasm I.** Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag, 1995.v.32, p.87-101.

#### Comunicado Técnico, 186

Exemplares desta edição podem ser adquiridos na:  
Embrapa Algodão  
Rua Osvaldo Cruz, 1143 Centenário, CP 174  
58107-720 Campina Grande, PB  
Fone: (83) 315 4300 Fax: (83) 315 4367  
e-mail: sac@cnpa.embrapa.br  
1ª Edição  
Tiragem: 500



Ministério da Agricultura,  
Pecuária e Abastecimento



#### Comitê de Publicações

Presidente: Luiz Paulo de Carvalho  
Secretária Executiva: Nivia M.S. Gomes  
Membros: Demóstenes M.P. de Azevedo  
José Wellington dos Santos  
Lúcia Helena A. Araujo  
Maria Auxiliadora Lemos Barros  
Maria José da Silva e Luz  
Napoleão Esberard de M. Beltrão  
Rosa Maria Mendes Freire

**Expedientes:** Supervisor Editorial: Nivia M.S. Gomes  
Revisão de Texto: Nisia Luciano Leão  
Tratamento das ilustrações: Geraldo F. de S. Filho  
Editoração Eletrônica: Geraldo F. de S. Filho