

GERMINAÇÃO *IN VITRO* DE *Crambe abyssinica* HOCHST

WERNER, Elias Terra¹
 GOMES JÚNIOR, Renan Gabriel²
 LUBER, Jaqueline³
 MALAQUIAS, João Otávio da Silva⁴
 GONTIJO, Andreia Barcelos Passos Lima⁵
 AMARAL, José Augusto Teixeira do⁶

Recebido em: 2016.09.28

Aprovado em: 2017.05.02

ISSUE DOI: 10.3738/1982.2278.1880

RESUMO: A germinação *in vitro* de *Crambe abyssinica* Hochst é importante tanto para a propagação massal, quanto como ferramenta para aplicação de outras técnicas biotecnológicas. O objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos de diferentes meios de cultura, condições físicas da semente e condições de luminosidade na germinação *in vitro* de crambe. O experimento foi conduzido segundo um DIC em esquema de parcelas sub-subdivididas, tendo nas parcelas as condições luminosas (presença ou ausência de luz), nas subparcelas os meios de cultura (MS, WPM e B5) e nas sub-subparcelas as condições físicas da semente (presença ou ausência de pericarpo). A porcentagem de germinação foi maior nos meios B5 e WPM, com médias de 99,37% e 97,50%, respectivamente, independente da luz e das condições físicas da semente. Os maiores valores de IVG foram observados, também, nesses meios com média de 3,87 na ausência de luz em sementes sem pericarpo. O comprimento da parte aérea foi influenciado pela composição do meio de cultura e condição luminosa, em que os meios B5 e WPM apresentaram os maiores valores na ausência de luz, que foram de 13,2 e 11,7 cm, respectivamente. Os comprimentos das raízes foram significativamente maiores nos meios MS e B5, com médias de 6,8 e 5,0 cm, respectivamente, em relação ao meio WPM, cuja média foi de 3,5 cm. Para as variáveis avaliadas, as condições mais favoráveis à germinação e desenvolvimento das plântulas *in vitro* são em meio B5 ou WPM, na presença ou ausência de pericarpo e na presença de luz.

Palavras-chave: Biodiesel. Condição de luminosidade. Meios de cultura. Oleaginosas. Pericarpo.

IN VITRO GERMINATION OF *Crambe abyssinica* HOCHST

SUMMARY: The *in vitro* germination of *Crambe abyssinica* Hochst is important for mass propagation, and as a tool for implementation of other biotechnological techniques. The objective of this work was to evaluate the effects of different culture media, physical conditions of the seed, light condition of *in vitro* germination of crambe. The experiment was conducted according to a DIC in a split split-plots, with parcels of light conditions (presence or absence of light), in the subplots the culture media (MS, WPM and B5) and in the sub-subplots the physical conditions (presence or absence of pericarp). The germination percentage was higher in B5 and WPM media, with

¹ Biólogo, Prof. Doutor, Departamento de Biologia, Universidade Federal do Espírito Santo, Campus Alegre, Alto Universitário, caixa postal 16, s/n, 29500-000, Alegre, Espírito Santo.

² Biólogo, Mestre em Genética, Conservação e Biologia Evolutiva, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA), Av. André Araújo, 2936, Aleixo, 69060-001, Manaus, Amazônia.

³ Bióloga, Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade Tropical (Mestranda), Centro Universitário Norte do Espírito Santo, Universidade Federal do Espírito Santo, Rodovia BR 101 Norte, Km. 60, Bairro Litorâneo, São Mateus-ES, Brasil. CEP: 29932-540.

⁴ Graduando em Biologia, Universidade Federal do Espírito Santo, Campus Alegre, Alto Universitário, caixa postal 16, s/n, 29500-000, Alegre, Espírito Santo.

⁵ Bióloga, Prof.^a Doutora, Departamento de Ciências agrárias e Biológicas, Universidade Federal do Espírito Santo, Campus São Mateus, Rodovia BR 101 Norte, Km. 60, Bairro Litorâneo, 29932-540, São Mateus, Espírito Santo.

⁶ Engenheiro Agrônomo, Prof. Doutor, Departamento de Produção Vegetal, Universidade Federal do Espírito Santo, Campus Alegre, Alto Universitário, caixa postal 16, s/n, 29500-000, Alegre, Espírito Santo.

averages of 99.37% and 97.50%, respectively, independent of light conditions and the physical seed. The highest values of IGV were also observed in these media with an average of 3.87 in the absence of light in seeds without pericarp. The length of the shoot was influenced by the composition of the culture media and light condition, in which the media B5 and WPM obtained the highest value in the absence of light, which were 13.2 and 11.7 cm, respectively. The lengths of the roots were significantly higher in MS and B5 media, with averages of 6.8 and 5.0 cm, respectively, compared to WPM, which averaged 3.5 cm. All the variables, the most favorable conditions for *in vitro* germination and seedling development are in B5 medium or WPM, in the presence or absence of the pericarp and in the presence of light.

Keywords: Biodiesel. Culture media. Light condition. Pericarp. Seed oil.

INTRODUÇÃO

O crambe (*Crambe abyssinica* Hochst) é uma planta herbácea anual pertencente à família Brassicaceae, originária da Etiópia (JUDD et al., 2009). A espécie é destinada basicamente à produção de forragem devido possuir 30 a 32% de proteína bruta e, por isso, tem sido bastante cultivada visando à extração de óleo vegetal (NEVES et al., 2007).

Com os atuais incentivos à busca de fontes de energias renováveis, a cultura de *Crambe abyssinica* (*C. abyssinica*) vem ganhando papel de destaque na produção de biodiesel por suas diversas vantagens, como: (a) rápido ciclo de vida (colhida em torno de 90 dias), (b) alta produção de biomassa, (c) alta produção de sementes (1.000 e 1.500 kg ha⁻¹), (d) menor custo de produção em relação a outras fontes oleaginosas como, canola, girassol e soja (JASPER et al., 2010), (e) um teor de óleo total na semente entre 32 e 38%, superando, por exemplo, o teor da soja (PAULOSE et al., 2010), (f) potencial de fitorremediação, eficiente na descontaminação de arsênio, cromo e outros metais pesado (ARTUS, 2006), e elevado percentual de ácido erúico no óleo extraído das sementes (50 a 60%) sendo útil na indústria de plástico e lubrificante (PITOL, 2008).

Devido aos poucos trabalhos realizados com crambe há uma grande lacuna de investigações científicas que tenham como objetivo desenvolver as potencialidades dessa cultura e, conseqüentemente, melhorar os aspectos agrônômicos e tecnológicos para seu emprego na indústria de biodiesel. No entanto, a qualidade da semente e a emergência uniforme são de fundamental importância para atingir elevada produtividade e a sustentabilidade econômica da cultura (COSTA et al., 2010).

Nesse contexto, as técnicas de cultivo *in vitro*, dentre elas a germinação *in vitro*, são importantes tanto para uma eficiente propagação massal, quanto como ferramenta para aplicação de outras técnicas biotecnológicas. Os vários tipos de respostas morfogênicas *in vitro* apresentadas por diferentes espécies fazem com que seja necessário o estabelecimento de condições específicas, como meio nutritivo e luminosidade, adequadas para um eficiente processo de estabelecimento *in vitro* da cultura (RADMANN et al., 2009).

O estudo teve como objetivo avaliar os efeitos de diferentes meios de cultura, condições físicas da semente e condições de luminosidade na germinação *in vitro* de crambe.

MATERIAL E MÉTODO

O experimento foi realizado no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo. Foram utilizadas sementes de *C. abyssinica* da cultivar FMS brilhante, safra de 2010, obtidas com a Fundação MS, localizada em Maracajú, Mato Grosso do Sul.

O experimento foi conduzido segundo um delineamento experimental inteiramente casualizado (DIC) em esquema de parcelas sub-subdivididas. Nas parcelas foram alocadas duas condições de luminosidade na sala de crescimento [fotoperíodo 16/8 horas (luz/escuro) e escuro], nas subparcelas, três meios de cultura [MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962), WPM (LLOYD; MCCOWN, 1980) e B5 (GAMBORG et al., 1968)] e nas sub-subparcelas, as condições físicas da semente (com e sem pericarpo). Cada tratamento constou de quatro () repetições, sendo a repetição constituída por um frasco de vidro, com capacidade de 150 mL e tampa de polipropileno, com 10 sementes (contendo 40 mL de meio).

Para os ensaios de germinação *in vitro* as sementes foram separadas conforme sua condição física, sementes com o pericarpo e sementes que foram submetidas à retirada manual do pericarpo (sem pericarpo). A seguir, foram submetidas ao seguinte processo de desinfestação: inicialmente lavadas em água corrente e detergente neutro comercial por 5 minutos e, em condições assépticas em câmara de fluxo laminar, imersas em álcool 70% (v/v) por 1 minuto seguido pela imersão em hipoclorito comercial (2-2,5% de cloro ativo) por 7 minutos, sendo posteriormente lavadas três vezes com água destilada autoclavada.

Todos os meios de cultura foram suplementados com ágar (7 g L^{-1}), pH ajustado para $5,8 \pm 1$ e autoclavados a 121°C por 20 minutos. As condições de cultivo da sala de crescimento foram ajustadas para temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$. O fotoperíodo foi de 16 horas de luz branca do tipo luz do dia (fluorescentes), com $25,2 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ de fluxos de fótons fotossintéticos.

As variáveis avaliadas após dez dias de inoculação das sementes foram: Porcentagem de germinação (%G), índice de velocidade de germinação (IVG), porcentagem de plântulas normais (%PN), comprimento da parte aérea (PA) e raiz (CR), com auxílio de paquímetro graduado, e massa fresca total (MF), quantificada por meio de pesagem em balança de precisão.

As avaliações de porcentagem de germinação foram realizadas diariamente e sempre no mesmo período do dia, computando-se o número de sementes que apresentaram protrusão da raiz primária com comprimento $\geq 2 \text{ mm}$. No final do experimento, o resultado de germinação foi expresso em porcentagem média.

O IVG foi avaliado diariamente, por meio da fórmula de Maguire (1962): $\text{IVG} = G_1/N_1 + G_2/N_2 + \dots + G_n/N_n$, onde: G_1, G_2, G_n = número de plântulas germinadas na primeira, segunda, até a última contagem e N_1, N_2, N_n = número de dias desde a primeira, segunda, até a última contagem.

Para análise de variância, os dados em porcentagens foram transformados em arco-seno $\sqrt{x/100}$ e os dados do IVG em $\sqrt{x + 0,5}$, porém nas tabelas estão apresentados os dados originais.

Os resultados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey ($p \leq 5\%$), utilizando-se software Assistat versão 7.6 beta (SILVA; AZEVEDO, 2009).

RESULTADO E DISCUSSÃO

A Tabela 1 mostra um resumo dos resultados da análise de variância para as fontes de variação no esquema de parcelas sub-subdivididas para cada variável analisada no presente estudo. Nota-se que a interação entre parcela, sub-parcela e sub-subparcela (condição luminosa, meio de cultura e condição física) não foi significativa para nenhuma das variáveis dependentes analisadas. Verifica-se interação significativa entre parcela (condição luminosa) e sub-parcela (meio de cultura) apenas para a variável comprimento de parte aérea (PA), também entre sub-parcela e sub-subparcela para IVG e PA.

Tabela 1. Resumo da análise de variância para porcentagem de germinação (%G), índice de velocidade de germinação (IVG), porcentagem de plântulas normais (%PN), comprimento de parte aérea (PA), comprimento de raiz (CR) e massa fresca total (MF) de *C. abyssinica* após 10 dias de inoculação.

FV	GL	Quadrados Médios					
		%G	IVG	%PN	PA	CR	MF
Condição luminosa (A)	1	0,0042 ^{ns}	0,8034*	0,0243 ^{ns}	99,4752**	4,0252 ^{ns}	0,0118*
Erro A	6	0,0260	0,1328	0,0292	3,4599	2,9166	0,0007
Meio de cultura (B)	2	0,8692**	3,6872**	0,2089 ^{ns}	91,6302**	44,1458**	0,0144*
A x B	2	0,0269 ^{ns}	0,2382 ^{ns}	0,0385 ^{ns}	14,0839**	0,2558	0,0030 ^{ns}
Erro B	12	0,0303	0,1088	0,0610	1,7776	5,0055	0,0025
Condição física (C)	1	0,1485 ^{ns}	3,9045**	0,0040 ^{ns}	5,2668 ^{ns}	9,2752 ^{ns}	0,0020 ^{ns}
A x C	1	0,0500 ^{ns}	0,2898 ^{ns}	0,0290 ^{ns}	3,9102 ^{ns}	1,5768 ^{ns}	0,0007 ^{ns}
B x C	2	0,1439 ^{ns}	0,9562*	0,1433 ^{ns}	0,0468*	3,3808 ^{ns}	0,0024 ^{ns}
A x B x C	2	0,0096 ^{ns}	0,0167 ^{ns}	0,0041 ^{ns}	2,4739 ^{ns}	4,7775 ^{ns}	0,0001 ^{ns}
Erro C	18	0,0440	0,2169	0,0561	3,2547	2,9047	0,0007
CV Parcela (%)	-	11,54	10,14	12,37	20,25	33,07	12,57
CV Subparcela (%)	-	12,45	9,18	17,86	14,52	43,32	23,58
CV Sub-subparcela (%)	-	15,01	12,96	17,12	19,64	33,00	13,04

** , * significativos a 1 e 5% de probabilidade pelo teste F, respectivamente;

^{ns}: não significativo a 5% pelo teste F;

CV(%): coeficiente de variação.

Para porcentagem de germinação e comprimento de raiz, houve significância apenas nos meios de cultura testados ($p \leq 0,1$). Para o IVG e comprimento da parte aérea, observou-se significância na interação entre os meios de cultura e a condição física das sementes, além de uma significância para as condições de luminosidade. Na variável massa fresca total observou-se diferença estatística entre os meios de cultura testados e as condições de luminosidade.

A porcentagem de germinação não foi influenciada pelas condições de luminosidade e condições físicas testadas, demonstrando que nessa situação não houve exigências fotoblásticas, e que o pericarpo do fruto não dificulta o processo de protrusão da radícula (Tabela 1). Barros et al. (2009), avaliando a porcentagem de germinação em casa de vegetação, observaram que a remoção do pericarpo das sementes de crambe não influenciou a germinação, sendo os resultados similares aos obtidos com sementes intactas, 80 e 82%, respectivamente. Entretanto, Ruas et al. (2010), avaliando a embebição e germinação de sementes de crambe acondicionadas em papel toalha, verificaram que o pericarpo afetou significativamente o processo de germinação, alcançando 89,43% de germinação em sementes sem pericarpo, contra 43,71% com pericarpo.

Os resultados de porcentagem de germinação não diferiram estatisticamente nos meios WPM (97,50%) e B5 (99,37%), tendo o MS demonstrado um valor significativamente inferior (Tabela 2). O processo de germinação *in vitro* teve início logo no primeiro dia após a inoculação, com a protrusão da radícula. Foi observado que os três meios de cultura (MS, B5 e WPM) promoveram a germinação de

sementes de crambe de forma satisfatória para o desenvolvimento de trabalhos na área de cultura de tecidos vegetais, apresentando valores superiores aos relatados por Martins et al. (2011) (80%), Masetto et al. (2011) (76%), Ruas et al. (2010) (89,43%), Dahlke e Simonetti (2010) (80%) e Barros et al. (2009) (82%).

Tabela 2. Porcentagem de germinação de sementes de *C. abyssinica* em diferentes meios de cultura, dez dias após inoculação.

Meio de cultura	Médias (%)
MS	76,87 b
WPM	97,50 a
B5	99,37 a

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5%.

O meio MS tem sido amplamente utilizado para a germinação *in vitro* de diversas espécies oleaginosas (ROCHA et al., 2003; FURTADO et al., 2007; NUNES et al., 2008; COSTA et al. 2010; SOARES et al. 2011), contudo, a maior porcentagem de germinação de sementes de crambe, nos meios nutritivos B5 e WPM em relação ao meio MS deveu-se, provavelmente, à diminuição do potencial osmótico promovido pela redução das concentrações de macro, micronutrientes e, principalmente da sacarose (20 g.L⁻¹ em B5 e WPM e 30 g.L⁻¹ em MS). Resultados semelhantes foram relatados por Soares et al. (2009), trabalhando com moreira (*Maclura tinctoria* D. Don ex Steud) e Gomes (1999) com mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes), em que, obtiveram maior porcentagem de germinação de sementes em meios suplementados com menores concentrações de sacarose. Segundo George et al. (2008), níveis elevados de sacarose no meio podem tornar a água indisponível para a embebição das sementes, impossibilitando o início da germinação.

Em relação ao IVG, houve diferença significativa entre as condições luminosas pelo teste F (Tabela 1), em que nas sementes submetidas à condição de escuro o resultado foi de 13,65, e na condição de fotoperíodo 16/8 horas foi de 12,07. Contrariando os resultados obtidos neste trabalho, Martins et al. (2011), estudando a influência da luz na germinação de sementes de *C. abyssinica* em BOD sob temperatura constante de 25 °C, constataram que o IVG das sementes germinadas na presença de luz foi maior (5,14) que na ausência desta (1,57), e ressaltaram ainda que, mesmo na ausência de luz, há a mobilização das reservas energéticas e a ocorrência do processo germinativo, no entanto, esse processo é fracionado em função do tempo.

Guimarães et al. (2010), testando a influência da luz na germinação em papel toalha de sementes de *Thlaspi caerulescens* (Brassicaceae), concluíram que houve diferença significativa entre as condições luminosas, sendo que a presença de luz aumentou o IVG, no entanto, assim como no presente estudo, não se restringiu a essa condição. Espécies dessa mesma família, sob as mesmas condições, também demonstraram que, durante a germinação, essas sementes foram indiferentes à luz (FERREIRA; RANAL, 1999; ELLIS et al., 1989). Segundo Lopes et al. (2005), essa espécie não possui necessidade específica da luz para a germinação, sendo então classificada como fotoblástica neutra.

Na tabela 3, encontram-se os valores do IVG, em função dos meios de cultura e das condições físicas da semente. Pode ser notado que o maior valor foi encontrado utilizando-se o meio WPM com sementes sem pericarpo (16,09), contudo não existe diferença estatística entre os meios testados dentro

desse fator físico. As sementes germinadas no meio MS com pericarpo obtiveram o menor valor do IVG (6,08), diferindo significativamente das outras condições testadas.

Tabela 3. Índice de velocidade de germinação (IVG) de sementes de *C. abyssinica* em diferentes meios de cultura e condições físicas da semente, avaliados durante dez dias após inoculação.

Meio de cultura	Condição física	
	Presença de pericarpo	Ausência de pericarpo
MS	6,08 bB	12,87 aA
WPM	13,23 aA	16,09 aA
B5	13,61 aA	15,29 aA

Médias seguidas pela mesma letra, minúsculas na coluna ou maiúsculas na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5%.

Neves et al. (2007), estudando a qualidade fisiológica de sementes de crambe semeadas em papel toalha, evidenciaram a inferioridade do IVG em sementes com pericarpo em relação às sementes sem pericarpo, apresentando valores próximos de 6,3 e 2,2, respectivamente. Ruas et al. (2010) afirmaram que as sementes de crambe possuem capacidade de absorção de água mesmo quando envolvidas pelo seu pericarpo.

Em todos os tratamentos testados, observaram-se valores expressivos de plântulas normais, e não houve significância estatística para nenhum dos fatores testados. A média geral observada foi de 92% de plântulas normais no experimento. Portanto, as condições *in vitro* as quais o crambe foi submetido no presente trabalho não compromete significativamente o estabelecimento dessas plântulas.

Em relação à variável comprimento de parte aérea (PA), na Tabela 4, pode ser observado que os maiores valores foram obtidos na condição de escuro em relação à luz, com as maiores médias encontradas no meio B5 (13,25 cm) e WPM (11,71 cm), ambas diferenciando significativamente do meio MS (6,91 cm). Martins et al. (2011), em estudo com germinação de sementes de crambe, em recipientes do tipo gerbox, na ausência ou presença de luz e sob temperatura constante de 25 °C, encontraram resultados contrários aos obtidos no presente trabalho, onde as plântulas germinadas na luz apresentaram maiores tamanhos de parte aérea (8,61 cm) em relação àquelas do escuro (7,10 cm).

Tabela 4. Comprimento da parte aérea (cm) de plântulas de *C. abyssinica* em diferentes meios de cultura e condições luminosas, dez dias após inoculação.

Meio de cultura	Condição luminosa	
	Presença de luz	Ausência de luz
MS	6,00 bA	6,91 bA
WPM	8,63 aB	11,71 aA
B5	8,60 aB	13,25 aA

Médias seguidas pela mesma letra, minúsculas na coluna e maiúsculas na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5%.

Maiores valores do comprimento da parte aérea são esperados na condição de escuro, pois plantas mantidas no escuro por determinado tempo apresentam-se estioladas, com hipocótilos esbranquiçados e de aspecto translúcido (RAVEN et al., 2007; TAIZ; ZEIGER, 2009).

A presença ou ausência do pericarpo das sementes não influenciou o comprimento da parte aérea das plântulas cultivadas nos três meios de cultura (Tabela 5). As maiores médias foram encontradas nos meios B5 e WPM, sendo os tratamentos estatisticamente iguais entre si e superiores em relação ao meio MS.

Tabela 5. Comprimento da parte aérea (cm) de plântulas de *C. abyssinica* em diferentes meios de cultura e condições físicas da semente, dez dias após inoculação.

Meio de cultura	Condição física	
	Presença de pericarpo	Ausência de pericarpo
MS	6,72 bA	6,18 bA
WPM	10,53 aA	9,81 aA
B5	11,28 aA	10,56 aA

Médias seguidas pela mesma letra, minúsculas na coluna e maiúsculas na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5%.

Segundo Kanashiro et al. (2007) e Grossi (2000), a alta concentração de NH_4^+ e NO_3^- presentes na formulação do meio MS poderia inibir o desenvolvimento, a morfogênese e o crescimento das plantas *in vitro*. Esse retardo no desenvolvimento da parte aérea pode ter refletido no tamanho reduzido da parte aérea no meio MS, comparando-se com os demais tratamentos, indicando que menor relação $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$ seria necessária para obter melhores resultados.

Resultados semelhantes foram encontrados por Barros et al. (2009), avaliando tratamentos para a superação de dormência de sementes de crambe em casa de vegetação. Esses autores verificaram que as plantas germinadas em campo, independente da condição física das sementes (com ou sem pericarpo) apresentaram valores de comprimento de parte aérea numericamente iguais (4,55 cm).

Na Tabela 6 constam os valores médios para o comprimento de raiz apenas em relação aos meios de cultura testados, pois não foi observada significância nas interações entre os fatores. Os maiores valores para essa variável foram obtidos no meio MS (6,89 cm) e B5 (5,01 cm). Os menores comprimentos foram observados no meio WPM (3,58 cm) que também não diferiu estatisticamente do B5.

Tabela 6. Comprimento de raiz (cm) de plântulas de *C. abyssinica* em diferentes meios de cultura, dez dias após inoculação

Meio de cultura	Médias (cm)
MS	6,89 a
WPM	3,58 b
B5	5,01 ab

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5%.

Esses resultados corroboram com os apresentados para a variável comprimento da parte aérea, pois no meio MS as plântulas inicialmente investem no seu sistema radicular, conseqüentemente obtendo menores resultados para comprimento da parte aérea. As diferenças encontradas nos meios MS e WPM podem estar relacionadas com a concentração de sais entre eles. O meio MS apresenta quatro vezes mais íons nitrato e amônio que o meio WPM (PASQUAL, 2001), sendo que esses íons, segundo Poddar et al. (1997) e Mercier e Kerbaux (1998) influenciam no aumento dos níveis endógenos de auxina, o que provavelmente pode ter favorecido o desenvolvimento de raiz de forma mais acentuada. Por outro lado, Gomes e Shepherd (2000) mostraram que o comprimento da raiz de *Sinningia allagophylla* (Gesneriaceae) não apresentou diferença significativa com o aumento da concentração de nitrogênio no meio MS.

Outro fator que pode ter influenciado os resultados seria o cálcio. O meio MS possui aproximadamente 4,5 vezes mais íons cálcio que o WPM e segundo Takane (2002) e, Taiz e Zeiger (2009), esse elemento é essencial no desenvolvimento radicular, pois, diminui o pH da parede celular, tornando-a menos rígida, aumentando sua plasticidade, possibilitando o processo de alongamento da célula (RAYLE; CLELAND, 1992).

A sacarose é outro fator que poderia ter influenciado os resultados, mas não isoladamente, uma vez que o meio MS contém maior concentração de sacarose em relação aos meios WPM e B5 e, conseqüentemente, favoreceu o maior crescimento de raiz. Alguns trabalhos relatam que a presença desse carboidrato é essencial para o enraizamento *in vitro* de muitas espécies (GRATTAPAGLIA; MACHADO, 1998).

A variável massa fresca total apresentou significância apenas para os meios de cultura e para condição luminosa (Tabela 1). Na presença de luz, a massa fresca apresentou média de 0,2307 g diferindo estatisticamente da condição ausência de luz, com média de 0,1992 g. Martins et al. (2011), trabalhando com sementes de crambe germinadas em placa de petri em BOD, também relataram resultados semelhantes aos aqui apresentados em que, na presença de luz, obtiveram massa fresca de 0,685 g, diferenciando estatisticamente do escuro, com 0,428 g, após 12 dias do início da germinação.

A luz é um fator fundamental para as plantas, pela ação direta ou indireta na regulação de seu crescimento e desenvolvimento (MORINI; MULEO, 2003), desencadeando sinais internos de ativação ou inativação de vias metabólicas nas sementes e nas plantas (BHATTACHARYA; KHUSPE, 2001; KERBAUY, 2008). A transição da condição heterotrófica do embrião, dependente das reservas nutritivas, para o estágio autotrófico da plântula é regulada pela luz (KERBAUY, 2008). A ausência ou a presença desse fator físico revela variações nos parâmetros morfológicos e fisiológicos e na otimização da produção de metabólitos primários e secundários (VICTÓRIO; LAGE, 2009).

Os meios de cultura influenciaram significativamente os valores de massa fresca total, com os meios WPM e B5 apresentando resultados superiores (0,2305 e 0,2341 g, respectivamente) ao meio MS (0,1803 g) (Tabela 7). Segundo Kanashiro et al. (2007), a massa fresca total diminui linearmente à medida que se aumenta a concentração de nitrogênio. Comportamento semelhante foi observado por Grossi (2000), em que a menor concentração desse elemento mineral promoveu maior produção de massa fresca. Provavelmente, o cultivo em concentrações maiores de nitrogênio tenderia a diminuir a produção de massa fresca, como foi observado no presente experimento.

Tabela 7. Massa fresca total (g) de plântulas de *C. abyssinica* em diferentes meios de cultura, dez dias após inoculação

Meio de cultura	Médias (g)
MS	0,1803 b
WPM	0,2305 a
B5	0,2341 a

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5%.

CONCLUSÃO

Para todas as variáveis avaliadas, o meio B5 e o WPM são mais indicados à germinação *in vitro* de plântulas de crambe, sendo que, a presença ou ausência de pericarpo nas sementes não influenciou nas condições aqui testadas. A presença de luz é recomendada, pois sua ausência estimula o estiolamento das plântulas e o não desenvolvimento do epicótilo.

REFERÊNCIAS

- ARTUS, N. N. Arsenic and cadmium phytoextraction potential of crambe compared with Indian mustard. **Journal of Plant Nutrition**, London, v. 29, p. 667-679, 2006.
- BARROS, A. P. B. et al. **Avaliação de tratamentos para superação de dormência em sementes de *Crambe abyssinica***. In: congresso brasileiro de plantas oleaginosas, 6. Montes Claros-MG. *Anais*. 2009. Disponível em: <http://www.enerbio.ind.br/wp-content/uploads/2011/05/a5_545-Avaliacao-de-Tratamentos-para-Superacao-de-Dormencia.pdf>. Acesso: 01 set. 2016.
- BHATTACHARYA, J.; KHUSPE, S. S. *In vitro* and *in vivo* germination of papaya (*Carica papaya* L.) seeds. **Scientia Horticulturae**, South Africa, v. 91, n. 01-02, p. 39-49, 2001.
- COSTA, J. da L. et al. Estabelecimento *in vitro* de sementes de pinhão manso (*Jatropha curcas* L.) – Euphobiaceae. **Caderno de pesquisa série Biologia**, Santa Cruz do Sul, v. 22, n. 3, 2010. Disponível em: <www.bioline.org.br/request?cp10012>. Acesso: 12 de set. 2016.
- DAHLKE, C. F.; SIMONETTI, A. P. M. M. Interferência de diferentes temperaturas na germinação do crambe. **Cultivando o Saber**, Cascavel, v. 3, n. 4, p. 167-174, 2010.
- ELLIS, R. H.; HONG, T. D.; ROBERTS, E. H. Quantal response of seed germination in seven genera of Cruciferae to white light of varying photon flux density and photoperiod. **Annals of Botany**, Exeter, v. 63, p. 145-158, 1989.
- FERREIRA, W. R.; RANAL M. A. Germinação de sementes e crescimento de plântulas de *Brassica chinensis* L. var. *parachinensis* (Bailey) Sinskaya (couve-da-malásia). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 34, p. 353-361, 1999.
- FURTADO, C. M. et al. Comparação da frequência de regeneração *in vitro* do amendoim (*Arachis hipogaea*), utilizando diferentes citocininas. **Revista de Biologia e Ciência da Terra**, Sergipe, v. 7, n. 1, 2007.

GAMBORG, O. L.; MILLER, R. A.; OJIMA, K. Nutrient requirements of suspension cultures of soybean root cells. **Experimental Cell Research**, Stockholm, n. 50, p. 151-158, 1968.

GEORGE, E. F. **Plant propagation by tissue culture: part 1, the technology**. Edington: Exegetics, 1996. 1574 p.

GOMES, G. A. **Propagação in vitro de Moreira (*Maclura tinctoria*)**. 1999. 91 p. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 1999.

GOMES, M. A. N.; SHEPHERD, S. L. K. Estudo de nutrição mineral *in vitro* relacionado à adaptação de *Sinningia allagophylla* (Martius) Wiehler (Gesneriaceae) às condições de cerrado. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 23. p. 153-159, 2000.

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. IN: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: Embrapa Spi/Embrapa-Cnph. v. 1, p. 183-260, 1998.

GROSSI, F. **Aspectos da nutrição nitrogenada in vitro e atividade da redutase de nitrato em uma espécie de bromélia**. 2000. Tese (Doutorado). Universidade de São Paulo, Piracicaba.

GUIMARÃES, M. A. et al.. Influência da temperatura, luz e giberelina na germinação de sementes de *Thlaspi caerulescens* J. Presl & C. Presl (Brassicaceae). **Revista Ceres**, Viçosa, v. 57, n. 3, p. 372-376, 2010.

JASPER, S. P.; BIAGGIONI, M. A. M.; SILVA, P. R. A. Comparação do custo de produção do crambe (*Crambe abyssinica* Hochst) com outras culturas oleaginosas em sistema de plantio direto. **Revista Energia na Agricultura**, Botucatu, v. 25, n. 4, p. 141-153, 2010.

JUDD, W. S. et al. 2009. **Sistemática Vegetal: um enfoque filogenético**. 3. ed, Artmed. 632p.

KANASHIRO, S. et al. Efeitos de diferentes concentrações de nitrogênio no crescimento de *Aechmea blanchetiana* (Baker) L. B. Sm. cultivada *in vitro*. **Hoehnea**, São Paulo, v. 34, n. 1, p. 59-66, 2007.

KERBAUY, G. B. **Fisiologia Vegetal**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008. 431 p.

LLOYD, G.; MC COWN, B. Commercially-feasible micropropagation of Mountain laurel, *Kalmia latifolia*, by use of shoot tip culture. **International Plant Propagation Society Proceedings**, Washington, v. 30, p. 421-427, 1980.

LOPES, J. C. et al. Influência de temperatura, substrato e luz na germinação de sementes de bertalha. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 27, n. 2, 2005.

MAGUIRE, J. D. Speeds of germination-aid selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, Madison, v. 2, p. 176-177, 1962.

MARTINS, L. M.; COSTA, F. P.; LOPES, J. C. Light influence on seed germination of crambe (*Crambe abyssinica* hochst). **Nucleus**, Ituverava, v. 8, n. 1, p. 405-412, 2011.

MASETTO, T. E. et al. Potencial hídrico do substrato e teor de água das sementes na germinação do crambe. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 33, n. 3, p. 511-519, 2011.

MERCIER, H.; KERBAUY, G. B. Endogenous IAA and Cytokinin levels in bromeliad shoots as influenced by glutamine and ammonium nitrate treatments. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Brasília, v. 10, n. 3, p. 225-228, 1998.

MORINI, S.; MULEO, R. Effects of light quality on micropropagation of woody species. In: JAIN, S. M.; ISHII, K. **Micropropagation of woody trees and fruits**. Dordrecht, Kluwer Academic Publishers, p. 3-35, 2003.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A. A revised medium for rapid growth and bioassays with tabaco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 15, n. 3, p. 473-497, 1962.

NEVES, M. B. das et al. **Qualidade fisiológica de sementes de crambe produzidas em Mato grosso do sul**. Disponível em:

http://www.cpact.embrapa.br/publicacoes/download/livro/Agroenergia_2007/Agroener/trabalhos/Outras%20culturas_11_OK/Neves_1.pdf . Acesso em: 15 set. 2016.

NUNES, C. F. et al. de. Diferentes suplementos no cultivo *in vitro* de embriões de pinhão-manso. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 43, n. 1, p. 9-14, 2008.

PASQUAL, M. **Cultura de tecidos vegetais: tecnologia e aplicações: meios de cultura**. Lavras: UFLA/FAEPE, 2001. 74 p.

PAULOSE, B.; KANDASAMY, S.; DHANKHER, O. P. Expression profiling of *Crambe abyssinica* under arsenate stress identifies genes and gene networks involved in arsenic metabolism and detoxification. **BMC Plant Biology**, London, v. 10, n. 108, p. 1-12, 2010.

PITOL, C. Cultura do crambe. **Tecnologia e produção: milho safrinha e culturas de inverno 2008**. Fundação MS, 2008.

PODDAR, K.; VISHNOI, R. K.; KOTHARI, S. L. Plant regeneration from embryogenic callus of finger millet *Eleusine coracana* (L.) Gaertn, on higher concentrations of NH_4NO_3 as a replacement of NAA in the medium. **Plant Science**, Limerick, v. 129, p. 101-106, 1997.

RADMANN, E. B. et al. Multiplicação *in vitro* e alongamento das brotações micropropagadas do porta-enxerto 'Tsukuba 1' (*Prunus persica* L.). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 31, n. 3, p. 656-663, 2009.

RAVEN, P. H.; EVERT, R. F.; EICHORN, S. E. **Biologia vegetal**. 7. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2007. 856 p.

RAYLE, D. L.; CLELAND, R. E. The acid growth theory of auxin-induced cell elongation is alive and well. **Plant Physiology**, Rockville, v. 99, p. 1271-1274, 1992.

ROCHA, M. S. et al. Métodos de regeneração *in vitro* da mamoneira a partir de diferentes tipos de explantes. **Revista brasileira de Oleaginosas e Fibrosas**, Campina Grande, v. 7, n. 1, p. 647-652, 2003.

RUAS, R. A. A.; NASCIMENTO, G. B.; BERGAMO, E. P.; DAUR JÚNIOR, R. H.; ARRUDA, R. G. Embebição e germinação de sementes de crambe (*Crambe Abyssinica*). **Pesquisa agropecuária tropical**, Goiânia, v. 40, p. 61-65, 2010.

SILVA, F. de A. S. E.; AZEVEDO, C. A. V. de. Principal Components Analysis in the Software Assistat-Statistical Attendance. In: WORLD CONGRESS ON COMPUTERS IN AGRICULTURE, 7, **Anais...** Reno-NV-USA: American Society of Agricultural and Biological Engineers, 2009.

SOARES, F. P. et al. de. Efeito de meios de cultura, concentrações de GA_3 e pH sobre a germinação *in vitro* de mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes). **Ciência Agrotécnica**, Lavras, v. 33, Edição Especial, p. 1847-1852, 2009.

SOARES, J. D. R. et al. de. Germinação de embriões e crescimento inicial *in vitro* de macaúba. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 41, n. 5, p. 773-778, 2011.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2013. 918 p.

TAKANE, R. J. **Influência da sacarose e do cloreto de cálcio na aclimação e no crescimento inicial de plântulas de *Oncidium varicosum* Lindl. & Paxton (Orchidaceae) germinadas *in vitro***. 2002. 79f. Tese (Doutorado em Produção Vegetal)-Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinária, Jaboticabal.

VICTÓRIO, C. P.; LAGE, C. L. S. Effects of light qualities and growth regulators on in vitro flowering of *Phyllanthus tenellus* Roxb. **General and Applied Plant Physiology**, Sofia, v. 35, n. 1-2, p. 44-50, 2009.