V. 9, n. 1, p. 30-35, jan - mar, 2013.

UFCG - Universidade Federal de Campina Grande. Centro de Saúde e Tecnologia Rural – CSTR. Campus de Patos – PB. www.cstr.ufcg.edu.br

Revista ACSA:
http://www.cstr.ufcg.edu.br/acsa/

Revista ACSA – OJS:
http://150.165.111.246/ojs-patos/index.php/ACSA

Magda L. B. de Lima[1*],

Verônica S. F. Lima[2],

Tatiana M. da Silva[3],

João P. N. de Almeida[4]

AGROPECUÁRIA CIENTÍFICA NO SEMIÁRIDO – ISSN 1808-6845

Revisão de Literatura

Uso da transformação genética na cultura da mamoneira Riccinus communis L.

RESUMO

O objetivo dessa revisão é apresentar as características relacionadas ao uso da engenharia genética na cultura da mamoneira (*Riccinus communis* L.) visando à melhoria e/ou solução das problemáticas apresentadas pela cultura. O uso extensivo de energia proveniente de fontes não renováveis propicia problemas relacionados principalmente à agressão ao meio ambiente. Nisto, o uso de oleaginosas tais como: pinhão manso, girassol, mamona, vem sendo cada vez mais aplicado como medida mitigadora desses problemas. Tendo em vista a grande demanda exigida do óleo extraído da cultura da mamoneira para a produção de biocombustível, ressaltando a necessidade de estudos avançados e precisos na área da engenharia genética. Salientando que não basta apenas estabelecer protocolos de regeneração *in vitro*, mas também protocolos de transformação genética, podendo ser por meios biológicos ou físicos.

Palavras-chave: *Ricinus communis* L., biocombustível, ricina

Use of genetic transformation in the culture of Riccinus communis L.

ABSTRACT

The objective of this review is to present the characteristics related to the use of genetic engineering in the culture of castor bean (Riccinus communis L.) aiming at improving and / or solution of the problems presented by the culture. Extensive use of energy from non-renewable sources provides problems mainly related to harm to the environment. Herein, the use of oilseeds such as jatropha, sunflower, castor, is being increasingly applied as a mitigation measure these problems. Given the high demand required oil extracted from the castor bean cultivation for biofuel production, underscoring the need for accurate and advanced studies in the field of genetic engineering. Stressing that it is not enough to establish protocols for in vitro regeneration, but also genetic transformation protocols and can be physical or by biological means.

*Autor para correspondência
Recebido para publicação em11/11/2012. Aprovado em 30/03/2013.
[1]Engenheira Agrônoma, Mestranda do Programa de Pós-graduação em Fitotecnia/Agronomia, UFC, Fortaleza-CE. Email: laiara_lima@yahoo.com.br
[2]Engenheira Agrônoma, Bolsista CNPq de Desenvolvimento Tecnológico Industrial – DTI, nível 3, Universidade Federal do Ceará-CE. E-mail: veronicasfb@yahoo.com.br
[3] Engenheira Agrônoma, Mestranda do Programa de Pós-graduação em Fitotecnia/Agronomia, UFC, Fortaleza-CE. Email: tatianad.silva@hotmail.com
[4]Engenheiro Agrônomo, Mestrando do Programa de Pós-graduação em Fitotecnia/Agronomia, UFC, Fortaleza-CE. Email: joaopaulonobre@yahoo.com.br

Key-word: *Ricinus communis* L., biofuel, ricin

INTRODUÇÃO

A mamoneira, oleaginosa da família das Euforbiáceas (BARROS JUNIOR et al., 2008), cujo óleo extraído de suas sementes é solúvel em álcool com inúmeras aplicações na indústria, sendo usado na fabricação de plásticos, fibras sintéticas, tintas, esmaltes, entre outros (Fonseca et al., 2004).

Por ser uma oleaginosa, vem sendo visada para a produção de Biodiesel tornando-se muito importante para o Brasil e, em especial, para o Nordeste devido aos incentivos do governo para a produção do mesmo. Segundo o IBGE (2012) a área plantada da mamoneira em baga em 2007 foi de 153.850 e em 2008 a área a ser colhida é de 166.644 ha, uma variação percentual de 8,3. O cultivo e o processamento da mamoneira expõem os agricultores a uma proteína altamente tóxica, a ricina, e as proteínas alergênicas, as albuminas (MACHADO; SILVA, 1992; LORD, 1994). Essas limitações podem ser solucionadas ou minimizadas com o uso da engenharia genética.

Um dos passos limitantes na engenharia genética é o estabelecimento de protocolos de regeneração e transformação genética que sejam reproduzíveis e que possam ser utilizados para diversos genótipos. Entre as vias de regeneração, a organogênese direta apresenta como característica a não intervenção de *calli*, e, desta forma, não apresenta variação somaclonal. Em *R. communis*, protocolos de regeneração foram estabelecidos por via direta e indireta para cultivares indiana (SUJATHA; REDDY, 1998; KUMARY et al., 2008).

Embora a transformação genética nessa espécie já tenha sido realizada via *Agrobacterium* e via biobalística (SUJATHA; SAILAJA, 2005; MALATHI et al., 2006; SAILAJA et al., 2008), não há na literatura protocolos de regeneração e transformação genética estabelecidos para cultivares brasileiras. Isso se torna necessário uma vez que essa cultura vem se tornando tão importante, em especial para o Nordeste.

Através da engenharia genética poderia realizar-se o silenciamento dos genes responsáveis pela biosíntese da ricina e das albuminas 2S, proteínas tóxicas e alergênicas presentes nas sementes da mamoneira, respectivamente, bem como a transformação genética visando à inserção de genes exógenos responsáveis por conferir resistência a pragas, por exemplo. Portanto, o objetivo dessa revisão é apresentar as características relacionadas ao uso da engenharia genética na cultura da mamoneira (*Ricinus communis* L.) visando a melhoria e/ou solução das problemáticas apresentadas pela cultura.

Cultura de tecidos de Ricinus communis L.

A mamoneira é uma espécie considerada recalcitrante à regeneração in vitro e poucos trabalhos, com essa cultura, mostraram resultados satisfatórios em relação a esse processo. A primeira pesquisa com cultura de tecidos de *R. communis* utilizou como explante o endosperma da semente. Nessa, conseguiu-se a formação de embrióides a partir de calo do endosperma maduro, porém não houve a indução da organogênese (SRIVASTAVA, 1971). Na segunda pesquisa, utilizou-se novamente o endosperma da semente madura e alcançou-se a formação de calo em meio semi-sólido modificado de White suplementado com 2,4-D, CIN e extrato de levedura (SRIVASTAVA, 1971). Os calos foram subcultivados após quatro semanas para o mesmo meio e, após o quarto subcultivo, mostraram um crescimento satisfatório e tornaram-se compactos. Ou seja, o endosperma maduro de *R. communis* foi induzido a se dividir e formar calo crescendo continuamente, porém não houve sucesso na indução da organogênese à partir do mesmo.

Até então, os trabalhos relacionados à cultura de tecidos de mamoneira estavam limitados a indução de calo em endosperma. Em 1983, Athma e Reddy testaram a habilidade de formação de calo em diferentes explantes originados de plântulas (raízes, epicótilo e folhas cotiledonares) com a utilização dos reguladores de crescimento 2,4-D, BAP e ANA, isolados e em diferentes concentrações. Calos surgiram em todos os explantes quando colocados em meio suplementado com 2,4-D. A maior eficiência na formação de calo foi obtida quando se utilizou o epicótilo em meio suplementado com 2,4-D, seguido das raízes em meio suplementado com BAP, e das folhas cotiledonares em meio suplementado com 2,4-D. Conseguiu-se o enraizamento em todos os explantes, porém a regeneração direta só foi alcançada com o epicótilo, provavelmente devido à presença de meristemas pré existentes no explante original como discutido pelos autores. Os autores não obtiveram sucesso em induzir organogênese a partir do calo, ocorreu apenas o esverdeamento do mesmo.

Reddy et al. (1987) induziram a formação do calo em folhas cotiledonares de mamoneira em meio MS suplementado com BAP (2 $mg.L^{-1}$) e AIA (1 $mg.L^{-1}$) com o objetivo de formar compostos fenólicos nos *calli* formados através de irradiação gama.

Folhas jovens de plântulas de *R. communis* com 12 dias de idade foram utilizadoas como explante e, através destas, conseguiu-se a formação de gemas adventícias e sua diferenciação (REDDY; BAHADUR, 1989). As gemas adventícias foram formadas quando os explantes foram colocados em meio MS suplementado com CIN (2 $mg.L^{-1}$) e AIA (1 $mg.L^{-1}$) foram tranferidas para o meio de enraizamento consistindo de ½ MS suplementado com CIN (0,5 $mg.L^{-1}$) e NAA (2 $mg.L^{-1}$). Por meio de análises histológicas observou-se que as gemas adventícias foram originadas do tecido epidérmico das folhas e, raramente, do tecido subepidérmico. Apesar do êxito na formação de gemas adventícias, a taxa de diferenciação dessas em plantas foi baixa devido ao seu retardado crescimento e a constante presença de calo

durante todos os estágios da organogênese, como discutidos pelos autores.

Um protocolo de micropropagação para a mamoneira foi estabelecido utilizando-se como explantes gemas apicais e axilares de plantas com dois meses de idade cultivados em meio MS suplementado com diferentes concentrações de BAP (MOLINA; SCHOBERT, 1995). Nesse protocolo alcançou-se o maior número de partes aéreas quando os explantes foram colocados em meio com 1000 nM de BAP, porém a taxa de multiplicação foi baixa atingindo um máximo de 4,4 partes aéreas por explante. Para o enraizamento, os autores obtiveram maior sucesso quando utilizaram o meio ½ MS com 225 $mg.L^{-1}$ de NH_4NO_3 suplementado com Ácido Indol Butírico (AIB) em uma concentração de 100 nM. Nesse trabalho conseguiu-se a formação de partes aéreas e o seu posterior enraizamento, porém a aclimatação dos regenerantes não foi realizada.

Múltiplas partes aéreas de mamoneira também foram conseguidas quando se utilizou os explantes meristemáticos, eixo embrionário e ápice caulinar (SUJATHA; REDDY, 1998). Utilizaram-se várias citocininas em diferentes concentrações. O maior número de partes aéreas, utilizando-se como explante o eixo embrionário, foi obtido quando esse foi colocado em meio contendo altas concentrações de TDZ (5,0 e 10,0 $mg.L^{-1}$). Com relação ao ápice caulinar obteve-se a melhor resposta quando os explantes foram colocados em contato com o meio contendo BAP. Os resultados obtidos nessa pesquisa foram melhores no que diz respeito à proliferação de partes aéreas, uma vez que se obtiveram até 81,7 partes aeres quando os eixos embrionários foram colocados em meio com TDZ. Antes do enraizamento das partes aéreas foi necessária a aplicação de GA_3 para o alongamento dos nós uma vez que esses estavam muito curtos e, dessa forma, teriam um difícil enraizamento. A melhor resposta no enraizamento foi obtida quando de utilizou meio ½ MS suplementado com 1,0 $mg.L^{-1}$ de IBA. Pela primeira vez, obteve-se a aclimatação das partes aéreas enraizadas e alcançou-se um percentual de sobrevivência de 60%.

Partes aéreas adventícias foram formadas quando se utilizou como explante o hipocótilo de *R. communis* (AHN et al., 2007). Avaliaram-se os efeitos dos reguladores de crescimento TDZ e BAP na formação de partes aéreas, bem como, de um pré-tratamento de escuro. O tratamento do escuro aumentou significativamente o comprimento do hipocótilo, bem como a formação das partes aéreas. A frequência de formação atingiu um máximo de 24,2 partes aéreas em meio suplementado com TDZ com um aumento de 82% comparado com o controle, o qual não recebeu o pré-tratamento de escuro. O TDZ mostrou-se mais eficiente que BAP na regeneração de partes aéreas adventícias de *R. communis.* Para o enraizamento testaram-se os reguladores de crescimento AIB e ANA. O primeiro proporcionou os melhores resultados os quais foram refletidos no tamanho das raízes primárias, na formação de raízes laterais e no número de partes aéreas que tiveram suas folhas expandidas. O percentual de sobrevivência das plantas aclimatadas foi maior quando as plantas foram enraizadas em meio suplementado com AIB. Análises histológicas revelaram que os botões aéreos adventícios foram originados do córtex do hipocótilo.

A regeneração adventícias de mamoneira também foi conseguida em 2008 por Ahn e Chen quando os autores utilizaram explantes cotiledonares isolados do embrião. Nesse trabalho, os explantes foram submetidos a um pré-tratamento de escuro de sete dias e foram avaliadas diferentes concentrações de TDZ. A maior taxa de regeneração foi obtida quando se utilizou a concentração de 5µM de TDZ e essa foi aumentada em aproximadamente seis vezes quando os explantes foram pré-incubados por sete dias no escuro atingindo um máximo de 25 partes aéreas por explante. O pré tratamento de escuto levou a um aumento no tamanho do explante e, consequentemente, no peso seco. Quando os explantes foram transferidos para o ciclo claro/escuro as partes aéreas foram surgindo em sua região proximal. Em alguns casos, os explantes que estavam no escuro desenvolveram pecíolos, e partes aéreas adventícias foram originadas na junção pecíolo-cotilédone. As partes aéreas desenvolveram-se mais vigorosamente na superfície adaxial dos cotilédones. O enraizamento foi conseguido com AIB e as plantas foram aclimatadas em casa de vegetação em potes contendo vermiculita. Análises histológicas de junção pecíolo-cotilédone foram realizadas e observou-se que as partes aéreas surgiram das células corticais e epidérmicas na região adaxial dessa junção. Como explicado pelos autores, o motivo pelo qual há um aumento na regeneração de partes aéreas quando plantas são submetidas há um pré-tratamento de escuro ainda não foi elucidado, mas pode ser devido a mudanças moleculares e celulares experimentadas nestas condições, tais como: menor degradação dos reguladores de crescimento endógenos e exógenos; alto nível de células não diferenciadas e um reduzido espessamento da parede celular ou de depósitos na mesma.

A organogênese com uma passagem intermediária de calo em *R. communis* foi obtida quando se utilizou como explante cotilédones de plântulas (KUMARI et al., 2008). Alcançou-se aq maior proliferação de calo organogênico em meio suplementado com sais MS, vitamina B5, BAP (2,0 $mg.L^{-1}$) e NAA (0,8 $mg.L^{-1}$). Obteve-se a melhor resposta quanto à proliferação de partes aéreas quando o calo foi colocado em meio de cultura suplementado com sais MS, vitamina B5, TDZ (2,5 $mg.L^{-1}$) e ANA (0,4 $mg.L^{-1}$), onde o número máximo de partes aéreas formadas foi de 17,8. Os autores demonstraram que a adição de PVP (15 $mg.L^{-1}$), para evitar a oxidação do meio, ocasionou em aumento na quantidade de partes aéreas de 17,8 para 20. A adição de alguns aminoácidos, em especial a glutamina, também mostrou aumentar aquantidade de partes aéreas regeneradas, onde foi obtida uma formação máxima de 22,1. As partes aéreas foram alongadas em meio suplementado com TDZ (1,5 $mg.L^{-1}$) e GA_3 (0,3 $mg.L^{-1}$).

Quanto ao enraizamento, os melhores resultados foram obtidos quando as partes aéreas foram colocadas em meio suplementado com AIB (0,3 mg.L^{-1}) em combinação com $AgNO_3$ (0,6 mg.L^{-1}). As plantas enraizadas foram aclimatadas em potes contendo areia e vermiculita.

Várias tentativas de regenerar a mamoneira, uma espécie considerada recalcitrante para tal processo foram realizadas, utilizando diferentes tipos de explantes e diferentes via de regeneração. Nota-se a importância do estabelecimento de um protocolo que seja reproduzível e que apresente uma alta taxa de multiplicação. O protocolo estabelecido por Sujatha e Reddy (1998) foi o que apresentou a maior taxa de formação de partes aéreas, no entanto não se demonstrou nessa investigação qual a origem das mesmas. A identificação dessa origem torna-se importante uma vez que pode facilitar o tecido alvo da transformação genética.

Transformação genética de Ricinus communis L.

As pesquisas realizadas na tentativa de transformar geneticamente a mamoneira utilizaram eixos embrionários como explante, sendo a transformação realizada via *Agrobacterium tumenfaciens* via biobalística.

A transformação genética de mamoneira utiizando um sistema de regeneração existente na literatura através da proliferação de meristemas foi realizada por Sujatha e Sailaja (2005). Esses autores adaptaram o protocolo estabelecido por Sujatha e Reddy (1998) e estudaram as condições ótimas para o estabelecimento de um protocolo de transformação via *A. tumenfaciens.* Utilizou-se o plasmídeo pCAMBIA o qual expressava o gene repórter *gus* e o gene *hpt* como marcador seletivo. As culturas foram mantidas a 26±2ºC sobre um fotoperíodo de 16 horas. A transformação genética foi obtida com sucesso sendo confirmada após três ciclos de seleção através de análises histoquímicas com o gene *gus.* A presença e a integração estável do gene *hpt* foram confirmadas por PCR, RT-PCR, análises de sequência, *Southern blot* e PCR da progênie. Nesse trabalho observou-se que, a densidade das células bacterianas e o explante foram significativos na expressão transiente do gene *gus* e parâmetros como o meio de seleção e o período de co-cultivo forma estabelecidos. Os explantes foram colocados em meio contendo 0,5 mg.L^{-1} de TDZ e, posteriormente, foram transferidos para meio de diferenciação das partes aéreas contendo BAP mg.L^{-1}. As partes aéreas com 2 ou 3 nós foram enraizados em meio ½ MS suplementado com 2,0 mg.L^{-1} de ANA e, posteriormente, foram aclimatizadas em potes contendo vermiculita. Com esse protocolo, transformantes primários foram desenvolvidos em cinco meses a partir do início da cultura com uma frequência de transformação, após três ciclos de seleção, 0,08%.

Em outro trabalho em que se tentou a transformação da mamoneira via *Agrobacterium*, utilizou-se o plasmídeo pSB11 *cryIAbbar* expressando um gene exógeno desejável, *cryIAb*, o qual confere resistência à lagarta *Achaea janata* que ataca a cultura, e o gene *bar*, resistente a herbicida, como agente seletivo (MALATHI et al., 2006). A integração estável do gene *gus* foi confirmada quando os transformantes primários GUS positivo foram submetidos à análise de Southern blot. Esses foram submetidos ao teste ELISA para a verificação dos níveis da proteína Cry e, aqueles transgênicos que expressaram o gene *cryIAb*, foram submetidos a bioensaios contra a lagarta *Achoea janata*. Utilizou-se para a regeneração e proliferação de partes aéreas meio MS completo suplementado com 0,2 mg.L^{-1} de BAP e 0,5 mg. L^{-1} de cinetina. Nesse trabalho foram utilizados como explantes eixos embrionários que por sua vez foram cultivados em meio de seleção contendo antibióticos e 0,5 mg. L^{-1} de BAP + 0,5 mg. L^{-1} de cinetina. Os tecidos sobreviventes e sadios oriundos do meio de seleção foram transferidos para o meio de regeneração e deram origem a partes aéreas. As partes aéreas foram alongadas em meio MS suplementado com BAP, cinetina e GA_3 e, posteriormente, foram enraizados em meio ½ MS contendo ANA. Os resultados do bioensaio mostraram 88% de mortalidade dos insetos. A frequência de transformação nesse trabalho foi de 0,42% sendo 5,25 vezes maior que a frequência de transformação obtida no trabalho citado anteriormente (0,08%), vale ressalta que a cultivada em ambos os trabalhos foi a mesma mostrando que essa maior frequência de transformação não foi devido a dependência do genótipo, mas pode ter sido devido ao protocolo de regeneração utilizado.

A transformação genética da mamoneira via biobalística foi realizada por Sailaja et al., (2008) onde se utilizou eixo embrionário como explante. Utilizaram-se os plasmídeos pCAMBIA 1303.1, contendo os genes *hpt* e *gus*, e pCAMBIA 2301, com seleção para canamicina. As culturas foram mantidas a 26±2ºC sobre um fotoperíodo de 16 horas. A integração estável dos genes incorporados foi confirmada por PCR e análise Southern blot das plantas T_0 e T_1. Os explantes foram incubados por 5-7 dias no escuro em meio MS suplementado com TDZ 0,5 mg. L^{-1} antes do bombardeamento. Após o bombardeamento, os explantes foram transferidos para meio de regeneração de partes aéreas constituído de meio MS suplemento com 0,5 mg. L^{-1} de BA e, após 15 dias, foram transferidos para meio de seleção com higromicina. Passados três ciclos de seleção as supostas partes aéreas transformadas foram transferidas para meio MS suplementado com 0,5 mg. L^{-1} de BA para posterior multiplicação e 0,2 mg. L^{-1} de BA para alongamento. Para o enraizamento, as partes aéreas alongadas foram transferidas para meio ½ MS contendo 1,0 mg. L^{-1} de ANA. As plantas enraizadas foram aclimatizadas em vermiculita estéril. Avaliaram-se vários fatores relacionados ao bombardeamento que poderiam aumentar a expressão transiente do gene GUS e levar a integração estável dos genes introduzidos. As condições ideais encontradas foram: eixo embrionário de sementes maduras a uma distancia de 6,0 cm, pressão de gás hélio de 1.100 psi, partículas de ouro de 0,6 µm e um único bombardeamento. A frequência de transformação obtida

foi de 1,4%. Esse foi o trabalho de transformação genética da mamoneira em que se obteve a maior frequência de transformação de transformantes e a justificativa dos autores para isso é que o maior número de explante utilizados nos experimentos, mas pode ser também devido à via de transformação utilizada, onde a biobalística mostrou-se mais eficiente.

Pelo que foi exposto observa-se que a mamoneira pose ser transformada tanto via *Agrobacterium* quanto via biobalística, está ultima mostrando-se mais eficiente. Porém, apesar da recuperação de planta transformada, a taxa de transformação ainda é muito baixa mostrando que os protocolos de transformação existentes devem ser otimizados. Nesse ponto de vista, torna-se importante o conhecimento dos eventos que ocorrem com as células transformadas na tentativa de melhorar tais protocolos.

Relação entre regeneração, transformação genética e os problemas da cultura

Há relatos de que a mamoneira apresenta uma baixa variabilidade genética para características como resistência a pragas e esse problema pode ser minimizado através da Engenharia Genética. Além disso, uma preocupação muito grande em torno da mamoneira é a presença de proteínas tóxicas e alergênicas (ricina e albuminas 2S, respectivamente).

A ricina pertence a um grupo de proteínas conhecidas como Proteínas Inativadoras de Ribossomos (RIPs). Essas proteínas possuem a propriedade de danificar os ribossomos de uma maneira irreversível prejudicando, dessa forma, a síntese de proteínas (STIRPE, 2004). Devido à toxicidade da ricina, presente nas sementes de mamona, a torta dessa espécie, resultante da extração do óleo, embora apresente alto teor de proteína, não pode ser fornecida na alimentação animal sem que antes seja realizado um tratamento para sua desnaturação.

Em relação às albuminas 2S a maior preocupação em torno dessas proteínas é que o contato frequente de pessoas com a mamoneira pode promover serias reações alérgicas trazendo problemas para os agricultores com o manejo da cultura.

Diante do exposto, nota-se a importância do estabelecimento de um eficiente protocolo de regeneração para a cultura da mamoneira, o que é imprescindível para a recuperação de plantas transformadas.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Para o sucesso das plantas de mamona transformadas geneticamente é de extrema necessidade que se conheça todos os aspectos para obtenção de tal. Neste trabalho foi possível observar um mapeamento de tudo aquilo que vem sendo realizado no que diz respeito ao uso de métodos de engenharia genética visando à melhoria da cultura da mamoneira. Vale ressaltar que o uso da transformação genética soluciona inúmeros problemas: silenciamento dos agentes responsáveis pela biossíntese de compostos tóxicos e alergênicos bem como maior índice de produção de plantas com características relacionadas ao cultivo uniformes.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AHN, Y-J.; VANG, L.; MCKEON, T. A. High-frequency plant regeneration through adventitious shoot formation in castor (*Riccinus communis* L.). **In vitro Cell. Dev. Biol.-Plant,** v. 43, p. 9-15, 2007.

AHN, Y-J; CHEN, G.Q. In vitro regeneration of castor (*Riccinus communis* L.) using cotyledon explants. **Hortscience**, v.43, p. 215-219, 2008.

ATHMA, P.; REDDY, T. P. Efficiency of callus initiation and direct regeneration from different explants of castor (*Riccinus communis* L.) **Current Science,** v. 52, p. 256-257,1983.

BARROS JUNIOR, G. et al. Consumo de água e eficiência do uso para duas cultivares de mamona submetidas a estresse hídrico. **Revista brasileira de engenharia agrícola e ambiental**, v.12,n. 04, p. 350-355, 2008.

FONSECA, N.R.; MYCZKOWSKI, M.L.; PRIOR, M.; SÁ, R.O.; NAKAGAWA, J.; CAVARIANI, C.; ZANOTTO, M.D. Testes de avaliação da viabilidade e do vigor em sementes de mamona. In: **CONGRESSO BRASILEIRO DE MAMONA** – Energia e Sustentabilidade, 1., Campina Grande, 23/26 nov. 2004. Anais... Campina Grande: Embrapa Algodão,2004. p.07-12.

IBGE- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatistica. **Levantamento Sistemático da Produção Agrícola.** Disponível em: http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/Ispa/ Ispa_200805_7.shtm. Acesso em: Agosto, 2012.

KUMARI, K. G.; GANESAN, M.; JAYABALAN, N. Somatic organogenesis and plant regeneration in *Riccinus communis* L. **Biologia Plantarium,** v. 52, p. 17-25, 2008.

LORD, J. M.; ROBERTS, L. M.; ROBERTUS, J. D. Ricin: structure, mode of action, and some current applications. FASEB, v. 8, p. 201-208, 1994.

MACHADO, O. L.; SILVA, J. G. An allergenic 2S storage protein from *Riccinus communis* L. seeds which is a part of he 2S albumin precursor predicted by c-DNA. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, v. 25, p. 567-582, 1992.

MALATHI, B.; RAMESH, S.; RAO, K. V.; REDDY, V. D. *Agrobacterium*-mediated genetic transformation and

production of semilooper resistant transgenic castor (*Riccinus communis* L.). **Euphytica,** v. 147, p. 441-449, 2006.

MOLINA, S. M.; SCHOBERT, C. Micropropagation of *Riccinus communis* L. **J. Plant Physiol.,** v. 147, p.270-272,1995.

REDDY, K. R. K.; RAO, G. P.; MALATHI, N.; BAHADUR, B. Effect of gamma irradiaction on grownt and phenolic productions in castor bean callus cultures. **Current Science,** v. 56, p. 1234-1235, 1987.

REDDY, K. R. K.; BAHADUR, B. Adventitious bud formation from leaf cultures of castor (*Riccinus communis* L.). **Current Science**, v. 58, p.152-154, 1989.

SAILAJA, M.; TARAKESWARI, M.; SUJATHA, M. Stable genetic transformation of castor (*Riccinus communis* L.) via particle gun-mediated gene transfer using embryo axes from mature seeds. **Plant Cell Reports,** DOI 10.1007/s00299-008-0580-3,2008.

SRIVASTAVA, P. S. *In vitro* Grownt Requirements of Mature Endosperm of *Riccinus communis* L. **Current Science,** v. 13, p. 337-339, 1971.

STIRPE, F. Ribosome-inactivating proteins. **Toxicon,** v.44, p. 371-383, 2004.

SUJHATA, M.; REDDY, T. P. Differential cytokinin effects on the stimulation of in vitro shoot proliferation from meristematic explants of castor (*Riccinus communis* L.). **Plant Cell Reports,** v.17, p. 561-566, 1998.

SUJATHA, M.; MAKKAR, H. P. S.; BECKER, K. Shoot bud proliferation from axillary nodes and leaf sections of non-toxic *Jatropha curcas* L. **Plant Growt Regulation,** v. 47, p. 83-90, 2005.

SUJATHA, M.; SAILAJA, M. Stable genetic transformation of castor (*Riccinus communis* L.) via *Agrobacterium tumefaciens*-mediated gene transfer using embryo axes from mature seeds. **Plant Cell Reports,** v. 23, p. 803-810, 2005.