

27 e 28 de junho de 2012 - Ribeirão Preto SP

INDUÇÃO DE RESPOSTA ORGANOGÊNICA NA CULTURA *IN VITRO* DE HIPOCÓTILOS DE PINHÃO MANSO

Fabiane Aparecida Artioli¹; Marcilio de Almeida²

RESUMO

Dada a importância que a cultura de tecidos apresenta para a produção em larga escala, independente da época do ano, com requerimento de um espaço físico reduzido quando comparado com a cultura em campo e, somando-se a isso, a possibilidade de perpetuar um genótipo de interesse, o presente trabalho objetivou avaliar os efeitos dos reguladores de crescimento sobre a resposta organogênica de hipocótilos de três procedências de pinhão manso, cultivados *in vitro*, afim de contribuir com a formulação de um protocolo de micropropagação. O meio de cultura utilizado foi o WPM, isento de reguladores de crescimento (controle) e suplementado com 0,5 mg L⁻¹ de auxinas (AIA ou ANA) e/ou 1,0 mg L⁻¹ de citocininas (TDZ ou BAP), resultando em nove tratamentos (T1: controle; T2: TDZ; T3: TDZ+AIA; T4: TDZ+ANA; T5: BAP; T6: BAP+AIA; T7: BAP+ANA; T8: AIA; T9: ANA). As análises foram realizadas após 60 dias de cultivo e foram baseadas na presença ou ausência de gemas e/ou raízes adventícias nos explantes hipocotiledonares de pinhão manso. A indução de gemas adventícias foi constatada, especialmente, quando se utilizou o regulador de crescimento BAP de forma isolada. Para as auxinas utilizadas isoladamente, estas foram eficientes na promoção de raízes.

Palavras-chave: biodiesel; *Jatropha curcas*; micropropagação; organogênese.

INTRODUÇÃO

O pinhão manso (*Jatropha curcas*), pertencente à família Euphorbiaceae, é uma espécie oleaginosa, perene, monóica, de crescimento rápido, podendo atingir uma altura superior a cinco metros. Apresenta sementes que produzem um óleo de excelência, com elevado potencial para a produção de biodiesel, considerado superior ao da mamona, aproximando-se ao diesel extraído do petróleo.

Diante disso, a cultura de tecidos, mostra-se como uma excelente ferramenta biotecnológica, podendo contribuir para a produção em larga escala desta cultura, além de permitir a propagação clonal de matrizes com qualidade genética superior e fitossanitária, em um curto período de tempo e em um espaço físico reduzido.

Com o intuito de estabelecer um protocolo de micropropagação para o pinhão manso, o presente trabalho objetivou induzir respostas organogênicas diretas e indiretas em hipocótilos medianos de pinhão manso, através do cultivo destes em meio de cultura suplementado com auxinas e/ou citocininas.

¹Doutoranda do programa de Fisiologia e Bioquímica de Plantas, Departamento de Ciências Biológicas, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” – USP, Piracicaba-SP. E-mail:fabiane_art@yahoo.com.br. ²Professor Assistente Doutor MS3, Departamento de Ciências Biológicas, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” – USP, Piracicaba-SP.

MATERIAIS E MÉTODOS

Material vegetal: três procedências de sementes de pinhão manso (*Jatropha curcas*) obtidas do Banco Ativo de Germoplasma da Embrapa Agroenergia (CNPAE 101 – Rio Verde/GO; CNPAE 115 – Xambrê/PR; CNPAE 224 – São Francisco do Glória/MG), coletadas na safra de 2009/2010.

Cultivo dos explantes: hipocótilos medianos provenientes de sementes germinadas *in vitro*, foram cultivados em meio de cultura WPM (LLOYD e McCOWN, 1980) isento de reguladores de crescimento (controle) e suplementado com 0,5 mg L⁻¹ de auxinas (AIA e ANA) e/ou 1,0 mg L⁻¹ de citocininas (TDZ e BAP), resultando em nove tratamentos (T1: controle; T2: TDZ; T3: TDZ+AIA; T4: TDZ+ANA; T5: BAP; T6: BAP+AIA; T7: BAP+ANA; T8: AIA; T9: ANA). Adicionou-se ao meio de cultura 30 g L⁻¹ de sacarose e 6 g L⁻¹ de ágar. O pH da solução foi ajustado para 5,8 (±1), antes da autoclavagem a 120 °C e 1,2 atm, durante 20 minutos. As condições de cultivo foram controladas em sala de crescimento com fotoperíodo de 16 horas de luz, temperatura de 25±2 °C e irradiância de 42 µmol.s.m⁻².s⁻¹ de radiação fotossinteticamente ativa (PAR).

Análise das respostas organogênicas: após duas transferências, realizadas em intervalos de 30 dias cada, para renovação do meio de cultura, os explantes foram analisados quanto a presença ou ausência de gemas adventícias e/ou raízes.

Análise estatística dos dados: a análise exploratória dos dados foi realizada por meio de estatística descritiva, usando os dados de contagem transformados em percentuais.

RESULTADOS

A figura 1 evidencia a presença de respostas organogênicas variadas para os hipocótilos medianos, obtidos das plântulas germinadas de pinhão manso, de acordo com o tipo de regulador de crescimento presente no meio de cultura WPM.

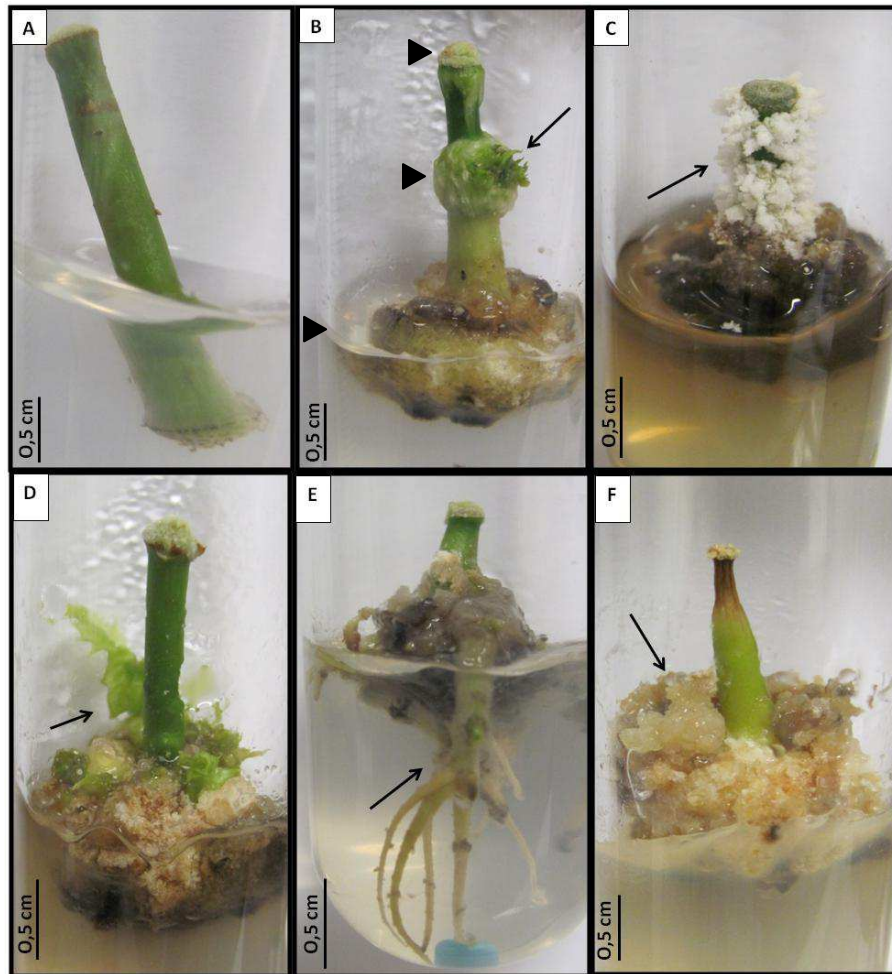


Figura 1. Respostas organogênicas variadas dos hipocótilos medianos de pinhão manso (*Jatropha curcas*) às diferentes concentrações de reguladores de crescimento no meio de cultura WPM. A: Ausência de reposta organogênica evidente, B: Gemas adventícias (seta) e calos apicais e basais (ponta da seta), C: Calos de coloração branca ao longo do hipocótilo (seta), D: Gemas adventícias formadas a partir de calos basais (seta), E: Rizogênese indireta (seta), F: Calogênese (seta).

Considerando as três procedências de pinhão manso, parte dos calos, tanto apicais como basais, formados nos hipocótilos, se diferenciaram em gemas adventícias ou raízes (Figura 2), caracterizando como calos organogênicos.

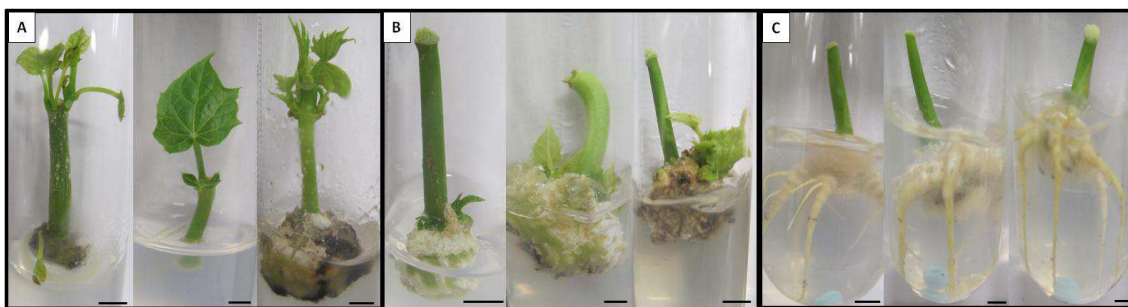


Figura 2. Organogênese indireta em hipocótilo de pinhão manso (*Jatropha curcas*). A: Gemas adventícias apicais, B: Gemas adventícias basais, C: Rizogênese. Barra = 0,5cm.

Para a diferenciação dos calos em gemas adventícias, considerando-se as três procedências, destaca-se o tratamento T5 (BAP), que apresentou a maior percentagem de explantes com gemas adventícias, acompanhado dos tratamentos T2 (TDZ), T3 (TDZ+AIA), T6 (BAP+AIA) e T8 (AIA). Ausência de gemas adventícias foi constatada na procedência CNPAE 101 nos tratamentos T7 (BAP+ANA) e T9 (ANA), bem como para a procedência CNPAE 224 em relação ao tratamento T9 (ANA); para a procedência CNPAE 115, apenas o tratamento T4 (TDZ+ANA) não induziu a formação de gemas adventícias (Figura 3).

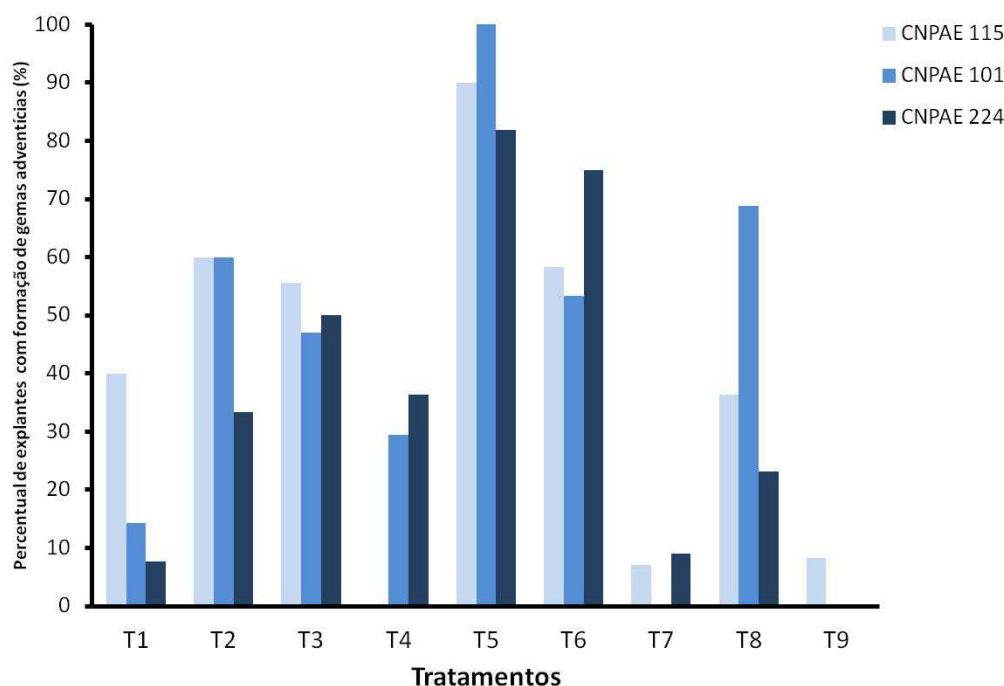


Figura 3. Porcentagem de explantes de pinhão manso (*Jatropha curcas*) com formação de gemas adventícias (T1 = controle, T2 = TDZ, T3 = TDZ + AIA, T4 = TDZ + ANA, T5 = BAP, T6 = BAP + AIA, T7 = BAP + ANA, T8 = AIA, T9 = ANA).

Os melhores tratamentos para a indução do enraizamento, considerando as três procedências, foram o T8 (AIA) e o T9 (ANA), como esperado, uma vez que estes tratamentos correspondem a presença de auxinas, porém, cabe destacar o

grupo controle (T1), que apresentou expressivo percentual de explantes com raízes, mesmo sem o efeito das auxinas (Figura 4).

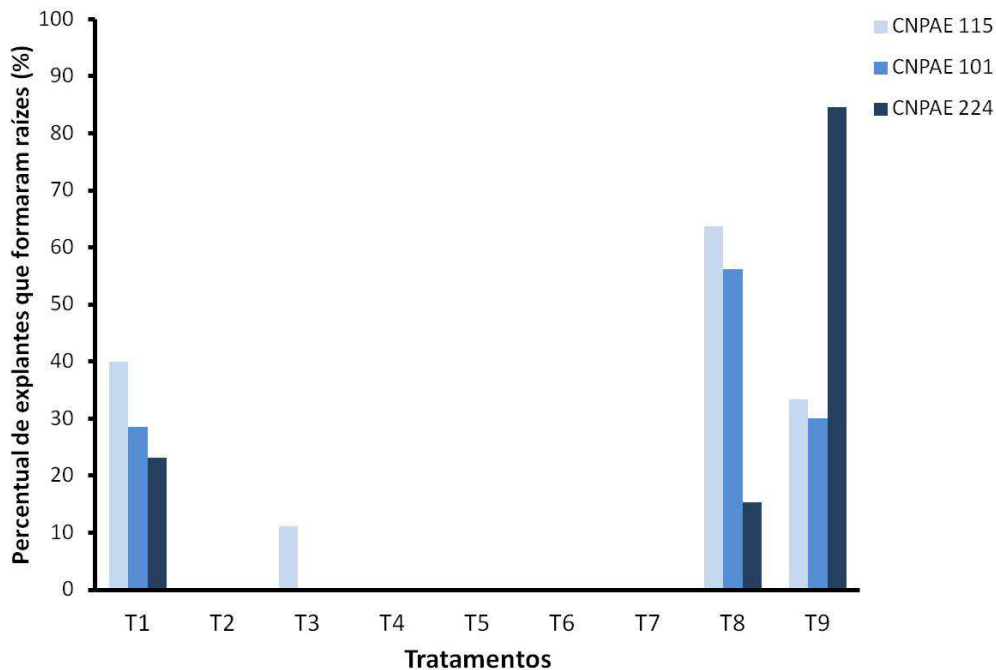


Figura 4. Percentual de explantes de pinhão manso (*Jatropha curcas*) que formaram raízes (T1 = controle, T2 = TDZ, T3 = TDZ + AIA, T4 = TDZ + ANA, T5 = BAP, T6 = BAP + AIA, T7 = BAP + ANA, T8 = AIA, T9 = ANA).

CONCLUSÕES

- ✓ A auxina ANA, quando utilizada isoladamente ou em combinação com as citocininas TDZ e BAP, na concentração utilizada, não favoreceu a indução de gemas adventícias, independentemente da procedência.
- ✓ A citocinina BAP, utilizada isoladamente, destacou-se em relação aos demais tratamentos na indução de formação de gemas adventícias.
- ✓ Ambas as auxinas utilizadas, foram eficientes na promoção de raízes.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

LLOYD, G.; McCOWN, B. Commercially-feasible micropropagation of mountain laurel, *Kalmia latifolia*, by use of shoot-tip culture. **Combined Proceedings of the International Plant Propagators Society**, Carlisle, v. 30, p. 421-427, 1980.