

EFEITO DE DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE CITOCININA NA ORGANOGÊNESE DE COTILÉDONES DE PINHÃO-MANSO

CASARIN, Tatiane¹; FORMOSO, Rafaela Silva¹; MASIERO, Daniele¹; DODE, Luciana Bicca² e SILVA, Sérgio Delmar dos Anjos³

¹Universidade Federal de Pelotas, Graduação em Biotecnologia; ²Universidade Federal de Pelotas, Centro de Desenvolvimento Tecnológico; ³EMBRAPA/CPACT
casarintatiane@gmail.com

1 INTRODUÇÃO

O pinhão-manso (*Jatropha curcas* L.) é uma euforbiácea que se apresenta como uma alternativa para atender a demanda de produção de biocombustíveis de forma sustentável. O óleo extraído da semente pode ser utilizado para a produção de biodiesel por apresentar características próximas ao óleo diesel fóssil (Deore, *et al*, 2008). A propagação assexuada é realizada tradicionalmente através de estacas, mas alguns problemas no desenvolvimento das plantas têm sido relatados e dificultam a utilização desse método de propagação (Deore, *et al*, 2008). Apesar de ser uma cultura resistente à seca, é suscetível a pragas, doenças, déficit hídrico e solos com baixa fertilidade, tendo na cultura de tecidos vegetais e micropropagação importantes ferramentas para a produção em grande escala de plantas geneticamente uniformes e com qualidade sanitária superior (Nogueira *et al*, 2011;Gusmão, 2010). Para otimização dos protocolos de cultura de tecidos é necessária a seleção de explantes, estabelecimento e ajuste de condições de cultivo, adequadas aos genótipos de interesse. Segundo Li *et al* (2007) e Nogueira *et al* (2011), é possível promover a calogênese em explantes cotiledonares de pinhão manso utilizando meio Murashige & Skoog (MS) suplementado com 3% (p/v) de sacarose, 1,5 mg.L⁻¹ de benzilaminopúria (BAP) e 0,05 mg.L⁻¹ de ácido indolbútrico (AIB). Tendo em vista que a resposta aos meios de indução são bastante variáveis entre os diferentes genótipos da espécie, este estudo teve como objetivo avaliar o efeito de seis concentrações de BAP na indução da organogênese indireta em cotilédones de pinhão-manso obtidos de sementes provenientes da Empresa Carnaúba Agricultura, cultivados *in vitro*.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

O estudo foi conduzido no Laboratório de Biotecnologia Vegetal, do Centro de Desenvolvimento Tecnológico da Universidade Federal de Pelotas. As sementes, cedidas pela Empresa Carnaúba Agricultura, de Piracuruca, Piauí, foram descascadas com o auxílio de um quebra-nozes, desinfestadas superficialmente em água destilada estéril e sabão por 10 minutos sob agitação, lavadas com água destilada estéril e finalmente, imersas em solução de hipoclorito de sódio 1% (v/v) durante dois minutos, seguida de tríplice lavagem. As sementes foram distribuídas em frascos com 30 ml de substrato contendo água destilada e 6g de ágar.L⁻¹ e incubadas no escuro 10 dias, a 25±2°C. Aos 10 dias, foram retirados, com auxílio de pinça e bisturi, os cotilédones e transferidos com a face adaxial em contato com o meio para placas de petri descartáveis contendo 20 mL de meio Murashige &

Skoog (MS), acrescido de 3% (p/v) de sacarose, e 7g.L⁻¹ de ágar. O pH do meio foi ajustado para 5,8 antes da autoclavagem e da adição de reguladores de crescimento. Foram adicionados os reguladores de crescimento: ácido indolbutírico (AIB) na concentração de 0,05mg.L⁻¹ e diferentes concentrações de BAP 1,5 mg.L⁻¹, 3 mg.L⁻¹, 4,5 mg.L⁻¹, 6 mg.L⁻¹, 7,5 mg.L⁻¹, e 9 mg.L⁻¹. Cada tratamento constou de dez repetições contendo dois explantes e foi mantido nas mesmas condições de temperatura e fotoperíodo de 16h. Aos 35 dias, o material foi repicado para meio fresco. A presença de calos foi avaliada aos 7, 14, 21, 28, 35 e 42 dias; a presença de calos organogênicos foi avaliada aos 28 dias e o número de explantes com brotos aos 28, 35 e 42 dias, considerando-se a porcentagem de explantes nessas condições por repetição.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Através das avaliações pode-se observar que a partir de 14 dias de cultivo, com exceção do tratamento contendo 3 mg.L⁻¹ de BAP (com 90% dos explantes com calos aos 14 dias e 95% a partir dos 21 dias) os demais tratamentos apresentaram calos em todos os explantes avaliados. Após os 14, as repetições do tratamento contendo 7,5 mg.L⁻¹ de BAP + 0,05 mg.L⁻¹ de AIB foram perdidas devido à contaminações dos explantes.

Sujakta & Mukta (1996) demonstraram que explantes cotiledonares de pinhão manso quando cultivados em meio MS com altas concentrações de BAP e de AIB mais elevadas induzem a formação direta de brotações adventícias, mas se a concentração de BAP é mantida e a de AIB reduzida, têm-se regeneração indireta eficaz, o que pode ser observado nesse estudo, onde maiores concentrações de BAP combinadas com concentrações reduzidas de AIB induziram a calogênese eficientemente.

Em relação à presença de calos organogênicos aos 28 dias observou-se aumento percentual gradual com o aumento da concentração de citocininas até 4,5 mg.L⁻¹ de BAP (45%, 65% e 75%, respectivamente), acompanhado de decréscimo para concentrações maiores (50% e 30%, respectivamente) (Fig. 1).

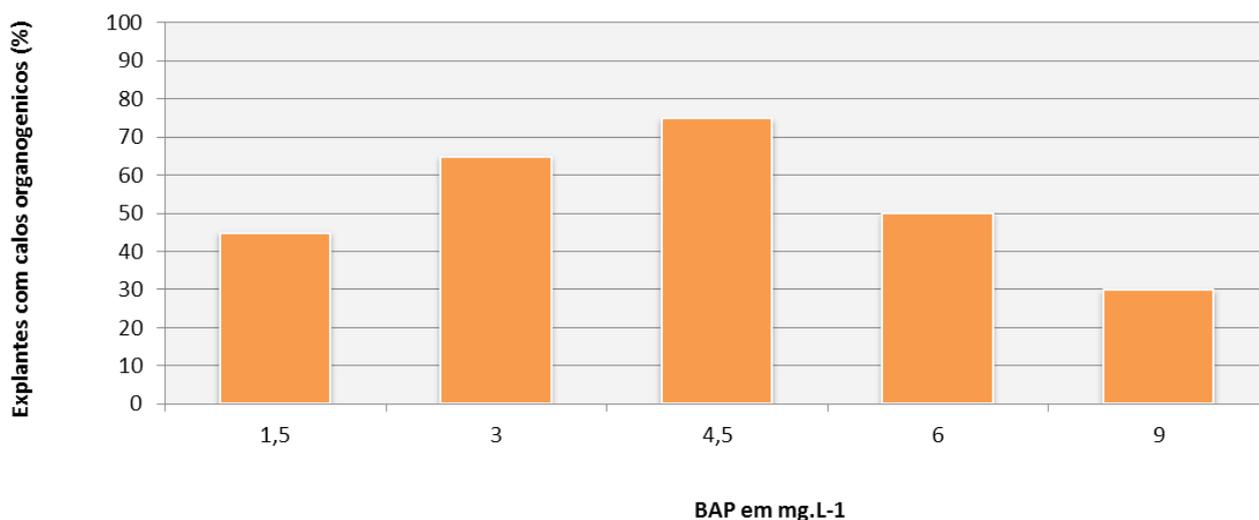


Figura 1: Percentagem de explantes cotiledonares de pinhão-manso cultivados em meios contendo 0,05 mg.L⁻¹ AIB e diferentes concentrações de BAP com calos organogênicos aos 28 dias de cultivo *in vitro*.

Aos 28 dias foi observada a presença de brotos apenas para o tratamento contendo $4,5 \text{ mg.L}^{-1}$ de BAP. Aos 42 dias 37,5% dos explantes deste tratamento apresentaram brotos, enquanto os demais apresentaram 15% dos explantes com calos para o tratamento usando 3 mg.L^{-1} de BAP, 33% para o tratamento com 6 mg.L^{-1} de BAP e 12,5% para o de 9 mg.L^{-1} de BAP. No tratamento contendo $1,5 \text{ mg.L}^{-1}$ BAP não foi observada organogênese. As citocininas são indispensáveis no cultivo *in vitro* devido à, entre outras funções, sua capacidade de quebrar a dominância apical e induzir a proliferação de gemas axilares (Hu & Wang, 1983), sendo que a benzilaminopurina tem sido muito eficaz para promover multiplicação em diversas espécies e parece ser a citocinina por excelência para multiplicação de partes aéreas e indução de gemas adventícias, um dos objetivos deste estudo (Airies et al, 2008).

Percebeu-se que todos os tratamentos foram eficientes na indução de calogênese a partir dos 14 dias, porém a presença de estruturas organogênicas e a formação de brotos foram mais expressivas quando as concentrações de BAP variaram de 3 mg.L^{-1} à 6 mg.L^{-1} , sendo o tratamento contendo $4,5 \text{ mg.L}^{-1}$ de BAP o que resultou em maior número de explantes com brotos.

4 CONCLUSÃO

A partir dos resultados obtidos neste estudo é possível concluir que, para o genótipo em questão, se fazem necessárias concentrações mais elevadas de benzilaminopurina na indução de organogênese em explantes cotiledonares de pinhão-manso.

Apoio: EMBRAPA CPACT, FINEP.

5 REFERÊNCIAS

AIRES, Priscila S. R.; CARVALHO, Julita M. F. C.; PIMENTEL, Nara W. e SILVA, Humberto. Efeito da citocinina 6-bencilaminopurina na micropropagação *in vitro* da mamona utilizando o genótipo BRS nordestina. **Revista de Biologia e Ciências da Terra** Volume 8 - Número 2 - 2º Semestre 2008

DEORE, Ajay C.; JOHNSON, T. Sudhakar. High-frequency plant regeneration from leaf-disc cultures of *Jatropha curcas* L.: an important biodiesel plant. **Plant Biotechnol Rep** 2008 2:7–11, 2008.

FEITOSA, Luely S. **Efeito dos reguladores de crescimento no estabelecimento *in vitro* e indução de calos em pinhão-manso**. 2011. Dissertação de Mestrado em Agroecossistemas. Programa de Pós-Graduação em Agroecossistemas, Pró-Reitoria de Pós-Graduação e Pesquisa, Universidade Federal do Sergipe. São Cristóvão, Sergipe, Brasil, 2011.

GUSMÃO, Carlos A. G. **Desempenho do Pinhão-manso (*Jatropha curcas*) de segundo ano submetido a diferentes doses e relações de NPK**. 2010. Dissertação de Mestrado em Produção Vegetal. Programa de Pós-Graduação de Produção Vegetal no Semiárido, Universidade Estadual de Montes Claros. Janaúba, Minas Gerais, Brasil, 2010.

HU, C.Y.; WANG, P.J. Meristem, shoot tip and bud culture. In: EVANS, D.A.; SHARP, W.R.; AMMIRATO, P.V.; YAMADA, Y. (Ed.) **Handbook of plant cell culture**. New York: MacMillan, 1983. p.117-227.

LI, Meiru; LI, Hongqing, JIANG, Huawu; PAN, Xiaoping; WU, Guojiang. Establishment of an Agrobacterium-mediated cotyledon disc transformation method for *Jatropha curcas*. **Plant Cell Tiss Organ Cult**, 2007.

NOGUEIRA, Ana R. C., SOARES, Arlete A., IBRAHIM, Abdulrazak B., CAMPOS, Francisco A.P. Analysis of organogenic competence of cotyledons of *Jatropha curcas* and their *in vitro* histological behavior. **African Journal of Biotechnology** Vol. 10(54), pp. 11249-11258, 2011.

SUJATHA, M.; MUKTA, N. Morphogenesis and plant regeneration from tissue cultures of *Jatropha curcas*. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**. Volume 44, Number 2, p.135-141, 1996.