

EFEITO DE DIFERENTES REGULADORES DE CRESCIMENTO NO ALONGAMENTO DE BROTAÇÕES ADVENTÍCIAS EM PINHÃO MANSO

TATIANE CASARIN¹; LUCIANA BICCA DODE²; SÉRGIO DELMAR DOS ANJOS E SILVA³; LUCIANO DA SILVA PINTO⁴

¹ Biotecnologia/CDTec/UFPel – casarintatiane@gmail.com

² Biotecnologia/CDTec/UFPel – lucianabicca@gmail.com

³ Embrapa Clima Temperado - sergio.anjos@embrapa.br

⁴BioPro Lab. Biotecnologia/CDTec/UFPel – dmpluc@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

A utilização de biomassa como uma fonte de energia renovável é fundamental para o desenvolvimento e a sustentabilidade da civilização. Nesse cenário, a utilização de óleos vegetais na produção de biodiesel vem se expandindo devido à crescente demanda, ao apoio político que estas estratégias têm recebido, bem como à disponibilidade de tecnologia para tanto (DIVAKARA et al., 2010).

Dentre as oleaginosas que vem sendo estudadas para este fim, o pinhão-manso (*Jatropha curcas* L.) merece destaque devido a sua robustez, fácil propagação, resistência à seca, alto teor de óleo, baixo custo da semente, possibilidade de utilização em ampla condição agroclimática, possibilidade de utilização de diversas partes da planta, além de seu cultivo poder atender demandas socioeconômicas e de preservação de áreas degradadas (LIU et al, 2015).

Apesar das potencialidades da cultura, esta é uma espécie em processo de domesticação (COSTA et al., 2011). Assim, os estudos que existem relativamente à aplicação de diferentes técnicas de propagação e estudo da espécie são diversificados e variam em função da origem das plantas em estudo.

Além disso, a propagação convencional do pinhão-manso apresenta desvantagens quanto ao rendimento, que é bastante instável, devido à natureza heretozigótica das plantas (SINGH et al., 2010). Já as plantas propagadas por estacas apresentam uma menor longevidade, assim como menor resistência à seca, pragas e doenças, quando comparadas às obtidas por sementes, além de menor produtividade (SATO et al., 2009).

Nesse sentido, a micropropagação massal de genótipos de elite pode ser uma alternativa para a obtenção de mudas de elevado padrão genético e sanitário em larga escala. Além disso, a obtenção de protocolos eficientes de regeneração de plantas permitirá a utilização de técnicas de transformação genética para a inserção de características de interesse.

Durante o processo de regeneração de plantas, uma etapa importante é o alongamento das brotações adventícias, para posterior enraizamento e aclimatação. Portanto, o objetivo deste estudo foi testar diferentes tratamentos para o alongamento de brotações adventícias obtidas de hipocótilos de pinhão manso via organogênese indireta.

2. METODOLOGIA

O estudo foi conduzido nos Laboratórios de Biotecnologia Vegetal da Unidade de Biotecnologia da UFPel e no Laboratório de Cultura de Tecidos de Plantas do Departamento de Botânica da UFPel. Sementes de uma linhagem promissora, cedidas pela Embrapa Clima Temperado, de Pelotas, Rio Grande do

Sul, foram descascadas com o auxílio de um quebra-nozes, desinfestadas superficialmente com álcool 70% durante 2 minutos, lavadas abundantemente com água destilada estéril, imersas em solução de hipoclorito de sódio 2% durante 20 minutos e novamente lavadas com água destilada estéril, sendo secas em papel filtro também estéril antes da inoculação no meio de cultura.

Posteriormente ao procedimento de desinfestação, as sementes foram inoculadas em frascos contendo aproximadamente 30 mL de meio MS (Murashige & Skoog) com a metade da concentração de sais, acrescido de 1% (p/v) de sacarose e 0,94 μ M de ácido giberélico (GA3), solidificado com 7g L⁻¹ de ágar, distribuídas em duas por frasco, sendo mantidas em estufa BOD, no escuro, em temperatura de 28 °C. Após 10 dias de inoculação, os hipocótilos foram isolados com auxílio de pinça e bisturi e transferidos para placas de petri descartáveis contendo meio de cultura MS, 3% (p/v) de sacarose e solidificado com 7g L⁻¹ de ágar, acrescido de 30 mg.L⁻¹ de caseína hidrolisada e 50 mg.L⁻¹ de amoxicilina, e reguladores de crescimento, 3,5 mg.L⁻¹ BAP combinado com 0,5 mg.L⁻¹ de ácido indolbutírico (AIB). O material foi mantido em sala de crescimento em temperatura de 25°C +2, com 16h de foto período.

Após 28 dias os explantes foram transferidos para meio de regeneração que consistiu de MS contendo 3% (p/v) de sacarose, acrescido de 5 mg L⁻¹ de BAP e 0,2 mg L⁻¹ de Ácido naftalenacético (ANA), 30 mg.L⁻¹ de caseína hidrolisada e 50 mg.L⁻¹ de amoxicilina, sendo mantidas as mesmas condições de cultivo. Após 21 dias em meio de regeneração, cada explante apresentando brotações adventícias foi seccionado em três e inoculado em um dos tratamentos de alongamento, que consistiam de meio MS contendo 3% (p/v) de sacarose, acrescido 30 mg.L⁻¹ de caseína hidrolisada e 50 mg.L⁻¹ de amoxicilina e diferentes reguladores de crescimento, isolados ou em combinação: T1: 1,7 mg.L⁻¹ AIA + 0,5 mg.L⁻¹ BAP; T2: 0,5 μ M GA3; T3: 2 mg.L⁻¹ BAP (KUMAR et al., 2010; PURKAYASTHA et al., 2010; KHEMKLADNGOEN et al., 2010). Foram realizadas 10 repetições com 3 explantes em cada tratamento.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O alongamento das brotações adventícias nos explantes foi observado aos 14 dias de cultivo, sendo que aos 42 dias de cultivo o tratamento T1 se mostrou significativamente superior ao T3, mas não apresentando diferença estatisticamente significativa com T2, assim como T2 e T3 não diferiram significativamente, conforme pode ser observado na Figura 1:

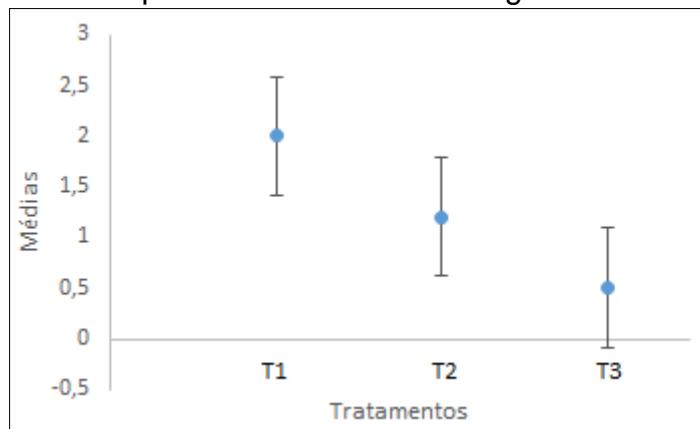


Figura 1: Média do número de explantes com brotações adventícias alongando aos 42 dias de cultivo. $P<0,01$ no teste de Kruskal-Wallis.

Entretanto, outros parâmetros precisam ser analisados. Por exemplo, os explantes do tratamento T3, apresentaram maior frequência de proliferação de calos, como pode ser observado na Figura 2, sendo essa diferença estatisticamente significativa em relação aos tratamentos T1 e T2. Estes por sua vez, não apresentaram diferença significativa entre si. Nesta etapa do processo de obtenção de plantas via organogênese indireta, a proliferação dos calos é indesejada e compromete o bom desenvolvimento das brotações adventícias, tanto que aos 42 dias os explantes do tratamento T3 apresentavam maior frequência de oxidação completa e necrose dos tecidos, conforme pode ser observado na Figura 3.

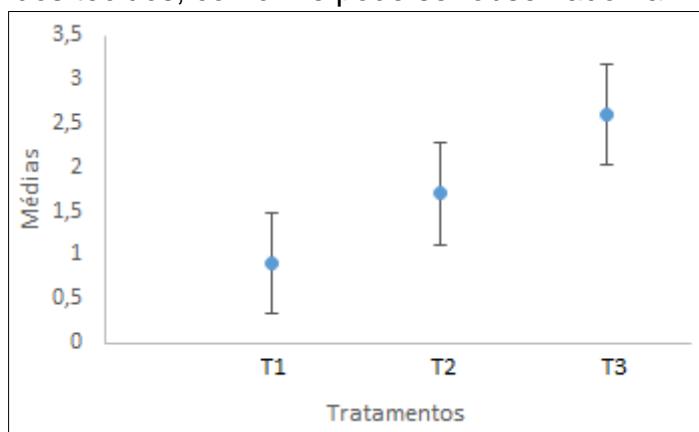


Figura 2: Médias de explantes apresentando proliferação de calos aos 42 dias de cultivo. $P<0,001$ no teste de Kruskal-Wallis.

KHEMKLADNGOEN et al. (2010) relatou que a utilização de 2 mg L⁻¹ de BAP seria mais eficiente no alongamento de brotações adventícias de pinhão manso, e a sua combinação com uma auxina (AIB) ocasionou a continuação da formação de calos, justamente o oposto do observado.

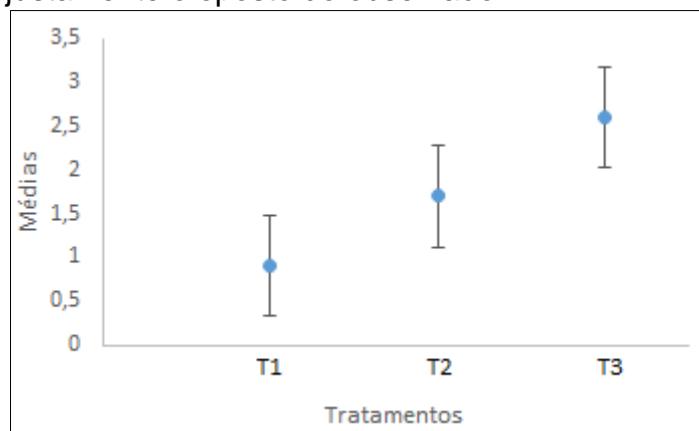


Figura 3: Média de explantes totalmente oxidados aos 42 dias de cultivo. $P<0,01$ no teste de Kruskal-Wallis.

Apesar de não ser observada diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos T1 e T2 para os parâmetros avaliados, os explantes do tratamento T1 visualmente apresentaram um melhor desenvolvimento, como pode ser observado na Figura 4.



Figura 4: Explantes aos 42 dias, T1 (A), T2 (B) e T3 (C).

O T1, relatado por KUMAR et al. (2010) como o mais eficiente no alongamento de brotações adventícias, se mostrou ser o mais eficiente também nas condições desse estudo. Ao contrário do observado por PURKAYASTHA et al. (2010), a utilização de GA3 não foi essencial para o alongamento de brotações adventícias.

4. CONCLUSÕES

Nas condições desse estudo, o tratamento contendo $1,7 \text{ mg.L}^{-1}$ AIA + $0,5 \text{ mg.L}^{-1}$ BAP (T1) foi o mais eficiente no alongamento de brotações adventícias obtidas a partir de hipocótilos de pinhão-manso cultivados in vitro.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- COSTA, Jefferson da Luz et al. Crescimento inicial de plantas de pinhão manso em função do sombreamento no município de Gurupi-TO. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, v. 2, n. 4, 2012.
- DIVAKARA, B. N. et al. Biology and genetic improvement of *Jatropha curcas* L.: a review. **Applied Energy**, v. 87, n. 3, p. 732-742, 2010.
- KHEMKLADNGOEN, Naruemon et al. Adventitious shoot regeneration from juvenile cotyledons of a biodiesel producing plant, *Jatropha curcas* L. **Journal of bioscience and bioengineering**, v. 111, n. 1, p. 67-70, 2011.
- KUMAR, Nitish; ANAND, KG Vijay; REDDY, Muppala P. Shoot regeneration from cotyledonary leaf explants of *Jatropha curcas*: a biodiesel plant. **Acta physiologiae plantarum**, v. 32, n. 5, p. 917-924, 2010.
- LIU, Ying et al. Efficient culture protocol for plant regeneration from petiole explants of physiologically mature trees of *Jatropha curcas* L. **Biotechnology & Biotechnological Equipment**, v. 29, n. 3, p. 479-488, 2015.
- PURKAYASTHA, J. et al. Efficient in vitro plant regeneration from shoot apices and gene transfer by particle bombardment in *Jatropha curcas*. **Biologia Plantarum**, v. 54, n. 1, p. 13-20, 2010.
- SATO, Michelle et al. A cultura do Pinhão-manso (*Jatropha curcas* L.): Uso para fins combustíveis e descrição agronômica. **Revista Varia Scientia**, v. 7, n. 13, p. 47-62, 2009.
- SINGH, Aneesha et al. A simple regeneration protocol from stem explants of *Jatropha curcas*—a biodiesel plant. **Industrial Crops and Products**, v. 31, n. 2, p. 209-213, 2010.