

27 e 28 de junho de 2012 - Ribeirão Preto SP

**EXSUDAÇÃO FENÓLICA E OXIDAÇÃO EM RESPOSTA A
PRESENÇA DE REGULADORES DE CRESCIMENTO NA CULTURA
IN VITRO DE PINHÃO MANSO**

Fabiane Aparecida Artioli¹; Marcilio de Almeida²

RESUMO

Visando contribuir com informações sobre a cultura *in vitro*, ou micropropagação, de pinhão manso (*Jatropha curcas*), o presente trabalho objetivou analisar quantitativamente e qualitativamente a oxidação de três procedências de pinhão manso micropropagadas, bem como, a influência dos reguladores de crescimento, presentes no meio de cultura, sobre este evento. Para isto, explantes obtidos de plântulas germinadas *in vitro*, foram cultivados em meio de cultura 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). A avaliação foi realizada após 60 dias de cultivo e baseou-se na presença ou ausência de oxidação, e para os parâmetros quantitativos, os explantes foram agrupados em quatro níveis de intensidade de oxidação: nenhuma, pouca, moderada ou elevada. O menor grau de oxidação ocorreu no grupo controle (T1) para as três procedências de pinhão manso, enquanto que, os demais tratamentos apresentaram respostas variadas, sendo possível identificar que o T6, foi o qual apresentou a maior ocorrência de explantes com elevado grau de oxidação, considerando as três procedências. Através dos resultados obtidos constatou-se que a presença de exsudados de compostos fenólicos é um excelente indicativo da ocorrência futura de oxidação e que os reguladores de crescimento apresentam uma influência direta na liberação desses compostos fenólicos.

Palavras-chave: biodiesel; compostos fenólicos; *Jatropha curcas*; micropropagação.

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.

INTRODUÇÃO

Denominado de planta “multiuso” devido as diversas funcionalidades, o pinhão manso (*Jatropha curcas*), atualmente, destaca-se pelo potencial de produção de matéria-prima para a síntese de biodiesel.

Considerando a viabilidade de propagação de pinhão manso por sementes e estacas (SATURNINO et al., 2005), a expansão da cultura tem sido limitada pela ausência de genótipos estáveis e pela baixa germinação das sementes (CARVALHO et al., 2010), resultando dessa forma em plantios desuniformes. Assim, objetivando eliminar estes problemas, a propagação *in vitro*, ou micropropagação, mostra-se promissora.

No entanto, o estabelecimento da cultura *in vitro*, depende de vários fatores, sendo um destes, o controle da oxidação fenólica, decorrente da produção e liberação de compostos fenólicos em resposta a danos físicos e/ou altas concentrações de reguladores de crescimento no meio de cultura.

A oxidação fenólica confere o escurecimento do tecido vegetal devido a ação de certas enzimas com os compostos fenólicos e o oxigênio atmosférico, resultando na formação de quinonas, que podem se polimerizarem e formarem as melaninas (MASON, 1955; DAWSON & MAGEE, 1955). Além do escurecimento do tecido vegetal, a oxidação fenólica, pode interferir negativamente no crescimento e ocasionar a morte dos explantes.

Diante do exposto, o presente trabalho objetivou analisar de forma qualitativa e quantitativa a oxidação de explantes de pinhão manso (*Jatropha curcas*) de três procedências distintas, relacionando-a com os diferentes reguladores de crescimento no meio de cultura.

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 – Xambê/PR; CNPAE 224 – São Francisco do Glória/MG), coletadas na safra de 2009/2010.

Cultivo dos explantes: hipocótilos medianos 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 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). Foi adicionado 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.m⁻².s⁻¹ de radiação fotossinteticamente ativa (PAR).

Oxidação: após 60 dias de cultivo, foi avaliado o parâmetro quantitativo, sendo os explantes agrupados em quatro níveis de oxidação: nenhuma, pouca, moderada ou elevada e, o parâmetro qualitativo, referente a presença ou ausência de oxidação.

Análise estatística dos dados: foi realizada uma análise exploratória dos dados, por meio de estatística descritiva, usando os dados de contagem transformados em percentuais. Cada tratamento foi constituído por dez repetições, os quais representaram um explante por tubo de ensaio.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

No controle (T1), nos explantes das procedências CNPAE 115 e 224, não foi observada oxidação, provavelmente por não ter apresentado exsudação de compostos fenólicos. Já para os demais tratamentos de todas as procedências, a oxidação foi observada e, caracterizada pela quase totalidade dos explantes com algum grau de oxidação (Figura 1), porém, com respostas variadas, sendo o T6 (BAP + AIA), o tratamento que apresentou a maior percentagem de explantes com elevado grau de oxidação para as três procedências (Tabela 1).

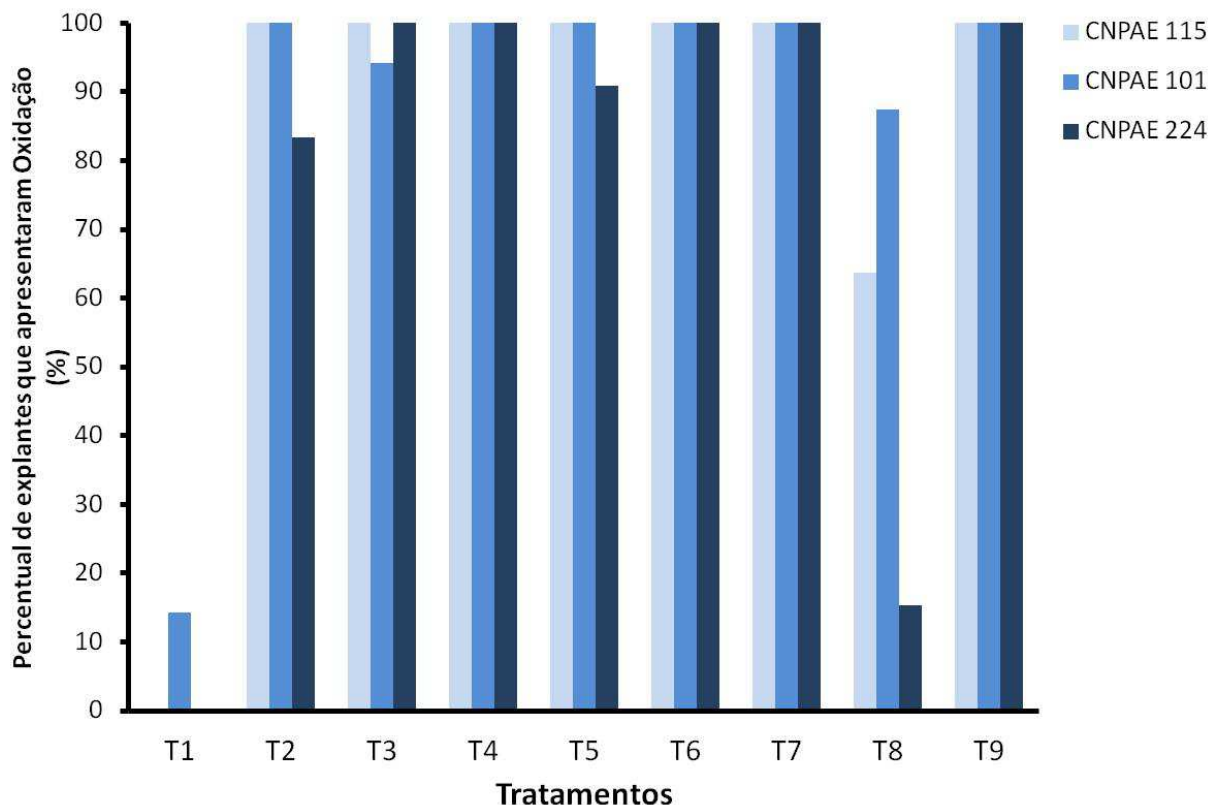


Figura 1. Percentagem de explantes de pinhão manso (*Jatropha curcas*) com oxidação (T1 = controle, T2 = TDZ, T3 = TDZ + AIA, T4 = TDZ + ANA, T5 = BAP, T6 SUSU= BAP + AIA, T7 = BAP + ANA, T8 = AIA, T9 = ANA).

Tabela 1. Frequência da ocorrência de oxidação dos explantes de pinhão manso (*Jatropha curcas*) em função da procedência e do tratamento.

Tratamento	Procedência	Percentual de explantes com oxidação (%)			
		Nenhuma	Pouca	Moderada	Elevada
T1 (controle)	CNP AE 115	100,00	0,00	0,00	0,00
	CNP AE 101	85,71	14,29	0,00	0,00
	CNP AE 224	100,00	0,00	0,00	0,00
T2 (TDZ)	CNP AE 115	0,00	50,00	50,00	0,00
	CNP AE 101	0,00	53,33	46,67	0,00
	CNP AE 224	7,69	0,00	92,31	0,00
T3 (TDZ+AIA)	CNP AE 115	0,00	44,44	11,11	44,44
	CNP AE 101	5,88	23,53	52,94	17,65
	CNP AE 224	0,00	33,33	50,00	16,67
T4 (TDZ+ANA)	CNP AE 115	0,00	10,00	90,00	0,00
	CNP AE 101	0,00	5,88	94,12	0,00
	CNP AE 224	0,00	0,00	100,00	0,00
T5 (BAP)	CNP AE 115	0,00	20,00	80,00	0,00
	CNP AE 101	0,00	11,76	58,82	29,41
	CNP AE 224	0,00	18,18	36,36	45,45
T6 (BAP+AIA)	CNP AE 115	0,00	0,00	8,33	91,67
	CNP AE 101	0,00	6,67	46,67	46,67
	CNP AE 224	0,00	33,33	33,33	33,33
T7 (BAP+ANA)	CNP AE 115	0,00	0,00	92,86	7,14
	CNP AE 101	0,00	5,26	94,74	0,00
	CNP AE 224	0,00	0,00	100,00	0,00
T8 (AIA)	CNP AE 115	36,36	45,45	18,18	0,00
	CNP AE 101	6,25	25,00	25,00	43,75
	CNP AE 224	84,62	15,38	0,00	0,00
T9 (ANA)	CNP AE 115	0,00	33,33	0,00	66,67
	CNP AE 101	0,00	15,00	0,00	85,00
	CNP AE 224	0,00	100,00	0,00	0,00

CONCLUSÕES

- ✓ Os reguladores de crescimento apresentaram uma influência direta na liberação de compostos fenólicos e, conseqüentemente, na oxidação.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CARVALHO, J.M.F.C.; ARRIEL, N.H.C.; LIMA, I.C., ALVES, M.M., MILANI, M. **Avaliação de meios de cultivo para pinhão manso (*Jatropha curcas* L.)**. IV Congresso Brasileiro de Mamona e I Simpósio Internacional de Oleaginosas Energéticas, João Pessoa, PB – 2010.
- Dawson, C. R.; Magee, R. J.; Plant Tyrosinase (Polyphenol oxidase). In *Methods in Enzymology*; Colowick, S. P.; Kaplan, N. O.; Eds.; **Academic Press**; New York, 1955, vol.II, p. 817-826.
- 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.
- Mason, H. S.; Comparative Biochemistry of the Phenolase Complex. In *Advances in Enzymology and Related Subjects of Biochemistry*, Nord, F. F.; Ed.; **Interscience Publishers**; New York, 1955, vol. XVI, p. 105-184.
- SATURNINO, H.M.; PACHECO, D.D.; KAKIDA, J.; TOMINAGA, N.; GONÇALVES, N.P. Cultura do pinhão-manso (*Jatropha curcas* L.). **Informe Agropecuário**, v. 26, p. 44-74, 2005.