

Orizalina na duplicação cromossômica de citros

Deise Antero da Paixão¹, Denise dos Santos Vila Verde², Camila Rodrigues Pinto¹, Maria Gerolina Silva Cardoso³, Marcus Dhilermando Hora de Souza⁴, Rayane Borges Neves⁴, Antônio da Silva Souza⁵, Walter dos Santos Soares Filho⁵ e Karen Cristina Fialho dos Santos⁶

¹ Estudante de Licenciatura em Biologia da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, estagiária da Embrapa Mandioca e Fruticultura, bolsista Fapesb, Cruz das Almas, BA; ² Engenheira Florestal, estudante de Doutorado da Universidade Estadual de Santa Cruz, bolsista Capes, Ilhéus, BA; ³ Mestre em Agronomia pela Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, bolsista Funarbe, Cruz das Almas, BA; ⁴ Estudante de Engenharia Florestal da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, estagiário da Embrapa Mandioca e Fruticultura, bolsista Fapesb, bolsista Super Estágio, Cruz das Almas, BA; ⁵ Engenheiro-agrônomo, pesquisador da Embrapa Mandioca e Fruticultura, Cruz das Almas, BA; ⁶ Bióloga, analista da Embrapa Mandioca e Fruticultura, Cruz das Almas, BA.

Introdução: Como o melhoramento genético de citros é um processo demorado, a utilização de técnicas biotecnológicas pode proporcionar maior celeridade para a obtenção de novas variedades. Uma dessas técnicas, a duplicação cromossômica, prevê a obtenção de indivíduos poliploides, que são de fundamental importância para posterior utilização em cruzamentos controlados, possibilitando a obtenção de indivíduos triploides, produtores de frutos sem sementes. Além disso, a duplicação cromossômica é um procedimento necessário para conversão dos haploides em duplo-haploides, gerando plantas geneticamente viáveis. Para essa finalidade agentes antimitóticos, a exemplo da orizalina, são utilizados visando duplicar a quantidade do DNA das células.

Objetivo: Definir um protocolo de duplicação cromossômica de um porta-enxerto de citros, com a utilização de distintas concentrações de orizalina, sob dois tempos de exposição dos explantes ao agente antimitótico.

Material e Métodos: O trabalho foi conduzido no Laboratório de Cultura de Tecidos da Embrapa Mandioca e Fruticultura, em Cruz das Almas, Bahia. Miniestacas apicais de 1 cm de tamanho do porta-enxerto citrandarin 'Riverside' foram seccionadas e inoculadas em erlenmeyers contendo o meio de cultura WPM líquido, contendo diferentes concentrações de orizalina (0 µM, 5 µM, 10 µM, 15 µM e 20 µM), onde permaneceram por dois tempos de exposição (24 e 48 horas), sob agitação constante a 105 rpm, na ausência de luz, em sala de crescimento com temperatura de 27 °C ± 1 °C. Após o período de exposição ao agente antimitótico, os explantes foram lavados por três vezes em água ultrapura autoclavada e um corte transversal foi feito nas extremidades de cada miniestaca para eliminar as áreas necrosadas. Posteriormente, os explantes foram transferidos para tubos de ensaio contendo 10 mL do meio de cultura WPM sólido e mantidos em sala de crescimento sob condições controladas. No preparo do meio de cultura WPM, adicionou-se 30 g L⁻¹ de sacarose e 2,4 g L⁻¹ de Phytigel®, como agente gelificante, e o pH foi ajustado a 5,8 antes da autoclavagem. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial de 5 x 2, sendo cinco concentrações de orizalina e dois tempos de exposição dos explantes, com 15 repetições por tratamento. Após 90 dias, a taxa de sobrevivência dos explantes foi avaliada, bem como as variáveis de crescimento: altura de parte aérea (cm); número de folhas verdes; número de folhas senescentes; número de miniestacas; e número de raízes. Os dados obtidos foram analisados com o auxílio do software R, versão 3.4.

Resultados: Nas condições experimentais estudadas, 90% dos explantes foram responsivos. Para a altura de parte aérea e número de miniestacas não foi possível um ajuste de equação com alto valor do coeficiente de determinação (R²). Para o número de folhas verdes, obteve-se a maior média na dose de 10 µM de orizalina, no tempo de 48 horas. O aumento das concentrações de orizalina favoreceu o aumento número de folhas senescentes, alcançando a maior média na concentração de 20 µM. No ajuste de equação quadrática para o número de raízes, notou-se que a dose ótima de orizalina foi de 6,27 µM, onde o valor máximo estimado foi de 1,53. Dessa forma, pode-se concluir que as concentrações de orizalina utilizadas não resultaram em morte dos explantes, em ambos os tempos de exposição aplicados. Contudo, análises citométricas necessitam ser realizadas para testar a eficiência das concentrações utilizadas na duplicação cromossômica.

Significado e impacto do trabalho: O ajuste da concentração adequada da orizalina permitirá a obtenção de indivíduos poliploides, para posterior utilização em cruzamentos controlados entre diploides e tetraploides. Além disso, o estudo irá gerar um protocolo de duplicação cromossômica de citros, que poderá ser utilizado futuramente para geração de duplo-haploides, acelerando, assim, o processo de obtenção de novas cultivares.