



ESTRESSE HÍDRICO *IN VITRO* EM ACESSOS DE JENIPAPEIRO

HYDRIC STRESS *IN VITRO* IN GENIPAP ACCESSIONS

ESTRÉS HÍDRICO *IN VITRO* EN ACCESIONES DE JENIPAPERRO

Anna Beatriz Nogueira de Araújo¹
Augusto Vinicius de Souza Nascimento²
Genilza Almeida da Graça³
Wendel de Melo Massaranduba⁴
Marielly Rodrigues Santos⁵
Ana Veruska Cruz da Silva⁶
Ana da Silva Ledo⁷

DOI: 10.54751/revistafoco.v16n9-144

Recebido em: 21 de Agosto de 2023

Aceito em: 18 de Setembro de 2023



RESUMO

A *Genipa americana* L., conhecida como jenipapo, é uma espécie endêmica do Nordeste brasileiro, particularmente abundante no estado de Sergipe, e tem despertado interesse devido à sua diversidade de usos. Seus frutos podem ser utilizados na alimentação em forma de sucos, geleias, doces e entre outros. Na região Nordeste do Brasil, o seu cultivo ocorre em pequenos pomares, dentro de pequenas propriedades agrícolas, em fragmentos de populações naturais nas áreas de Mata Atlântica, e em matas ciliares e a forma de exploração mais predominante é por meio do extrativismo. Este estudo teve como objetivo investigar a resposta de dois acessos de jenipapeiro dos Cerrados (Núcleo Bandeirante e Park Way) submetidos às condições de estresse hídrico *in vitro*. Para isso, foram empregadas cinco concentrações de manitol (0, 100, 200, 300 e 400 mM). Os resultados obtidos revelaram uma semelhança significativa nas taxas de sobrevivência entre os genótipos avaliados. Enquanto o grupo de controle, sem

¹ Mestranda em Agricultura e Biodiversidade. Universidade Federal de Sergipe (UFS). Cidade Univ. Prof. José Aloísio de Campos, Av. Marcelo Deda Chagas, s/n, Rosa Elze, São Cristóvão - SE, CEP: 49107-230.

E-mail: anna.b.n.araujo@gmail.com

² Doutorando em Agricultura e Biodiversidade. Universidade Federal de Sergipe (UFS). Cidade Univ. Prof. José Aloísio de Campos Av. Marcelo Deda Chagas, s/n, Rosa Elze, São Cristóvão - SE, CEP: 49107-230.

E-mail: augustovinicius11@gmail.com

³ Doutoranda em Agricultura e Biodiversidade. Universidade Federal de Sergipe (UFS). Cidade Univ. Prof. José Aloísio de Campos Av. Marcelo Deda Chagas, s/n, Rosa Elze, São Cristóvão - SE, CEP: 49107-230.

E-mail: almeidagenilza@hotmail.com

⁴ Doutorando em Agricultura e Biodiversidade. Universidade Federal de Sergipe (UFS). Cidade Univ. Prof. José Aloísio de Campos Av. Marcelo Deda Chagas, s/n, Rosa Elze, São Cristóvão - SE, CEP: 49107-230.

E-mail: wendelmassaranduba@gmail.com

⁵ Graduando em Engenharia Agrônoma. Universidade Federal de Sergipe (UFS). Cidade Univ. Prof. José Aloísio de Campos Av. Marcelo Deda Chagas, s/n, Rosa Elze, São Cristóvão - SE, CEP: 49107-230.

E-mail: mariellyrodrigues10@gmail.com

⁶ Doutora em Produção Vegetal. Embrapa Tabuleiros Costeiros. Avenida Mar, 3250, Treze de Julho, Aracaju - SE, CEP: 49025-040. E-mail: ana.veruska@embrapa.br

⁷ Doutora em Fitotecnia. Embrapa Tabuleiros Costeiros. Avenida Mar, 3250, Treze de Julho, Aracaju - SE, CEP: 49025-040. E-mail: ana.ledo@embrapa.br

a adição de manitol (0 mM), registrou a maior taxa de sobrevivência, alcançando 95%, nas concentrações mais elevadas (300 e 400 mM) houve um decréscimo, chegando a 70% para 300 mM e 65% para 400 mM. Em relação ao comprimento das brotações adventícias, o acesso NB apresentou superioridade em comparação ao acesso PK. Em relação ao enraizamento, sobrevivência, formação de calos e oxidação não foram evidenciadas diferenças significativas entre os acessos. O aumento nas concentrações de manitol conduziu a uma redução na contagem de folhas. Na concentração de 400 mM, foi registrada o menor número de folhas, sugerindo que concentrações elevadas afetam o desenvolvimento vegetativo dos acessos. No que concerne ao desenvolvimento de brotações adventícias, verificou-se um incremento desde 0 mM até 200 mM de manitol. Entretanto, a partir de 300 mM, ocorreu um declínio linear no comprimento das mesmas. Observou-se que o aumento nas concentrações de manitol resultou em uma inibição do crescimento das brotações adventícias em um ambiente de cultivo *in vitro*. A utilização do manitol como agente osmótico em testes *in vitro* é uma estratégia promissora para induzir respostas de estresse que podem ser promissoras para futuros programas de melhoramento genético.

Palavras-chave: *Genipa americana* L.; estresse abiótico; manitol.

ABSTRACT

Genipa americana L., known as genipap, is an endemic species of the Brazilian Northeast, particularly abundant in the state of Sergipe, and has attracted interest due to its diversity of uses. This study aimed to investigate the response of two distinct genipap accessions from the Cerrados region (Núcleo Bandeirante and Park Way) to hydric stress conditions in a controlled *in vitro* environment. For this purpose, five concentrations of mannitol (0, 100, 200, 300 and 400 mM) were employed as osmotic agent. The results obtained revealed a significant similarity in survival rates among the evaluated genotypes. While the control group, without the addition of mannitol, recorded the highest survival rate at 95%, the higher concentrations (300 and 400 mM) showed a decrease in this index, reaching only 70% for 300 mM and 65% for 400 mM. A distinctive aspect emerged regarding the length of adventitious shoots, with the NB accession associated with greater length compared to the PK accession. Regarding to rooting, survival, callus formation and oxidation, no significant differences were evidenced between the accessions. The increase in mannitol concentrations led to a reduction in leaf count. At the concentration of 400 mM, the lowest number of leaves was recorded, suggesting that such concentrations induce stress levels in the explant. Concerning the development of adventitious shoots, an increment was observed from 0 mM up to 200 mM of mannitol. However, from 300 mM, there was a negative linear regression for the number of shoots. It was observed that the increase in mannitol concentrations resulted in an inhibition of adventitious shoot growth. The use of mannitol as an osmotic agent for *in vitro* culture proved to be a promising strategy to induce stress responses. These results contribute to a broader understanding of the physiology and stress response of genipap, offering valuable insights for potential future applications in a breeding programs.

Keywords: *Genipa americana* L.; abiotic stress; mannitol.

RESUMEN

Genipa americana L., conocida como jenipapo, es una especie endémica del Noreste de Brasil, particularmente abundante en el estado de Sergipe, y ha despertado interés debido a su diversidad de usos. Este estudio tuvo como objetivo investigar la respuesta de dos accesiones distintos de jenipapo de los cerrados (Núcleo Bandeirante y Park en Way) a condiciones de estrés hídrico *in vitro*. Para ello, se emplearon cinco concentraciones de manitol (0, 100, 200, 300 y 400 mM) como agente osmótico. Los

resultados obtenidos revelaron una similitud significativa en las tasas de supervivencia entre los accesiones evaluados. Mientras que el grupo de control, sin la adición de manitol, registró la mayor tasa de supervivencia, alcanzando el 95%, las concentraciones más altas mostraron una disminución en este índice, llegando solo al 70% para 300 mM y al 65% para 400 mM. Surgió un aspecto distintivo en cuanto a la longitud de los brotes adventicios, siendo el acceso NB asociado con una mayor extensión en comparación con el acceso PK. En cuanto a parámetros como el enraizamiento, la supervivencia, la formación de callos y la oxidación, no se evidenciaron diferencias significativas entre los accesos. Es importante destacar que el aumento en las concentraciones de manitol condujo a una reducción en el número de hojas. En la concentración de 400 mM, se registró lo menor número de hojas, lo que sugiere que dichas concentraciones inducen niveles de estrés en el explante. En lo que respecta al desarrollo de brotes adventicios, se observó un incremento desde 0 mM hasta 200 mM de manitol. Sin embargo, a partir de 300 mM, hubo un declive en el número de estos brotes, acompañado de un patrón lineal negativo. Se observó que el aumento en las concentraciones de manitol resultó en una inhibición del crecimiento de los brotes adventicios. El uso de manitol como agente osmótico en el cultivo *in vitro* demostró ser una estrategia prometedora para inducir respuestas de estrés hídrico. Estos resultados contribuyen a una comprensión más amplia de la fisiología y la respuesta al estrés del jenipapo, brindando información valiosa para posibles aplicaciones futuras en programas de mejoramiento genético.

Palabras clave: *Genipa americana* L.; estrés abiótico; manitol.

1. Introdução

Genipa americana L. conhecida popularmente como jenipapo ou jenipá, é originária da América Central, mas disseminada por regiões tropicais úmidas das Américas, Ásia e África. Pertence à família arbórea Rubiaceae de porte arbóreo, com características de planta heliófita (Andrade et al., 2000). A espécie cujo fruto pode ser utilizado na alimentação de diversas formas como na forma de sucos, geleias, doces e entre outros, porém, apesar da utilização frequente de seus frutos, ainda é explorada pela população nativa sob a forma extrativista, na região Nordeste do Brasil, principalmente no estado de Sergipe, o cultivo dessa espécie ocorre em pequenos pomares, dentro de pequenas propriedades agrícolas, em fragmentos de populações naturais nas áreas de Mata Atlântica, e em matas ciliares (Silva et al., 2010).

A cultura de tecidos de plantas é uma grande ferramenta com alto potencial no melhoramento genético vegetal podendo ser utilizada na multiplicação de materiais genéticos superiores a produção de mudas livres de doenças e vírus e seleção *in vitro* para estresses bióticos e abióticos (Pinhal et

al., 2011). O estresse hídrico que as plantas sofrem durante o seu desenvolvimento e crescimento gera impactos na sua produção. Esse estresse ocorre quando as plantas demandam determinada quantidade de água, mas o solo não tem para suprir. Todas as plantas necessitam de água para desenvolver e produzir. Sua falta pode, em casos leves, afetar o crescimento e reduzir a produção e, em casos extremos, pode ocorrer morte da planta (Azerêdo et al., 2016). O *screening in vitro* com agentes osmóticos PEG (6000 ou 8000) (Hernández-Pérez et al., 2021) e manitol (Echer et al., 2010), pode acelerar a caracterização de genótipos com resistência e/ou tolerância a estresse hídrico, além de indicar condições *in vitro* para a conservação em curto prazo por meio do crescimento lento. O objetivo do presente estudo foi avaliar a resposta de dois acessos de jenipapeiro dos Cerrados em condições de estresse hídrico *in vitro*.

2. Material e Métodos

O experimento foi realizado no laboratório de Cultura de Tecidos de Plantas da Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE. Como explantes foram utilizados segmentos nodais excisados de plântulas assépticas de dois acessos de jenipapeiro do Cerrado: Núcleo Bandeirante (NB) e Park Way (PK). Os segmentos nodais foram inoculados em frascos de vidro (Figura 1) de 125 mL com 30 mL de meio de cultura constituído de sais MS (Murashige e Skoog, 1962), suplementado com 2% de sacarose e gelificado com 6 g L⁻¹ de Phytigel®. Como tratamentos indutores do estresse hídrico foram utilizadas cinco concentrações de manitol: 0, 100, 200, 300 e 400 mM.

Figura 1. Segmentos nodais de genótipos de jenipapo, inoculados em meio MS com diferentes concentrações de manitol.



Fonte: Autor (2023)

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado em esquema fatorial 2 x 5 (2 acessos combinados com 5 concentrações de manitol), totalizando 10 tratamentos com 3 repetições, sendo cada repetição composta de 2 frascos com 3 segmentos nodais/frasco, totalizando 60 frascos. Aos 90 dias de cultura *in vitro* foram avaliadas a porcentagem de sobrevivência, porcentagem de oxidação, porcentagem de calos e número de brotações adventícias, comprimento das brotações adventícias, porcentagem de enraizamento e número de folhas. Os dados foram submetidos a análise de variância e as medias oriundas do fator qualitativo (acessos) comparadas pelo teste de Tukey à 5% de significância e para o fator quantitativo (concentrações de manitol) foi aplicada a análise de regressão. Utilizou o programa Sisvar para as análises estatísticas (Ferreira, 2019).

3. Resultados e Discussão

Houve diferença significativa entre os fatores apenas para variável comprimento das brotações adventícias, onde o acesso NB apresentou maior comprimento (Tabela 1). Com relação a porcentagem de enraizamento, sobrevivência, calos e oxidação, não houve diferenças significativas entre os acessos. Echer et al. (2010), avaliando os efeitos da deficiência hídrica induzida por manitol no crescimento inicial de plântulas de algodão, observaram que os potenciais hídricos da ordem de -0,9 MPa diminuiram significativamente a taxa

de crescimento das plântulas. Isso mostra que o manitol influenciou no desenvolvimento do genótipo NB, na qual as plantas não cresceram muito durante os 2 meses de cultivo *in vitro* (Tabela 1).

Tabela 1. Porcentagens de sobrevivência, oxidação, enraizamento e calos, número de brotações adventícias e folhas, comprimento das brotações adventícias em função de acessos de jenipapeiro Núcleo Bandeirante (NB) e Park Way (PK).

Variáveis	Genótipos	
	PK	NB
Sobrevivência (%)	2,57 a	3,5 a
Oxidação (%)	0,33 a	2,60 a
Enraizamento (%)	0,20 a	0,07 a
Calos (%)	0,00 a	0,00 a
Número de brotações adventícias	3,63 a	3,00 a
Comprimento das brotações (cm)	0,20 b	2,93 a
Número de folhas	9,00 a	8,33 a

*Medias seguidas com letras iguais na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey $p > 0,05$.

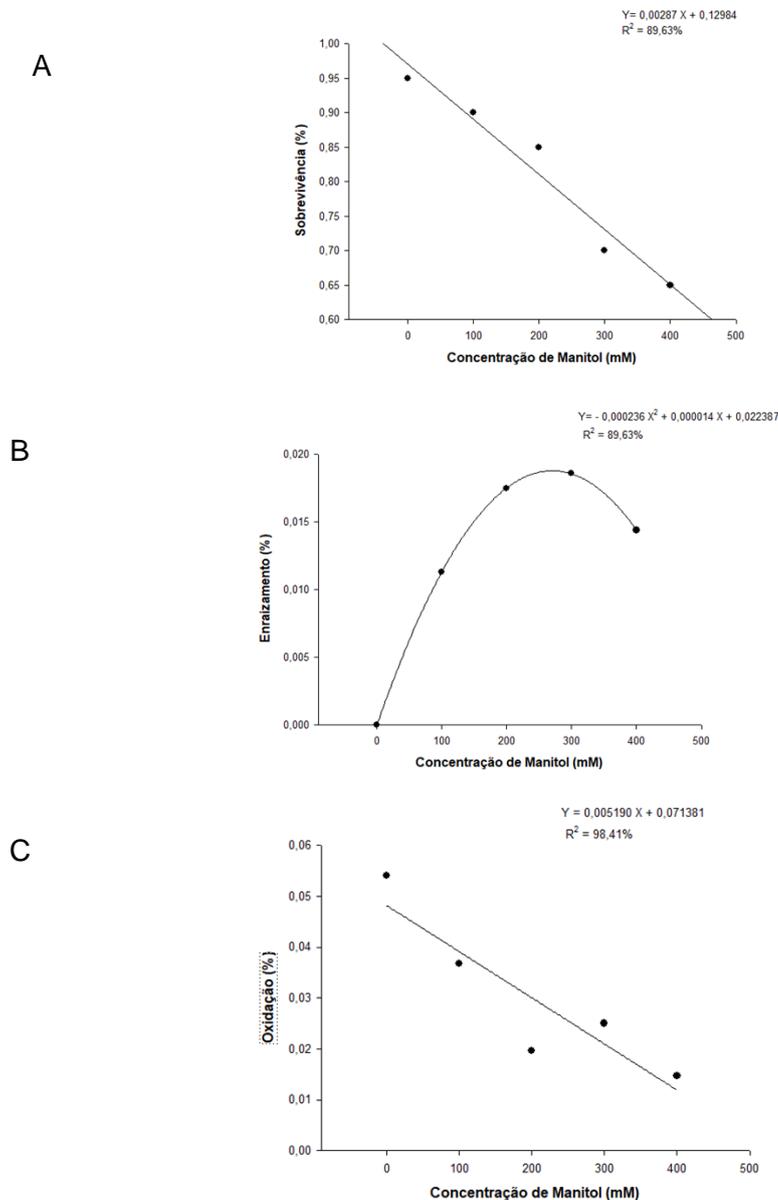
Fonte: Autor (2023)

O manitol por ser um agente osmótico, causa o estresse hídrico por meio da diminuição da disponibilização de água no meio de cultura, afetando sobremaneira a viabilidade das plântulas de jenipapeiro (Figura 2A). Para o controle houve a maior porcentagem de sobrevivência (95%). Entretanto, com o aumento da concentração para 300 e 400 mM houve redução, chegando a 70% para 300 mM e 65% para 400mM (Figura 2A). Este resultado reforça que o manitol dificulta o desenvolvimento das plântulas de jenipapo.

Na concentração de 300 mM foi detectada a maior porcentagem de enraizamento (Figura 2B), apresentando um comportamento foi quadrático. A porcentagem de oxidação apresentou comportamento linear negativo. Poucos explantes apresentaram oxidação, ocorrendo apenas nas concentrações 0,100 e 300 mM, sendo que no controle houve maior oxidação (Figura 2C).

Devido ao aumento das concentrações de manitol houve uma redução no número de folhas (Figura 3A), com comportamento quadrático, onde na presença de 400 mM houve o menor número de folhas. Entretanto, em um trabalho realizado por Ledo et al. (2013), as concentrações de 0 a 20 mM de manitol não causaram desaceleração no crescimento das plântulas do jenipapeiro acesso NB. Para avaliar o efeito da redução do crescimento das plântulas de jenipapeiro, estudos com concentrações acima de 20 g L⁻¹ de manitol são requeridos.

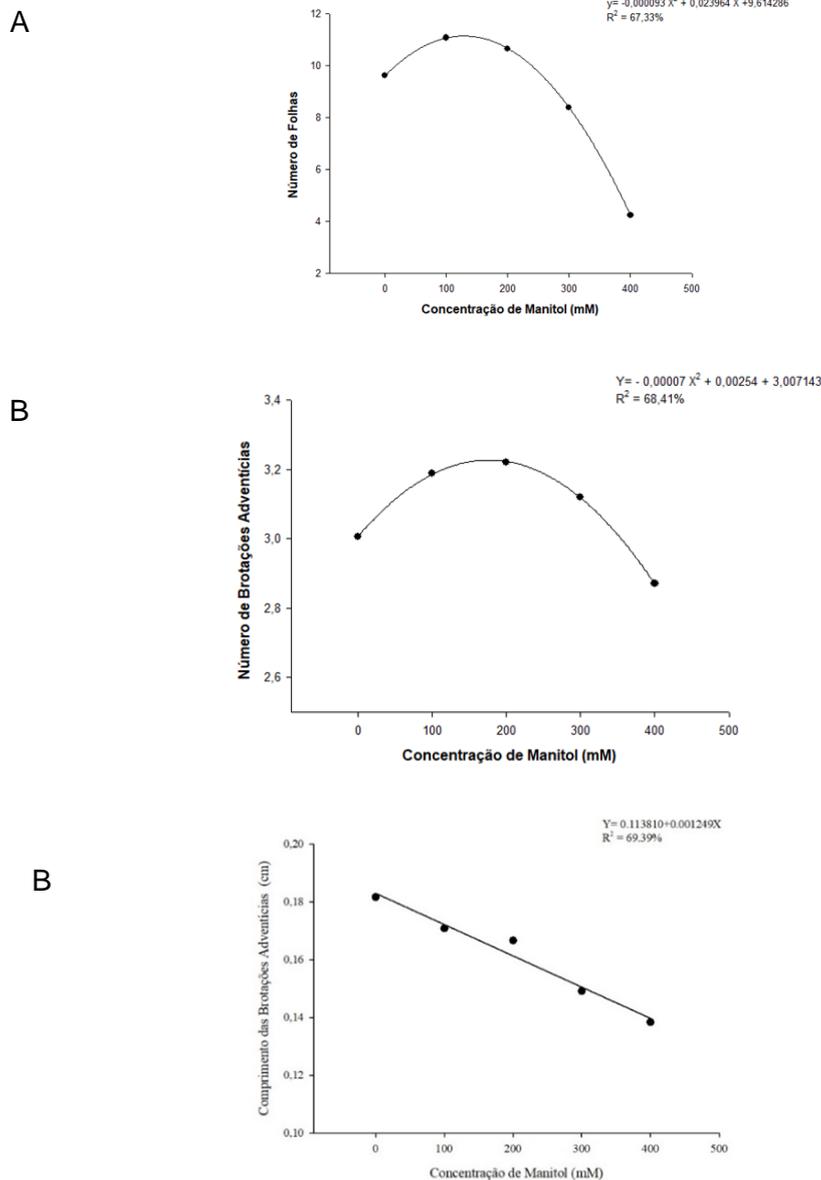
Figura 2. Porcentagem de sobrevivência (A), enraizamento (B) e oxidação (C) em função das concentrações.



Fonte: Autor (2023)

Para o número de brotações adventícias (Figura 3B) foi observado um comportamento quadrático. O número de brotações adventícias teve um aumento de 0 mM até 200 mM, entretanto, a partir da concentração 300 mM houve redução. O comprimento das brotações adventícias apresentou um comportamento linear negativo (Figura 3C). Nota-se que o aumento da concentração de manitol promoveu uma redução no crescimento das brotações.

Figura 3. Número de folhas em brotações adventícias (3A), Número de brotações adventícias (3B) e Comprimento das brotações adventícias (3C) de jenipapeiro em função das concentrações de manitol.



Fonte: Autor (2023)

4. Conclusão

Ocorre diminuição no crescimento das brotações adventícias de jenipapeiro.

A utilização do manitol como agente osmótico em cultivo *in vitro* pode ser também uma estratégia útil para a indução de respostas de estresse que possam ser relevantes para futuros programas de melhoramento genético.

REFERÊNCIAS

ANDRADE, S. R. de. **Princípios da cultura de tecidos vegetais**. Planaltina: Embrapa Cerrados, 16p. 2002.

AZERÊDO, G. A. de; PAULA, R. C. de; VALERI, S. V. Germinação de sementes de *Piptadenia moniliformis* Benth sob estresse hídrico. **Ciência Florestal**, v. 26, n. 1, p. 193-202. 2016.

ANDRADE, A.C.S. de; SOUZA, A. F.; RAMOS, F. N.; PEREIRA, T.S; CRUZ, A.P.M. Germinação de sementes de jenipapo: temperatura, substrato e morfologia do desenvolvimento pós-seminal. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 35, n. 3, p.609-615. 2000.

ECHER, F.R.; CUSTÓDIO C.C.; HOSSOMI, S.T.; DOMINATO, J.C.; MACHADO NETO, N.B. Water stress induced by mannitol in cotton cultivars. **Revista Ciência Agronômica**, v. 41, n. 4, p. 638-645. 2010

FERREIRA, D. F. SISVAR: a computer analysis system to fixed effects split plot type designs. **Revista Brasileira de Biometria**, v. 37, n. 4, p. 529-535. 2019.

HERNÁNDEZ-PÉREZ, C. A.; GÓMEZ-MERINO, F. C.; SPINOSO-CASTILLO, J. L.; BELLO-BELLO, J. J. *In vitro* screening of sugarcane cultivars (*Saccharum* spp. hybrids) for tolerance to polyethylene glycol-induced water stress. **Agronomy**, v. 11, p. 598. 2021.

LEDO, A. S.; ALMEIDA, C.S.; ARAÚJO, A.G.; SILVA, A.V.C. e SILVA JUNIOR, J.F.S. Efeito do manitol no crescimento *in vitro* de acesso de jenipapeiro dos Cerrados para fins de conservação. **Magistra**, v. 25, p. 298-299, 2013.

PINHAL, H.F. et al., Applications of tissue culture techniques in Brazilian Cerrado fruit trees. **Ciência Rural**, v.41, n.7, p.1136-1142, 2011.

SILVA, D. B.; SALOMÃO, A. N.; CARVALHO, P. C. L.; WETZEL, M. M. V. S.; SILVA, D. B. Jenipapo. In: VIEIRA R. F.; AGOSTINI-COSTA, T. S.; SILVA, D. B. DA; SANO, S. M.; FERREIRA, F. R. (ed.). **Frutas nativas da região Centro Oeste do Brasil**. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, p. 199-220, 2010.

TORRES, A. C.; FERREIRA, A. T.; SÁ, F. G.; BUSO, J. A.; CALDAS, L. S.; NASCIMENTO, A. S.; BRÍGIDO, M. M.; ROMANO, E. **Glossário de biotecnologia vegetal**. Brasília: Embrapa Hortaliças. 128p. 2000.