

Orizalina na duplicação cromossômica de *Citrus medica* L.

Deise Antero da Paixão¹, Denise dos Santos Vila Verde², Jorge Eduardo dos Santos Melo¹, Tainara da Silva Pereira³, Bruna Nunes das Virgens⁴, Damares Silva Lima⁵, Antônio da Silva Souza⁶ e Karen Cristina Fialho dos Santos⁷

¹Estudante de Licenciatura em Biologia da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, estagiária da Embrapa Mandioca e Fruticultura, bolsista CNPq, Cruz das Almas, Bahia; ²Engenheira Florestal, Estudante de Doutorado da Universidade Estadual de Santa Cruz, bolsista Capes, Ilhéus, Bahia; ³Estudante de Biologia da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, estagiária da Embrapa Mandioca e Fruticultura, bolsista Fapesb, Cruz das Almas, Bahia; ⁴Estudante de Engenharia Agrônoma da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, bolsista Embrapa da Embrapa Mandioca e Fruticultura, Cruz das Almas, Bahia; ⁵Estudante de Engenharia Agrônoma da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas, Bahia; ⁶Engenheiro Agrônomo, Doutor, pesquisador da Embrapa Mandioca e Fruticultura, Cruz das Almas, Bahia; ⁷Bióloga, doutora, analista da Embrapa Mandioca e Fruticultura, Cruz das Almas, Bahia.

Introdução

O porta-enxerto *Citrus medica* L., pertencente à família Rutaceae, possui frutos com casca espessa e rugosa, sabor azedo e ácido, o que o torna bastante apreciado e utilizado na culinária. Como o Brasil é um dos líderes mundiais em produção de frutas cítricas é necessário o constante desenvolvimento de variedades mais adaptadas às diversas condições ambientais e também aos fatores bióticos. Uma das técnicas de melhoramento genético que pode ser utilizada, nesse sentido, é a duplicação cromossômica, que prevê a obtenção de indivíduos poliploides e também a conversão de plantas haploides em duplo-haploides. Esses duplo-haploides, são considerados como linhagens homozigóticas puras, que podem acelerar o processo de obtenção de novas cultivares. 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 para *Citrus medica* L., utilizando distintas concentrações de orizalina, sob dois tempos de exposição.

Material e Métodos

O trabalho foi conduzido no Laboratório de Cultura de Tecidos do Núcleo de Biologia Avançada da Embrapa Mandioca e Fruticultura, em Cruz das Almas, Bahia. Miniestacas apicais de 1,5 cm de tamanho do *Citrus medica*, advindas de plantas do BAG in vitro, foram seccionadas e inoculadas em meio de cultura WPM líquido, contendo diferentes concentrações de orizalina (0 μ M, 5 μ M, 10 μ M, 15 μ M e 20 μ M), onde permaneceram por dois tempos de exposição (24 e 48 horas) com 15 repetições, ficando sob agitação constante a 105 rpm, na ausência de luz, em sala de crescimento com temperatura de 27 ± 1 °C. Após o período de exposição ao agente antimitótico, os explantes foram lavados por três vezes com água de osmose reversa. 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 na presença de luz. Após 90 dias, as variáveis foram avaliadas e os dados obtidos analisados com o auxílio do software R, versão 3.4.

Resultados

Todos os explantes foram responsivos em todos os tratamentos. Para altura de planta e número de miniestacas, na ausência da orizalina e nas doses de 10 e 20 μ M no tempo de 24 horas ocorreram as maiores médias. No número de folhas verdes houve diferença estatística apenas na dose de 15 μ M, ocorrendo os melhores resultados no tempo de 24 horas. Para o número de raízes, as maiores médias foram alcançadas nas doses de 5 e 10 μ M de orizalina no tempo de exposição de 24 horas. No número de miniestacas, no tempo de 24 horas, a dose ótima foi obtida na ausência da orizalina, com média estimada de 3,81, enquanto para o número de folhas verdes a dose ótima foi alcançada com 10,44 μ M, com média de 8,31. Como resultado da citometria de fluxo, foi possível observar que o maior percentual de tetraploides foi obtido na concentração de 10 μ M de orizalina, no tempo de 48 horas com 13,33%, o equivalente a 2 tetraploides. Na concentração de 5 μ M foram obtidos 6,25 e 5,88% de tetraploides, enquanto na dose de 20 μ M foram alcançadas médias de 5,88 e 6,26%, nos tempos de 24 e 48 horas, respectivamente; na concentração de 15 μ M obteve-se um percentual de 5,88% de tetraploides no tempo de 48 horas.

Conclusão

As concentrações de orizalina não afetaram o desenvolvimento das plantas in vitro. Para a obtenção de tetraploides, a concentração de 10 μ M de orizalina no tempo de 48 horas foi a mais eficiente.

Significado e impacto do trabalho

Os agentes antimitóticos, quando bem utilizados, permitem a obtenção de indivíduos tetraploides, que poderão ser utilizados em cruzamentos controlados com diploides, gerando variedades triploides, que possuem alto valor comercial por produzirem frutos sem sementes. Além disso, o estabelecimento do protocolo de duplicação cromossômica de citros, poderá ser utilizado futuramente para desenvolvimento de duplo-haploides.