

CULTIVO *IN VITRO* DE SORGO (*SORGHUM BICOLOR* L. MOENCH)

Rita de Cássia Malho Alves¹,
Daniela Defavari do Nascimento²

Aluno da Fatec Piracicaba “Dep. Roque Trevisan”; e-mail: rita.malho@yahoo.com.br¹
Professora da Fatec Piracicaba “Dep. Roque Trevisan”; e-mail: daniela.nascimento01@fatec.sp.gov.br²

Área do Conhecimento: 5.01.03.04-0

Palavras-chave: Cultivo, *in vitro*, sorgo, hormônios.

INTRODUÇÃO

O procedimento de cultura de tecidos é utilizado para a replicação de espécies de difícil propagação (FERREIRA et al, 1998). De acordo com Mantell et al. (1994), no cultivo *in vitro* pode-se esperar diversas respostas em relação ao explante, devido ao estado fisiológico, bioquímico e de desenvolvimento, podem-se obter diferentes características que irão diferenciar do antigo indivíduo, desta forma desenvolvendo células para um novo indivíduo. Muitos fatores influenciam na cultura de tecidos do sorgo, entre eles estão: o genótipo, a idade do explante e a composição do meio de cultura (INDRA; KRISHNAVENI, 2009).

OBJETIVO

Avaliar a multiplicação *in vitro* de explantes de sorgo em meio de cultura de MS e o uso de reguladores vegetais, visando obtenção de mudas desenvolvidas e enraizadas.

METODOLOGIA

As sementes de sorgo foram obtidas no mercado local. Para realizar a assepsia, as sementes foram lavadas e transferidas para recipiente com água destilada autoclavada. Após a lavagem, as sementes são levadas para câmara de fluxo para realizar a assepsia com solução de hipoclorito de sódio comercial (3:1) por 60 minutos, seguida de lavagem em solução de etanol 70% (v/v) por 5 minutos. Posteriormente, são enxaguadas em água autoclavada e inoculadas nos meios de cultura. Os tratamentos foram baseados em ensaios pilotos (HOSAKA, 2014) para o cultivo *in vitro* de sorgo, e com isso foram realizados os seguintes tratamentos: T1 – MS conforme sugerido por MURASHIGE; SKOOG (1962); T2 – MS + 2 de 2,4-D (ácido diclorofenoxiacético); T3 – 50% dos sais do meio MS + 2 de 2,4-D; T4 - MS + 2 de TDZ (Thidiazuron); T5 - 50% dos sais do meio MS + 2 de TDZ. Todos os tratamentos foram suplementados com sacarose (30) e agente gelificante *phytagel* (2,4). O pH foi aferido para $5,7 \pm 1$ antes da autoclavagem (este- rilização) a 120°C e 1 por quinze minutos. A incubação foi realizada em sala climatizada de crescimento com temperatura 5 ± 3 °C, sob fotoperíodo de 16 horas de luz.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Sementes foram inoculadas em meio MS sem adição de fitoreguladores, visando evitar que as concentrações destes nos tratamentos (T2, T3, T4 e T5) pudessem interferir na germinação. Assim, as sementes foram germinadas em meio MS (T1) e posteriormente, as plantas germinadas *in vitro* foram usadas como fonte de explantes (caules e raízes) para inoculação em todos os tratamentos (T1 a T5). O tratamento 1 apresentou grande porcentagem de oxidação, embora alguns explantes tenham se desenvolvido mesmo oxidados. Os explantes que se desenvolveram, apresentaram aspectos

favoráveis (coloração, formato do caule) como mostra a figura 1A. De início o tratamento 2 não mostrava um bom resultado, no entanto, alguns meses depois houve desenvolvimento de calos. Todos os calos desenvolvidos nesse tratamento apresentaram aspecto denso e coloração clara (Figura 1B). Em contrapartida ao tratamento 2, o T3 apresentou uma porcentagem menor no desenvolvimento de calos, e uma maior porcentagem de oxidação, embora mesmo depois de oxidado apresentou crescimento de folhas nas extremidades e calos (Figura 1C).

De maneira geral, foi possível perceber que os explantes tendem a se desenvolver nos tratamentos T2 e T3, porém, devido à presença do 2,4-D, parecem tender a oxidar e morrer. Santos et al., 2005, quando avaliava o cultivo in vitro de *Salix (Salix humboldtiana Willd)*, observou que o 2,4-D, possivelmente, causava o efeito tóxico no desenvolvimento da planta. Bravo (2005) e González (2002), mencionam que a oxidação das plantas, deve-se a formação de compostos fenólicos, que por consequência sofrem oxidação por algumas enzimas, o tipo e idade do explante.

No tratamento 4 houve uma grande porcentagem de oxidação. Também apresentou crescimento nas laterais e parte área com coloração verde, mesmo depois de oxidados. Não se observou o desenvolvimento de calos, mas apresentou crescimento embora desuniforme. No tratamento 5 também houve grande porcentagem de oxidação e morte de explantes, que desenvolveram parte área e crescimento desuniformes no caule (Figura 1D).

Figura 1. (A) explante (raiz) inoculado no T1, apresentou várias brotações de um mesmo explante.

(B) Explante (raízes) inoculado em T2, foi observado crescimento de calo, também apresentava deformidade no crescimento.

(C) A Raiz inoculada em T3 também apresentou oxidação e formação de calos.

(D) Explante inoculado no T5, nota-se crescimento com deformidades.



Fonte: Autora, 2019.

De início, o tratamento em que foi adicionado $0,2 \text{ mg L}^{-1}$ TDZ e com metade da concentração da formulação de sais e vitaminas de MS (T5), mostrou resultados mais satisfatórios em comparação aos outros tratamentos, pois os explantes que foram inoculados em TDZ apresentaram maior formação de calos e menos oxidação, que os explantes inoculados em 2,4-D. O efeito do TDZ no alongamento dos brotos é pela sua alta atividade e estabilidade nos tecidos (HUE- TTEMAN; PREECE, 1993). Soares et al. (2011), relatou menor formação de brotos com a

utilização do TDZ, isso deve-se ao fato dessa citocinina ser mais ativa biologicamente do que as outras. Costa et al. (2012), utilizou diferentes concentrações de TDZ (0,01 mg L⁻¹; 0,02 mg L⁻¹; 0,03 mg L⁻¹; 0,04 mg L⁻¹; 0,05 mg L⁻¹), e não observou aumento positivo significativamente para os cultivares avaliados. No entanto, ao longo do desenvolvimento do trabalho, o 2,4-D foi mostrando-se mais eficaz, apresentando maior formação de calos, em comparação aos tratamentos contendo TDZ.

CONCLUSÕES

Uma das principais dificuldades no cultivo *in vitro* foram a contaminação e a germinação em meio contendo reguladores vegetais.

Os explantes (caules e raízes) inoculados em meio contendo 2,4-D, mostraram resultado satisfatório no final do trabalho. Já os explantes nos tratamentos contendo TDZ, inicialmente, desenvolveram calos, porém, ao longo do trabalho, evoluíram para oxidação. Apesar de todos os tratamentos apresentarem oxidação fenólica, não houve inviabilidade na formação de calos para o T2 e T3, ou seja, usando 2,4-D (T2 – MS + 2 mg L⁻¹ de 2,4-D; T3 – 50% dos sais do meio MS + 2 mg L⁻¹ de 2,4-D).

Visando micropropagação, o uso de explante de raiz inoculado em meio MS (sem fitoreguladores) se mostrou a melhor opção, apresentando grande quantidade de brotações laterais.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BRAVO, C.D.V. Controle genético e histogênese na regeneração de progênies de *Eucalyptus grandis*. 2005. 80 p. Dissertação (Mestrado em Recursos Florestais) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2005.

COSTA Leozina de Carvalho da; LEMOS Oriel Filgueira de; SILVA Ariane Souza da; SANTOS Lana Roberta Reis dos. Efeito do TDZ (thidiazuron) na indução de gemas em duas cultivares de pimenta-do-reino. 16º Seminário de Iniciação Científica da EMBRAPA. Embrapa Amazônia Oriental, Belém-PA. 2012.

FERREIRA, M. A.; CALDAS L. S.; PEREIRA E. A. Aplicações da cultura de tecidos no melhoramento genético de plantas. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO J. A. Cultura de tecidos e transformação genética de plantas. Brasília: Embrapa SPI: Embrapa CNPH. v. 1, p. 21- 43, 1998.

GONZÁLEZ, E.R.; ANDRADE, A.; BERTOLO, A.L.; LACERDA, G.C.; CARNEIRO, R.T.; DEFÁVARI, V.A.P.; LABATE, M.T.V.; LABATE, C.A. Production of transgenic *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla* using the sonification-assisted *Agrobacterium* transformation (SAAT) system. *Functional Plant Biology*, Collingwood, v. 29, p. 97-102, 2002.

HOSAKA, G.K. Estabelecimento de protocolo de cultura de tecidos de *Sorghum bicolor*. Dissertação (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, 2014. 74 p.

HUETTEMAN, C.A.; PREECE, J.E. Thidiazuron: a potent cytokinin for woody plant tissue culture. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, v.33, n.2, p.105-19, 1993.

INDRA, A.P.; KRISHNAVENI, S. Effect of hormones, explants and genotypes in *in vitro* culturing of sorghum. *Journal of Biochemical Technology*, Mumbai, v. 1, n. 4, p. 96–103, 2009.

MANTELL, S.H.; MATTHEWS, J.A.; MACKEE, R.A. Princípios de biotecnologia em plantas: uma introdução à engenharia genética em plantas. Revista Brasileira de Genética, Ribeirão Preto: Revista Brasileira de Genética, 1994. 344 p.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, Copenhagen, v. 15, n. 3, p. 473-497, 1962.

SANTOS, F.G.; COSTA, E.F.; RODRIGUES, J.A.S.; LEITE, C.E.P.; SCHAFFERT, R.E. Avaliação do comportamento de genótipos de sorgo para resistência à seca. In: CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, 21., Londrina, 1996. Resumos... Londrina: IAPAR, 1996. p.32

SOARES, F.P; PAIVA, R.; ALVARENGA, A.A.; NERY, F.C; VARGAS, D.P; SILVA, D.R.G. Taxa de multiplicação e efeito residual de diferentes fonte de citocinina no cultivo *in vitro* de *Hancornia speciosa*. Ciênc. agrotec., Lavras, v. 35, n. 1, p. 152-157, jan./fev., 2011.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao CNPq pela concessão da bolsa PIBITI, à Fatec Piracicaba “Dep. Roque Trevisan” e ao Centro Paula Souza pela infraestrutura e ensinamentos.