

DOSEAMENTO DE AUXINAS EM TECIDOS DE OLIVEIRA

Antunes, R. M.¹; **Hegewald, H.**²; **Teixeira da Costa, C.**^{1,3}; **Pinto, A. P.**^{1,4};
Peixe, A.⁴

¹ Departamento de Química, Universidade de Évora, 7000 – 671 Évora.

² Lacrome Lda. Bairro do Bacelo, Rua César Batista, 6 D, 7000-715 Évora.

³ Universidade de Évora, Centro de Química, 7000 – 671 Évora.

⁴ Universidade de Évora, Instituto de Ciências Agrárias Mediterrânicas, 7002-554 Évora.

Embora existam plantas onde o equilíbrio dos níveis internos de reguladores de crescimento é de tal ordem que o enraizamento adventício ocorre espontaneamente, geralmente é necessária a adição de auxina exógena para estimular a rizogénese. Deste procedimento muito beneficiou a oliveira, cuja multiplicação por estaca semi-lenhosa se faz hoje de uma forma mais ou menos generalizada através da aplicação basal de IBA (ácido indol-3-butírico) na concentração média de 3500ppm. O tipo de auxinas presentes nos tecidos vegetais das zonas onde se pretende induzir a formação de raízes adventícias, assim como a sua concentração relativamente aos outros reguladores de crescimento, são as variáveis que mais influenciam o enraizamento. O ácido indol-3-acético (AIA) é a principal auxina natural sendo activa como indutora da rizogénese em concentrações extremamente baixas. Com este objectivo, as auxinas podem ser utilizadas isoladamente ou em combinação, quer adicionadas directamente ao meio de enraizamento como acontece no caso da micropropagação *in vitro* ou por imersão basal das estacas, como acontece nos processos de propagação tradicionais. Em qualquer dos casos, o AIA, o AIB e o ANA (ácido α -naftalenoacético) são as auxinas mais empregues, sendo utilizadas em concentrações que variam conforme a espécie e/ou cultivar. Estes reguladores de crescimento ocorrem nos tecidos vegetais em concentrações muito baixas (ng.g^{-1}), juntamente com outras substâncias com propriedades cromatográficas semelhantes, o que dificulta a sua determinação requerendo esta uma extensiva purificação antes da sua quantificação final. Com o objectivo de dosear os níveis de auxinas (AIA e AIB) em tecidos vegetais de duas cultivares de oliveira comuns no Alentejo ('Galega vulgar' e 'Cobrançosa'), foram realizadas extracções sólido-líquido e líquido-líquido

seguidas de separação, identificação e quantificação por HPLC-DAD e LC-MS. A selecção destas cultivares deveu-se ao seu comportamento antagónico relativamente à formação de raízes adventícias por estacaria semi-lenhosa. Enquanto a cultivar 'Galega vulgar' se apresenta recalcitrante ao enraizamento por este processo, com taxas de formação de raízes adventícias que não ultrapassam em média os 10%, a cultivar 'Cobrançosa', tem mostrado facilidade de enraizamento, apresentando taxas de sucesso superiores a 50%.

Material e Métodos

Material vegetal dopado com 250 ng L⁻¹ de AIA e AIB, foi extraído a frio e no escuro durante 2 horas numa mistura com: i) 80% de metanol em 100 mg L⁻¹ de butylated hydroxytoluene (BHT) ou ii) 80% de acetona em 100 mg L⁻¹ de BHT (Zin-Huang et al., 1996; Souza et al., 2003; Mori et al., 2005). O uso de BHT serve para impedir a degradação das auxinas durante o processo de extracção das amostras. Em seguida ambas as misturas foram centrifugadas à temperatura ambiente e o sobrenadante recolhido. Após secagem o resíduo foi recolhido em 5 ml de BHT 100 mg L⁻¹ e o pH da mistura acertado a 3 com HCl 1M. As soluções obtidas foram posteriormente extraídas com éter etílico, obtendo-se uma fase orgânica e uma fase aquosa. A fase orgânica foi posteriormente seca, recuperada em metanol e analisada por HPLC. Com o objectivo de otimizar a separação das auxinas foram ainda realizados simultaneamente ensaios sobre padrões de concentração conhecida.

Conclusões

Seguido o procedimento descrito anteriormente na extracção de tecidos de oliveira dopada com AIB e AIA, verificámos ser a separação e quantificação de auxinas possível.

Dos extractantes usados a acetona mostrou ser o melhor na extracção das amostras dado estas se encontrarem suficientemente limpas para serem analisadas por RP-HPLC/UV. Taxas de recuperação superiores a 80% foram obtidas com os padrões.

Referências

- Souza, B.M. et al., *Plant Physiol. and Biochem.* 41 (2003) 733-739.
Y. Mori, T. Takeshi, T. Koshiba. 2005., *Plant Science* 168 (2005) 467-473.
Zin-Huang Liu, et al., *Bot. Bull. Acad. Sin.* 37 (1996) 247-253.