

ESTABELECIMENTO *IN VITRO* DE PINHÃO-MANSO. 2 - CONCENTRAÇÕES DE CARVÃO ATIVADO

Lorena Pastorini Donini (Embrapa Clima Temperado, lorenadonini@yahoo.com.br), Leonardo Ferreira Dutra (Embrapa Clima Temperado, leonardo.dutra@cpact.embrapa.br), Sérgio Delmar dos Anjos e Silva (Embrapa Clima Temperado, sergio.anjos@cpact.embrapa.br), Natália Dias Gomes da Silva (Embrapa Clima Temperado, nataliadiasgomes@hotmail.com); Fernanda Beatriz Thiel (Embrapa Clima Temperado, fernandathiel@yahoo.com.br).

Palavras Chave: *Jatropha curcas* L., micropropagação, biodiesel.

1 - INTRODUÇÃO

O pinhão manso também é conhecido como pinhão-paraguaio, pinhão-de-purga, pinhão-de-cerca, purgante-de-cavalo, tempate, physic nut e outros. Botanicamente, o pinhão manso pertence à família Euphorbiaceae (Barroso, 1991).

Esta espécie pode ser propagada por sementes ou estacas. A propagação seminífera, embora possa gerar indivíduos mais vigorosos e de maior longevidade, proporciona variabilidade genética e desuniformidade do cultivo (Nunes, 2007). Já para a estaquia a literatura indica que o tipo de estacas em relação à sua posição no ramo de origem pode interferir no desenvolvimento das raízes, afetando o desenvolvimento da planta (Ávila, 2010). Os trabalhos com propagação desta espécie ainda encontram-se em fase de estudos, e neste contexto, a cultura de tecidos, por meio da micropropagação, poder auxiliar a elucidar certos aspectos da propagação, devido às grandes vantagens que esta técnica proporciona para uma infinidade de espécies.

O cultivo de meristemas tem sido muito utilizado na propagação em vista da rapidez com que se obtém a multiplicação de diversas espécies e da estabilidade genética intrínseca às células do meristema (Schuch e Erig, 2005).

Após a escolha do tipo de explante a ser utilizado, a próxima etapa é estabelecer as condições de desenvolvimento desta cultura. Os meios nutritivos utilizados para a cultura de células, tecidos e órgãos de plantas fornecem as substâncias essenciais para o crescimento dos tecidos e controlam, em grande parte, o padrão de desenvolvimento *in vitro* (Grattapaglia & Machado, 1998).

O carvão ativado é comumente utilizado em meios nutritivos com diferentes funções que vão desde o estímulo ao enraizamento, diminuição das intoxicações de culturas pelos fenóis oxidados que são produzidos pelos próprios tecidos, e também pela adsorção de substâncias tóxicas presentes no meio (Caldas et al., 1998).

As informações quanto à micropropagação desta espécie ainda são escassas e não conclusivas, ainda que existam alguns protocolos de organogênese, embriogênese e de regeneração disponíveis na literatura. Assim, este trabalho teve como objetivo avaliar o desenvolvimento *in vitro* meristemas em meio de cultura com diferentes concentrações de carvão ativado.

2 - MATERIAL E MÉTODOS

O material vegetal utilizado foi retirado de plantas matrizes com 6 meses de idade, obtidas por meio de estacas

e mantidas em estufa plástica, tratadas previamente com fungicida (1ml.L⁻¹ de folicur) e bactericida (2,4g.L⁻¹ de agrimicina).

Segmentos nodais de aproximadamente 1,5 cm foram desinfestados com imersão em álcool 70% por um minuto e em solução de hipoclorito de sódio (1%) por 10 minutos, seguido de tríplex lavagem em água destilada esterilizada. Após a desinfestação, os meristemas foram retirados sob lupa estereoscópica e foram inoculados em tubos de ensaio (20x150 mm) contendo 10 mL meio de cultura MS (Murashige & Skoog, 1962) + 0,1 mg.L⁻¹ GA₃ + 1 mg.L⁻¹ BAP + 0,01 mg.L⁻¹ ANA, adicionado de diferentes concentrações de carvão ativado (0; 0,6; 0,8; 1; 1,5; 2 g.L⁻¹). O pH foi ajustado para 6,2 após a inclusão do ágar (0,75%) e o meio foi autoclavado a 121°C e 1,5 atm por 20 minutos.

Os meristemas foram mantidos em sala de crescimento (25±2°C) por 3 dias no escuro e então transferidos para luz sob fotoperíodo de 16 horas e densidade de fluxo de fótons de 27 μmol m⁻² s⁻¹. Aos 15, 30 e 45 dias o material foi avaliado quanto à porcentagem de contaminação fúngica, bacteriana e oxidação. Em relação ao seu desenvolvimento, foram atribuídas notas quanto ao desenvolvimento observado no explante (0= explante morto ou oxidado, 1= explantes sem modificações, 2= explantes com primórdios foliares, 3= explantes com primeiras folhas se expandindo, 4= explantes com 1 a 2 folhas abertas e 5= explante com 3 ou mais folhas abertas). Os dados foram submetidos à análise de variância, com auxílio do programa Sisvar (Ferreira, 2000) e as médias comparadas pelo teste de Tukey.

3 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

Houve diferenças significativas para porcentagem de calos e desenvolvimento aos 15, 30 e 45 dias. Não houve formação de calos quando o carvão ativado foi adicionado ao meio de cultura. Isso pode ter ocorrido pelo fato de que, ao adicionar carvão ativo ao meio de cultura, os nutrientes são disponibilizados mais lentamente ao explante, não permitindo que houvesse formação de calos antes de seu desenvolvimento (Tabela 1).

Com relação ao desenvolvimento dos meristemas, o comportamento observado foi o mesmo para 15, 30 e 45 dias, havendo melhor desenvolvimento dos meristemas em meio contendo 1,5 g.L⁻¹ de carvão ativo, ou sem a adição do mesmo (Tabela 1). Também pode ser observado que, a adição da maior concentração utilizada de carvão ativado (2 g.L⁻¹) proporcionou desenvolvimento mais lento do meristema, e isso se deve ao fato de que quanto maior a concentração de carvão no meio, mais

lentamente os nutrientes vão estar disponíveis ao explante em estabelecimento.

Tabela 1: Porcentagem de calos e desenvolvimento de meristemas de pinhão-manso aos 30 e 45 dias de cultivo em meio com diferentes concentrações de carvão ativado. Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS, 2011.

Carvão ativado (g.L ⁻¹)	Calos (%)	15 dias	30 dias	45 dias
0	65,00 a	3,61 a	4,50 a	4,48 a
0,6	0,00 b	2,00 b	3,29 b	3,56 b
0,8	0,00 b	2,43 b	3,56 b	4,05a
1	0,00 b	2,38 b	3,15 b	3,45 b
1,5	0,00 b	3,52 a	4,43 a	4,82 a
2	0,00 b	2,33 b	2,33 b	2,82 b

Médias seguidas de mesma letra nas linhas, não diferem pelo teste de Scott Knott ao nível de 5% de probabilidade.

Na Figura 1 pode ser observado o desenvolvimento dos meristemas de pinhão-manso, aos 45 dias de incubação nos meios com diferentes concentrações de carvão ativado.

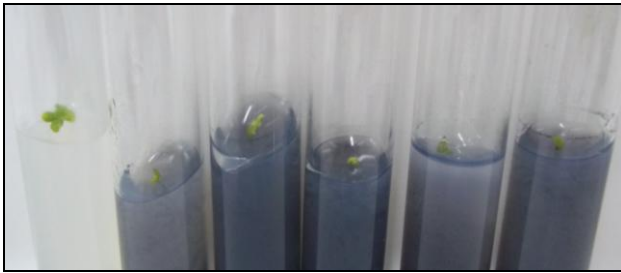


Figura 1. Meristemas de pinhão manso estabelecidos em meio MS com diferentes concentrações de carvão ativado (0; 0,6; 0,8; 1; 1,5; 2 g.L⁻¹), respectivamente. Foto: Lorena Pastorini Donini

4 - CONCLUSÕES

A adição de 1,5 g.L⁻¹ de carvão ativado ao meio de estabelecimento de meristemas de pinhão-manso proporcionou melhores resultados, visto que o meio sem adição do mesmo propiciou o desenvolvimento de calos.

5 - AGRADECIMENTOS

A FINEP e CNPq pelo financiamento da pesquisa.

6 - REFERÊNCIAS

- ¹ÁVILA, T.T. **Caracterização de acessos, produção de mudas e poda de pinhão-manso (*Jatropha curcas* L.)**. 2010. 98f. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.
- ²BARROSO, G. M. **Sistemática de angiospermas do Brasil**. Viçosa: UFV, 1991. v.3, 326p.
- ³CALDAS, L.S.; HARIDASAN, P.; FERREIRA, M. E. Meios nutritivos. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: Embrapa-SPI/Embrapa-CNPq, 1998, p. 87-131.

⁴FERREIRA, D.F. Análise estatística por meio do SISVAR (Sistema para Análise de Variância) para Windows versão 4.0. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45., 2000, São Carlos. **Anais...** São Carlos: UFSCar, 2000. p.255-258.

⁵GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: Embrapa-SPI/Embrapa-CNPq, 1998, p. 183-260.

⁶MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, v. 15, p. 473-497, 1962.

⁷NUNES, C.F. **Caracterização de frutos, sementes e plântulas e cultivo de embriões de pinhão-manso (*Jatropha curcas* L.)**. 2007. 89f. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Lavras, Lavras.

⁸SCHUCH, M.W; ERIG. A.C. Micropropagação de plantas frutíferas. In: FACHINELLO, J.C.; HOFFMANN, A.; NACHTIGAL, J.C. (Ed.) **Propagação de plantas frutíferas**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2005. p.155-173.