



simpósio estadual de AGROENERGIA

IV reunião técnica de agroenergia - RS

INDUÇÃO DE ORGANOGÊNESE DIRETA EM PINHÃO-MANSO

Kerlley Cristina de Assis Mayer¹, Fernanda Medeiros Zacarias², Lorena Pastorini Donini³, Mariana da Luz Potes⁴, Leonardo Ferreira Dutra⁵; Sérgio Delmar dos Anjos e Silva⁶

INTRODUÇÃO

O pinhão-manso (*Jatropha curcas* L.) pertence à família Euphorbiaceae e pode ser propagado por sementes ou estacas (ÁVILA, 2010). A propagação seminífera tem como vantagem gerar indivíduos mais vigorosos e de maior longevidade, é uma cultura que possui grande potencial de rendimento de grãos e óleos (cerca de 40%), no entanto possui como desvantagens, a variabilidade genética e desuniformidade do cultivo (NUNES, 2007; NUNES, 2010).

Os trabalhos com propagação desta espécie ainda encontram-se em fase inicial, embora existam alguns protocolos de organogênese, embriogênese e de regeneração disponíveis na literatura (DONINI et al., 2011). Neste contexto, a micropropagação pode ser uma alternativa para a propagação vegetativa desta espécie, pois garante a produção de mudas geneticamente idênticas, dando origem a um material de alta qualidade sanitária (GRATTAPAGLIA; MACHADO, 1998).

O processo de organogênese in vitro é complexo, com interação de múltiplos fatores externos e internos (ALVES et al., 2004), ocorrendo mediante a desdiferenciação e rediferenciação celular, dependendo da retomada da atividade meristemática em células maduras diferenciadas ou em um tecido calogênico desorganizado. Esse processo depende também da ação de fitorreguladores, em particular auxinas e citocininas, e da habilidade do tecido em responder a essas mudanças hormonais durante o período de cultivo (SUGIYAMA, 1999).

O objetivo do trabalho foi avaliar a resposta de folhas e pecíolos de pinhão-manso, quando induzidos à organogênese mediante a ação de diferentes fitorreguladores.

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 (1 ml L⁻¹ de folicur) e bactericida (2,4 g L⁻¹ de agrimicina).

¹ Msc. Bolsista de Desenvolvimento Tecnológico Industrial do CNPq - Nível 3. E-mail: kerlleyca@hotmail.com

² Acadêmica do Curso de Gestão Ambiental/ UFPel. E-mail: fernanda_zacarias@hotmail.com

³ Dr^a. Bolsista de Desenvolvimento Tecnológico Industrial do CNPq - Nível 1. E-mail: lorenadonini@yahoo.com.br

⁴ Msc. Bolsista de Desenvolvimento Tecnológico Industrial do CNPq - Nível 2. E-mail: marianapotes@yahoo.com.br

⁵ Eng. Agr. Dr. Pesquisador Embrapa Clima Temperado. E-mail: leonardo.dutra@cpact.embrapa.br





simpósio estadual de AGROENERGIA

IV reunião técnica de agroenergia - RS

Os explantes foram desinfestados com imersão em álcool 70% por um minuto e em solução de hipoclorito de sódio (1%) por 10 minutos, seguido de tríplice lavagem em água destilada esterilizada. Posteriormente à desinfestação foram realizados dois experimentos:

Experimento 1: Concentrações de TDZ (Thidiazuron)

Explantes foliares de 1cm³ e pecíolos de 1 cm de comprimento foram inoculados em tubos de ensaio (20x150 mm) contendo 10 mL meio de cultura MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962) adicionado de TDZ nas concentrações de 0,25; 0,50; 1 e 2 mg L⁻¹. O tratamento testemunha constou de meio MS sem adição do fitorregulador. O pH do meio de cultura foi ajustado para 6,2 e os tubos foram autoclavados a 121°C e 1,5 atm por 20 minutos. A quantidade de ágar utilizada foi de 7,5 g L⁻¹.

Os tubos contendo os explantes foram mantidos em sala de crescimento (25±2°C) com fotoperíodo de 16 horas e densidade de fluxo de fótons de 27 μmol m⁻² s⁻¹. Aos 7, 14, 21 e 28 dias após a inoculação o material foi avaliado quanto à contaminação fúngica, bacteriana e oxidação. Em relação ao seu desenvolvimento, foram atribuídas notas (0= explante morto, 1= explante sem modificações, 2= explante com bordas onduladas 3= formação de calos, 4= início de regeneração, 5= regeneração de partes aéreas).

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com 3 repetições contendo 5 explantes cada uma. Os dados foram submetidos à análise de variância, com auxílio do software Sisvar (FERREIRA, 2003) e as médias comparadas pelo teste de Tukey.

Experimento 2: Combinações de BAP (Benzilaminopurina) e AIB (Ácido Indolbutírico)

Explantes foliares de 1cm³ e pecíolos de 1 cm de comprimento foram inoculados em tubos de ensaio (20x150 mm) contendo 10 mL meio de cultura MS adicionado de combinações de BAP e AIB (0,5 mg L⁻¹ BAP + 1 mg L⁻¹ AIB; 1 mg L⁻¹ BAP + 0,5 mg L⁻¹ AIB; 0,5 mg L⁻¹ BAP + 0,5 mg L⁻¹ AIB; 1 mg L⁻¹ BAP + 1 mg L⁻¹ AIB; 2 mg L⁻¹ BAP + 2 mg L⁻¹ AIB).

Além do meio de cultura, a incubação dos tubos, as avaliações, o delineamento experimental e a análise dos dados foram idênticos aos do experimento 1.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Experimento 1

Para porcentagem média de explantes oxidados houve diferença significativa para os fatores isolados. Observou-se menor oxidação nos meios com adição de TDZ, já para tipo de explante a menor porcentagem foi observada em folhas (Tabela 1).



simpósio estadual de AGROENERGIA

IV reunião técnica de agroenergia - RS

Tabela 1. Porcentagem média de explantes oxidados, cultivados em meio com diferentes concentrações de TDZ e fontes de explante. Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS, 2012.

Concentrações de TDZ (mg L ⁻¹)	Oxidação (%)
0,00	86,66 a
0,25	36,66 bc
0,50	26,66 bc
1,00	13,33 c
2,00	50,00 b
Tipo de explante	
Folha	34,66 b
Pecíolo	50,66 a

* Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). C.V. = 38,56

Foram observadas diferenças para o desenvolvimento dos explantes aos 28 dias (Tabela 2). Os tratamentos onde se utilizou concentrações de TDZ foram os que tiveram melhor desenvolvimento, sem diferirem entre si.

Quanto às contaminações fúngicas foram observadas porcentagens médias de 7,33%, no entanto, não ocorreram contaminações bacterianas.

Tabela 2. Desenvolvimento de explantes aos 28 dias, em meio com diferentes concentrações de TDZ. Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS, 2012.

Concentrações de TDZ (mg L ⁻¹)	Desenvolvimento
0,00	0,13 b
0,25	1,20 a
0,50	1,13 a
1,00	1,63 a
2,00	1,03 a

* Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). C.V. = 26,02

Experimento 2

Observou diferença significativa apenas para tipo de explante. Os pecíolos obtiveram menor porcentagem média de oxidação e um melhor desenvolvimento aos 28 dias (Tabela 3). As contaminações fúngicas e bacterianas foram de 6,66 e 0,66%, respectivamente. O desenvolvimento dos explantes não passou da fase de bordas onduladas, e isso se deve provavelmente ao período curto de avaliação, apenas 28 dias, o qual deverá ser estendido em novos experimentos.

Tabela 3. Porcentagem média de explantes oxidados e desenvolvimento de explantes aos 28 dias, para diferentes tipos de explante. Embrapa Clima Temperado. Pelotas. RS. 2012.



simpósio estadual de AGROENERGIA

IV reunião técnica de agroenergia - RS

Tipo de explante	Oxidação(%)	Desenvolvimento
Folha	68,00 a	0,38 b
Pecíolo	13,33 b	1,54 a

* Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). C.V. oxidação= 36,53; C.V. desenvolvimento= 29,01

CONCLUSÕES

Os fitorreguladores e as combinações testadas não são eficientes para a organogênese direta de pinhão-manso. Explantes oriundos de pecíolo proporcionam melhor desenvolvimento aos 28 dias.

AGRADECIMENTOS

A FINEP, CNPq e PETROBRAS pelo financiamento da pesquisa.

REFERÊNCIAS

- ALVES, E.C.S. de C.; XAVIER, A.; OTONI, W.C. Organogênese de explante foliar de clones de *Eucalyptus grandis* x *E. urophylla*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.39, n.5, p.421-430, 2004.
- ÁVILA, 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.
- DONINI, L.P.; DUTRA, L.F.; SILVA, S.D.A.; SILVA, N.D.G.; THIEL, F.B. **Estabelecimento in vitro de pinhão-manso. 2 - Concentrações de carvão ativado**. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISA EM PINHÃO-MANSO, 2011, Brasília. Anais. Brasília: Embrapa, 2011. v. 1CD.
- FERREIRA, D. F. **SISVAR** - versão 4,3. DEX/UFLA - Lavras, MG, 2003.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassay with tabacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, v. 15, p. 473-497, 1962.
- NUNES, C. F. **Organogênese e características morfoanatômicas de pinhão-manso (*Jatropha curcas* L.)**. 2010. 113f. Tese (Doutorado em Fitotecnia), Universidade Federal de Lavras, Lavras.
- SUGIYAMA, M. Organogenesis in vitro. **Current Opinion in Plant Biology**, v.2, p.61-64, 1999.