



INFLUENCIA DE BAP E ANA NA FORMAÇÃO DE CALOS DE *Jatropha curcas* L.

Wesley Machado¹, Andréa Almeida Carneiro² e Gracielle Teodora da Costa Pinto Coelho³

¹Agrônomo, Pós-graduando em Biotecnologia, FEAD, E-mail: w.machado@yahoo.com.br; ²Bióloga, PhD, EMBRAPA, E-mail: aandrea@cnpmc.embrapa.br; ³Bióloga, Dra, FEAD/FASC, E-mail: gracielle.costa@gmail.com

RESUMO – O pinhão manso (*Jatropha curcas* L.) possui altos teores de óleo nas sementes, em torno de 30% com base na matéria seca. Entretanto, apresenta produção de sementes bastante irregular entre os indivíduos. O cultivo *in vitro* de explantes de pinhão manso é a base para a obtenção de genótipos desejáveis. Desta forma, buscou-se produzir calos regeneráveis de pinhão manso, visando à produção clones altamente produtivos. Explantes oriundos de embriões germinados *in vitro* foram inoculados em meio nutritivo de Murashige e Skoog, 1962, suplementado com os reguladores de crescimento BAP (6-benzilaminopurina) e ANA (ácido naftaleno acético), em diferentes concentrações combinados em 25 tratamentos. Os resultados indicaram que a adição do BAP e ANA induz a formação de calos.

Palavras-chave – *Jatropha curcas* L., Calogênese, BAP e ANA

INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, com os problemas ambientais cada vez mais crescentes, a busca para soluções ecologicamente menos agressivas tem sido evidente, uma delas é a utilização de combustíveis menos poluentes. Dentre estes, destaca-se o biodiesel, combustível derivado de biomassa renovável e que pode substituir parcial ou totalmente combustíveis de origem fóssil. De grande importância, uma vez que o emprego deste tipo de combustível evitaria o desequilíbrio da ciclagem do carbono (ODUM, 1988). A produção de biodiesel vem crescendo rapidamente no Brasil (GLOBO RURAL, 2006). Dentre as fontes de biodiesel destaca-se o pinhão manso (*Jatropha curcas* L.). Isto se dá pelo alto teor em óleo na semente, podendo superar 30% de sua massa seca e por sua persistência no cultivo que chega a mais de 40 anos durante seu ciclo produtivo, sua produtividade média é de 2 ton/ha (AZEVEDO, 2006; CHAVES et al., 2009). Como é uma espécie perene, esta contribui positivamente para a conservação do solo e sua microfauna e reduzindo o custo de produção, importante fator econômico, especialmente na agricultura familiar, de famílias com baixa renda, uma vez que segundo Nunes (2007) a planta pode apresentar várias propriedades desejáveis em relação a





outras plantas como bom crescimento em solos de baixa fertilidade e com alto teor de cascalho e areia. Além de apresentar robustez, larga tolerância ambiental, adaptação a vários tipos de solos improdutivos (CHAVES et al., 2009)

A propagação do pinhão manso é viável por sementes e estacas, mas apresentam irregularidades produtivas (Nunes, 2007). Parte disto se dá pela maturação desuniforme dos frutos que pode ser influenciada pela sazonalidade do período chuvoso, pela ação prolongada dos ventos na época da floração.

Para superar esse problema sugere-se a propagação *in vitro*. Segundo Souza et al. (2006) um pequeno número de explantes podem regenerar milhares de plantas. Os clones regenerados são idênticos ou superiores fenotipicamente a planta matriz, requerendo curto período de tempo para produção, reduzido espaço físico de produção e constitui uma porta para eliminar patógenos, entre outros.

Para desenvolver o cultivo *in vitro* do pinhão manso, é necessário verificar o melhor protocolo de cultivo, bem como as concentrações hormonais a fim de se obter indivíduos superiores e que apresentem bom rendimento no campo. O presente trabalho tem como objetivo principal desenvolver o cultivo *in vitro* do pinhão manso através da produção de calos.

METODOLOGIA

O presente trabalho foi desenvolvido em Belo Horizonte, no laboratório de cultura de tecidos, LabBiotec FEAD . Os explantes com de 2cm, foram retirados de folhas cotiledonares de plântulas germinadas *in vitro*, e inoculados em meio MS suplementado com diferentes concentrações dos reguladores de crescimento ANA e BAP, de acordo com o quadro 1, objetivando a obtenção de calos.

O experimento totalizou 25 diferentes tratamentos com 5 repetições e 5 explante em cada repetição, totalizando 125 frascos e 625 calos formados.

Estes explantes permaneceram neste meio durante 45 dias sem subcultivo, foram realizadas avaliações semanais, a cada 7 dias, iniciando no 14^o dia de cultivo no meio suplementado com ANA X BAP, totalizaram 4 observações.

Os calos foram avaliados de acordo com o a sua morfologia, textura e taxa de crescimento.





Durante todo o processo os explantes e calos formados foram mantidos e sala de crescimento com temperatura $25\pm 2^{\circ}\text{C}$, umidade relativa em torno de 70%, irradiação de $30\ \mu\text{mol m}^{-2}\ \text{s}^{-1}$ e fotoperíodo de 16 horas.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O cultivo *in vitro* apresenta altas taxas de multiplicação, minimização da demanda de espaço físico, ausência de pragas e doenças durante o cultivo *in vitro*, se apresentando como uma técnica segura, pelo controle de todos os fatores envolvidos (Higashi et al. 2002; Andrade et al. 2006).

Apesar de a propagação do pinhão manso ser viável por sementes e estacas, estas apresentam grandes irregularidades produtivas (NUNES, 2007). O cultivo *in vitro* é recomendado por não apresentar este tipo de problemas além de reunir características como multiplicação rápida de plantas selecionadas, obtenção de mudas livres de patógenos, conservação e transporte de germoplasma de interesse, sendo um aliado ao melhoramento genético convencional. Um pequeno número de explantes pode regenerar milhares de plantas. Os clones regenerados são idênticos ou superiores fenotipicamente a planta matriz, requerendo curto período de tempo para produção, reduzido espaço físico de produção e constitui uma porta para eliminar patógenos, entre outros. Apesar da importância da espécie ainda pouco se sabe sobre estes protocolos aplicados ao pinhão manso.

Assim sendo, dos 25 diferentes tratamentos testados, todos foram capazes de induzir a formação de calos no pinhão manso, indiferente da concentração e do balanço de reguladores de crescimento presente no meio. Entretanto, nem todos os calos formados foram do tipo friável.

Estes resultados demonstram que esta espécie se mostra promissora para o cultivo *in vitro* e para o desenvolvimento de protocolo para formação de calos embriogênicos do tipo II, que posteriormente poderiam ser aplicados em processos biotecnológicos para obtenção de linhagens superiores altamente produtivas.

Resultados similares foram também observados por Barboza et al. (2007), trabalhando também com pinhão manso em concentrações de BAP e ANA similares ao utilizados neste experimento.

Fatores como o balanceamento entre os reguladores de crescimento BAP e ANA podem influenciar diretamente a formação dos calos, parte aérea e radicular de acordo com o balanço dos mesmos no meio de cultura além de impedir o desenvolvimento e até mesmo levar o explante a morte.





O desenvolvimento de formação radicular foi observado no tratamento A, onde o balanço dos reguladores de crescimento era 0, neste caso os explantes foram capazes de formar raiz apenas em MS, vale ressaltar ainda que em todos os explante que apresentaram esta formação, a mesma originou-se da nervura central presente no explante inicial, resultado justificável, uma vez que esta área apresenta maior capacidade de regeneração de partes aérea e raiz, pela presença de células altamente desdiferenciáveis.

A formação de calos friáveis, a morfologia dos mesmos e seu desenvolvimento e textura, bem como a taxa de crescimento, podem ser observado na Figura 1.

CONCLUSÃO

A utilização de reguladores de crescimento foi satisfatória para a indução de calos.

As melhores concentrações de ANA e BAP para a formação de calos friáveis são as combinações E,F,G,H,I,J,L,N,Q,R,S,T,V,W,X,Y.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Andrade, W.F.; Almeida, M.; Gonçalves, A.N. Multiplicação *in vitro* de *Eucalyptus grandis* sob estímulo com benzilaminopurina.. Pesquisa Agropecuária Brasileira. 41(12): 1715-1719; 2006

Azevedo, H., 2006. "Pinhão manso é lançado pelo presidente Lula como opção para o biodiesel – Vegetal é de fácil cultivo". *Hoje em Dia*, 8 a 14/01/2006, Brasília-DF.

BARBOZA, S. B. S. C.; SANTANA, M. C. dos S.; SOUSA, J. A.; LÉDO, A. S.; MELO, M. B. Indução de calogênese "in vitro" em explantes de pinhão manso. Aracajú, EMBRAPA Tabuleiros Costeiros, 2007, Anais.

CHAVES, L.H.G.,CUNHA, T.H.C.S., BARROS JUNIOR, G., LACERDA, R.D., DANTAS JUNIOR, E.E. Zinco e Cobre em Pinhao Manso. I. Crescimento Inicial da Cultura. Revista Caatinga. Caatinga (Mossoró,Brasil), v.22, n3, p 94-99, julho/setembro 2009

Gerpen, J.V., 2005. Biodiesel processing and production. Fuel Processing Technology, 86, 1097-1107.



GLOBO RURAL. Biodiesel o petróleo verde, novembro 2006. 40-48p.

Higashi, E.N.; Silveira, R.L.A. de; Gonçalves, A.N. Nutrição e adubação em minijardim clonal hidropônico de *Eucalyptus*. Piracicaba: IPEF (IPEF. Circular técnica, 194). p 21; 2002

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, Copenhagen, v. 15, n. 6, p. 473-479, June 1962.

NOGUEIRA, R. C.; PAIVA, R.; OLIVEIRA, L. M. de; SOARES, G. A.; SOARES, F. P.; CASTRO, A. H. F.; PAIVA, P. D. de O. Indução de calos em explantes foliares de Murici-pequeno (*Byrsonima intermedia* A. Juss.). *Ciênc. agrotec.*v.31 n.2 Lavras mar./abr. 2007

NUNES, C. F. Caracterização de frutos, sementes e plântulas e cultivo de embriões de pinhão manso (*Jatropha curcas* L.), Dissertação (Mestrado), UFLA, 2007, 78p.

Odum, E.P. *Ecologia*. Rio de Janeiro: Ed. Guanabara Koogan, 1988. 434.

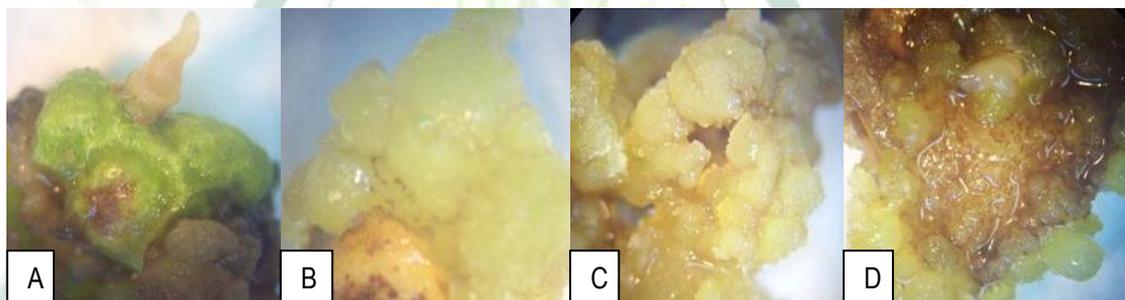


Figura1: Formação de calos de pinhão manso com 45 dias de subcultivo suplementados com diferentes concentrações de ANA e BAP em meio MS. A- meio A sem suplementação, B- meio F 0,5 mg l⁻¹ ANA e 0 mg l⁻¹ BAP, C- meio H 0,5 mg l⁻¹ ANA e 1 mg l⁻¹ BAP, D- meio W 2 mg l⁻¹ ANA e 1 mg l⁻¹ BAP.



Quadro 1. Combinação dos Reguladores de Crescimento.

BAP \ ANA	0,0	0,5	1,0	1,5	2,0
0,0	A	B	C	D	E
0,5	F	G	H	I	J
1,0	K	L	M	N	O
1,5	P	Q	R	S	T
2,0	U	V	W	X	Y

