

## ESTABELECIMENTO IN VITRO DE PINHÃO-MANSO. 4 – CONCENTRAÇÕES DE CITOCININAS

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

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

### 1 - INTRODUÇÃO

O pinhão manso (*Jatropha curcas* L.) pertence à família Euphorbiaceae e pode ser propagada por sementes ou estacas. Alguns trabalhos indicam 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). A propagação seminífera tem como vantagem gerar indivíduos mais vigorosos e de maior longevidade, todavia, tem como desvantagens, a variabilidade genética e desuniformidade do cultivo (Nunes, 2007; Nunes, 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, poderia ser útil, auxiliando a elucidar certos aspectos da propagação, devido às grandes vantagens que esta técnica proporciona para uma infinidade de espécies.

Por meio da propagação *in vitro* é possível propagar espécies de difícil multiplicação pelos métodos clássicos e, ainda obter mudas saudáveis, livres de vírus e outros patógenos, produzindo assim um material de alta qualidade genética e sanitária (Grattapaglia & Machado, 1998).

As informações sobre o desenvolvimento *in vitro* desta espécie através da técnica de cultura de tecidos são escassas (e não tratam de clonagem). Devido a essa falta de informações sobre a técnica de micropropagação em pinhão-manso e obtenção de clones, este trabalho teve como objetivo avaliar o estabelecimento e o desenvolvimento *in vitro* de explante nodal de pinhão-manso em meios de cultura com diferentes citocininas e concentrações, visando obtenção de maior número de brotações.

### 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<sup>-1</sup> de folicur) e bactericida (2,4g.L<sup>-1</sup> de agrimicina).

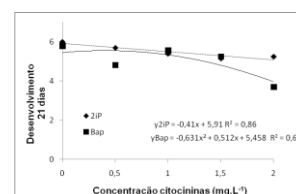
Segmentos nodais de aproximadamente 1,5 cm foram desinfestados com imersão em álcool 70% por um minuto, em solução de hipoclorito de sódio (1%) por 10 minutos, seguido de tríplice lavagem em água destilada esterilizada. Posteriormente foram inoculados em tubos de ensaio (20x150 mm) contendo 10 mL meio de cultura MS (Murashige & Skoog, 1962) e adicionado de diferentes citocininas (BAP e 2iP) e suas concentrações (0; 0,5; 1; 1,5 e 2mg.L<sup>-1</sup>). O pH foi ajustado para 6,2 após a adição do

água (0,75%) e o meio foi autoclavado a 121°C e 1,5 atm por 20 minutos.

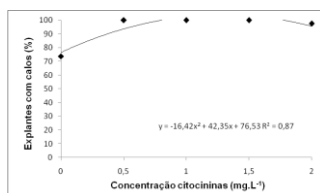
Os explantes foram mantidos em sala de crescimento (25±2°C) por 7 dias no escuro e após esse período, foram transferidos para condições de luz, fotoperíodo de 16 horas e densidade de fluxo de fótons de 27 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>. Aos 7, 14 e 21 dias após a inoculação o material foi avaliado quanto à porcentagem de contaminação fúngica, bacteriana, oxidação. Em relação ao seu desenvolvimento, foram atribuídas notas quanto ao desenvolvimento observado no explante (0= explante morto, 1= explantes sem modificações, 2= explantes com gema inchada, 3= explantes com primórdios foliares, 4= explantes com primeiras folhas se expandindo, 5= explantes com 1 a 2 folhas abertas e 6= explante com 3 ou mais folhas abertas). Aos 28 dias avaliaram-se a porcentagem de explantes sobreviventes, porcentagem de explantes estabelecidos, número de brotações por explante, número de folhas por explantes, altura de explante, porcentagem de explantes que apresentavam folhas amareladas e senescência destas e porcentagem de explantes que apresentavam calos. Os dados foram submetidos a análise de variância, analisados no programa Sisvar (Ferreira, 2000) e as médias comparadas pelo teste de Tukey e regressão polinomial.

### 3 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

Houve diferença significativa para desenvolvimento aos 21 dias e altura de brotação, e para porcentagem de explantes com folhas com senescência e calos. Pode-se observar que o aumento da concentração de citocinina proporcionou redução no desenvolvimento dos explantes (Figura 1). Isso se deve ao fato de que com a adição de citocinina, independente do tipo e da concentração houve grande formação de calos (Figura 2).

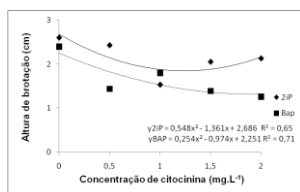


**Figura 1.** Desenvolvimento de segmentos nodais de pinhão-manso estabelecidos em meio com BAP com diferentes concentrações (0; 0,5; 1; 1,5 e 2mg.L<sup>-1</sup>), aos 21 dias.



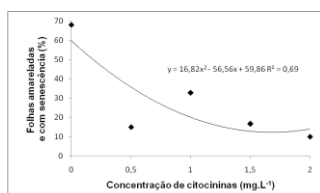
**Figura 2.** Porcentagem de calos em segmentos nodais estabelecidos em meio com BAP com diferentes concentrações (0; 0,5; 1; 1,5 e 2mg.L<sup>-1</sup>), aos 28 dias.

Nos meios em que houve adição de citocinina pode-se observar que as brotações tiveram menor altura, sendo o tratamento sem adição (controle) o que proporcionou maiores médias (Figura 3).



**Figura 3.** Altura de brotação (cm) em segmentos nodais estabelecidos em meio com BAP com diferentes concentrações (0; 0,5; 1; 1,5 e 2mg.L<sup>-1</sup>), aos 28 dias.

Durante o desenvolvimento do experimento foi observado folhas amareladas e com senescência após o estabelecimento, sendo que a adição de citocinina proporcionou menores médias de porcentagem de queda das folhas (Figura 4).



**Figura 4.** Segmentos nodais de pinhão manso estabelecidos em meio com BAP em diferentes concentrações (0; 0,5; 1; 1,5 e 2mg.L<sup>-1</sup>).

Nas Figuras 5 e 6 pode ser observado o desenvolvimento dos segmentos nodais de pinhão-manso, aos 28 dias de incubação nos meios com diferentes citocininas e concentrações.



**Figura 5.** Segmentos nodais de pinhão manso estabelecidos em meio com BAP em diferentes concentrações (0; 0,5; 1; 1,5 e 2mg.L<sup>-1</sup>). Foto: Lorena Pastorini Donini



**Figura 6.** Segmentos nodais de pinhão manso estabelecidos em meio com 2iP em diferentes concentrações (0; 0,5; 1; 1,5 e 2mg.L<sup>-1</sup>). Foto: Lorena Pastorini Donini

#### 4 - CONCLUSÕES

A adição das citocininas ao meio de cultura não promoveu resultados satisfatórios para a maioria das variáveis analisadas.

#### 5 - AGRADECIMENTOS

A FINEP e CNPq pelo financiamento da pesquisa.

#### 6 - REFERÊNCIAS

- <sup>1</sup>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.
- <sup>2</sup>FERREIRA, 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.
- <sup>3</sup>GRATTAPAGLIA, 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.
- <sup>4</sup>MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, v. 15, p. 473-497, 1962.
- <sup>5</sup>NUNES, 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.
- <sup>6</sup>NUNES, C.F. **Organogênese e características morfoanatômicas de pinhão-manso (*Jatropha curcas* L.)**. 2010. 113f. Tese de Doutorado, Universidade Federal de Lavras, Lavras.