

ESTABELECIMENTO IN VITRO DE PINHÃO-MANSO. 1 - MEIO DE CULTURA E CONCENTRAÇÕES DOS SAIS

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 (*Jatropha curcas*) pertence à família Euphorbiaceae e pode ser propagada por sementes ou estacas. 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). Existem alguns trabalhos na literatura com o enraizamento e brotação de estacas desta espécie que 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 in vitro possibilita a obtenção de mudas sadias, livres de vírus e outros patógenos, produzindo assim um material de alta qualidade genética e sanitária (Grattapaglia & Machado, 1998). A escolha do explante apropriado constitui o primeiro passo quando a finalidade da micropropagação é a clonagem de genótipos superiores visando a produção de mudas, onde utilizam-se como explantes segmentos nodais contendo gemas apicais ou axilares (Schuch e Erig, 2005).

Apesar de todos estes protocolos disponíveis na literatura de regeneração, organogênese e embriogênese, quando se refere à micropropagação desta espécie, as informações ainda são escassas e não conclusivas. Assim, este trabalho teve como objetivo avaliar o estabelecimento e o desenvolvimento in vitro de explante nodal e de meristema de pinhão-manso em diferentes meios de cultura e concentração de sais.

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). Posteriormente, foram realizados dois experimentos.

Experimento 1: Estabelecimento de segmentos nodais

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) ou WPM (Lloyd & McCown, 1980), com diferentes concentrações de sais (25, 50, 75 e 100%). O pH (6,2) foi ajustado após a adição do ágar (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⁻² s⁻¹. 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.

Experimento 2: Estabelecimento de meristemas

Foram realizados os mesmos procedimentos de desinfestação descritos no experimento anterior. Após a desinfestação, os meristemas foram excisados com auxílio de lupa estereoscópica e inoculados nos meios descritos no experimento 1. Posteriormente, os meristemas foram mantidos em sala de crescimento a 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, 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, analisados no programa Sisvar (Ferreira, 2000) e as médias comparadas pelo teste de Tukey e regressão polinomial.

3 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

Experimento 1: Estabelecimento de segmentos nodais

Houve diferença significativa para as porcentagens de contaminação fúngica e de explantes sobreviventes e para altura média de brotação por explante estabelecido. Na Figura 1, pode-se observar que houve menor contaminação em meio MS, independente da concentração dos sais, e que

maior taxa de explantes sobreviventes foi obtida quando se utilizou meio MS com 100% dos sais.

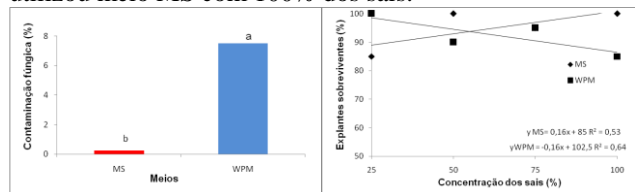


Figura 1. Porcentagem de contaminação fúngica em meios de cultura e de explantes sobreviventes, em função da concentração de sais dos meios, de segmentos nodais de pinhão-manso.

Na Figura 2 pode-se observar que, independente do meio de cultura utilizado, a concentração de 100% dos sais proporcionou maior altura média de brotação de explantes estabelecidos. Na Figura 3 é apresentado o desenvolvimento dos segmentos nodais estabelecidos de acordo com o meio de cultura (MS ou WPM) e concentrações dos sais utilizadas (25, 50, 75 e 100%).

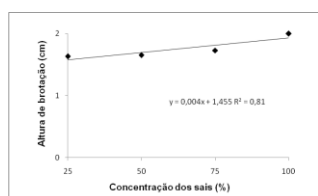


Figura 2. Altura média de brotação de segmentos nodais de pinhão-manso estabelecidos em meio de cultura com distintas concentrações de sais.

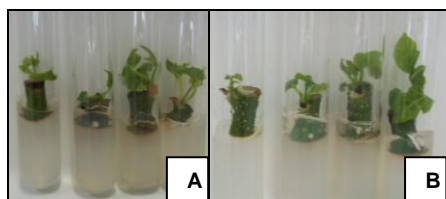


Figura 3. Segmentos nodais de pinhão manso estabelecidos em meios MS (A) e WPM (B) com diferentes concentrações de sais (25, 50, 75 e 100%), respectivamente. Foto: Lorena Pastorini Donini

Experimento 2: Estabelecimento de meristemas

Houve diferenças significativas para contaminação fúngica e desenvolvimento aos 15 e 30 dias de cultivo. Menor contaminação fúngica foi obtida em meio de cultura MS nas concentrações de 50 a 100% (Figura 4).

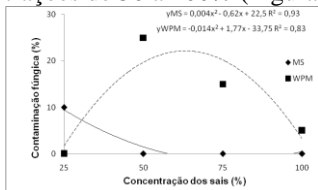


Figura 4. Porcentagem de contaminação fúngica em meristemas de pinhão-manso inoculados em meio de cultura com distintas concentrações de sais.

Quanto ao desenvolvimento dos meristemas, observou-se que aos 15 dias o melhor desenvolvimento foi observado com a utilização de meio MS com 100% dos sais, e aos 30 dias, independente do meio de cultura utilizado, a concentração total dos sais (100%) proporcionou melhor desenvolvimento (Figura 5).

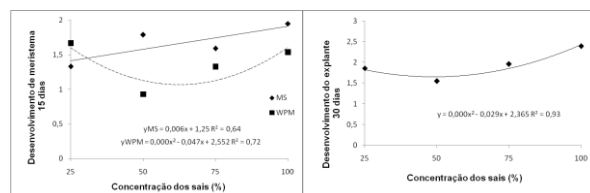


Figura 5. Desenvolvimento de meristemas de pinhão-manso aos 15 e 30 dias em meio de cultura com distintas concentrações de sais.

Os meristemas estabelecidos podem ser observados na Figura 6.

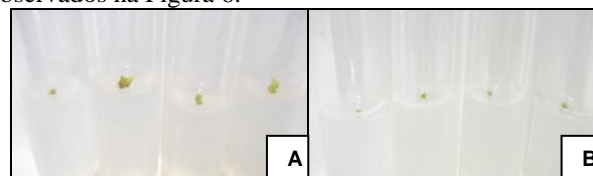


Figura 6. Meristemas de pinhão manso estabelecidos em meios MS (A) e WPM (B) com diferentes concentrações de sais (25, 50, 75 e 100%). Foto: Lorena Pastorini Donini

4 - CONCLUSÕES

O meio MS com 100% dos sais propiciou maior estabelecimento de segmentos nodais e meristemas de pinhão-manso.

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.
² 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.
³GRATTAPAGLIA, 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.
⁴LLOYD, G.; MCCOWN, B. **Commercially-feasible micropropagation of mountain laurel, *kalmia latifolia*, by use of the shoot-tip culture**. **Combined Proceedings International Plant Propagators Society**, v. 30, p. 421-427, 1980.
⁵MURASHIGE, T.; SKOOG, F. **A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue cultures**. **Physiologia Plantarum**, v. 15, p. 473-497, 1962.
⁶NUNES, 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.
⁷SCHUCH, M.W; ERIG, A.C. **Micropropagação de plantas frutíferas**. In: FACHINELLO, J.C.; HOFFMANN, A.;

II CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS DE PINHÃO-MANSO

NACHTIGAL, J.C. (Ed.) **Propagação de plantas frutíferas**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2005. p.155-173.