



EFEITO DE MEIOS DE CULTURA NO ESTABELECIMENTO DE EXPLANTES FOLIARES DE *JATROPHA CURCAS* L.

Renato Mello Martins Figueiredo Silva⁽¹⁾, Enes Furlani Junior⁽²⁾, Carlos Vinicius Sanches⁽³⁾, Heitor Pontes Gestal dos Reis⁽⁴⁾, Luiz Paulo Penna⁽⁵⁾, Germano Colleto Neto⁽⁶⁾, Jéssica Pigatto de Queiroz Barcelos⁽⁷⁾

RESUMO

O experimento foi realizado no Laboratório de Micropropagação pertencente à Faculdade de Engenharia da UNESP, Campus de Ilha Solteira – SP, em julho de 2011. Para o estabelecimento da cultura *in vitro* foram utilizados os meios de cultura MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962) e WPM (LLOYD; MCCOWN, 1980), ambos nas concentrações de 50% e 100% acrescidos de 2,0 mg L⁻¹ de 6-benzilaminopurina (BAP). Para isto, foram utilizadas folhas jovens retiradas de plantas pinhão-manso provenientes do cultivo em vaso. As folhas foram cortadas em quadrados com cerca de 5 mm² para serem inoculados nos meios de cultivo com os seguintes tratamentos: T1) Meio WPM com 50% da concentração ou WPM/2; T2) Meio WPM com 100% da concentração ou WPM; T3) Meio MS com 50% da concentração ou MS/2; T4) Meio MS com 100% da concentração ou MS.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com quatro tratamentos, cinco repetições e seis tubos por repetição. A iniciação da formação de calos, aos 15 dias após a inoculação dos explantes foliares de pinhão-manso (*Jatropha curcas* L.), não diferiu em nenhum dos tratamentos, aos 30 dias após a inoculação foi realizada uma nova avaliação, onde se verificou o desenvolvimento de calos.

Palavras-chave: Pinhão-manso, micropropagação, explante foliar, meios de cultura.



¹⁾ Discente Curso de Agronomia, Departamento de Fitotecnia, Faculdade de Engenharia da UNESP/ Campus de Ilha Solteira – SP, Passeio Monção, nº 226 - CEP 15385-000 Ilha Solteira – SP email:re_martinss@hotmail., ⁽²⁾ Prof. Titular Dr., Departamento de Fitotecnia, Faculdade de Engenharia da UNESP / Campus de Ilha Solteira – SP, Passeio Monção, nº 226 - CEP 15385-000 Ilha Solteira - SP; ⁽³⁾ Discente Curso de Agronomia, Departamento de Fitotecnia, Faculdade de Engenharia da UNESP/ Campus de Ilha Solteira – SP, Passeio Monção, nº 226 - CEP 15385-000 Ilha Solteira - SP, ⁽⁴⁾ Discente Curso de Agronomia, Departamento de Fitotecnia, Faculdade de Engenharia da UNESP/ Campus de Ilha Solteira – SP, Passeio Monção, nº 226 - CEP 15385-000 Ilha Solteira - SP,; ⁽⁵⁾ Mestrando - Curso de Pós-Graduação em Agronomia, Departamento de Fitotecnia, Faculdade de Engenharia da UNESP / Campus de Ilha Solteira / SP, Passeio Monção, nº 226 - CEP 15385-000 Ilha Solteira – SP, xxxxxxxxxxxx.

, ⁽⁶⁾ Discente Curso de Agronomia, Departamento de Fitotecnia, Faculdade de Engenharia da UNESP/ Campus de Ilha Solteira – SP, Passeio Monção, nº 226 - CEP 15385-000 Ilha Solteira - SP, [XXXXXXXXXX](#); ⁽⁷⁾ Discente Curso de Agronomia, Departamento de Fitotecnia, Faculdade de Engenharia da UNESP/ Campus de Ilha Solteira – SP, Passeio Monção, nº 226 - CEP 15385-000 Ilha Solteira - SP

SUMARY

The experiment was conducted at the Laboratory of Micropropagation belonging to the Faculty of Engineering, UNESP, Ilha Solteira - SP, in July 2011 for the establishment of in vitro culture media of MS medium (MURASHIGE; Skoog, 1962) were used and WPM (Lloyd, McCown, 1980), both at concentrations of 50% and plus 2.0 mg L⁻¹ 6-benzylaminopurine (BAP) 100%. For this, young leaves from jatropha plants from cultivation in pots were used. The leaves were cut into squares approximately 5 mm² to be inoculated in the culture medium with the following treatments:

T1) Half WPM with 50% concentration or WPM / 2, T2) Half WPM with 100% concentration or WPM, T3) MS medium with 50% concentration or MS / 2, T4) MS medium with 100% concentration or MS.

The experimental delineation was completely randomized with four treatments, five replicates and six tubes per replicate. The initiation of callus formation at 15 days after inoculation of leaf explants of *Jatropha* (*Jatropha curcas* L.), did not differ between the treatments at 30 days after inoculation a new review, which was performed was found the development of calluses.

Keywords: *Jatropha*, micropropagation, leaf explant culture media.

INTRODUÇÃO

O pinhão-mansão (*Jatropha curcas* L.) é uma planta nativa da América do Sul e com ampla distribuição na América do Sul e Central, África e Ásia. A espécie é considerada promissora para a produção de biodiesel por seu elevado teor de óleo (25 a 40%), superior ao da maioria das oleaginosas utilizadas no mercado de biocombustíveis (ARRUDA et al., 2004). A utilização do pinhão-mansão, como matéria-prima para a produção de biodiesel, vem sendo amplamente discutida e avaliada, uma vez que esta é uma promissora cultura a ser implantada em áreas que não apresentem características edafoclimáticas favoráveis, favorecendo a distribuição do cultivo por todas as regiões brasileiras, permitindo a melhor execução do Programa Nacional de



Produção e Uso do Biodiesel – PNPB (HEIFFIG; CÂMARA, 2006). A espécie ainda se encontra em processo de “domesticação” e, segundo Saturnino et al (2005), somente nos últimos 30 anos é que esta começou a ter seus aspectos agrônômicos pesquisados. Além disso, a maturação irregular dos frutos dificulta a colheita manual e impossibilita a colheita mecanização. Para que a cultura possa ter maior eficiência na produtiva espécie deve ser domesticada, a fim de sincronizar sua produção. Desta forma, trabalhos na área de melhoramento genético passam a ser prioritários. A planta normalmente é propagada por sementes, mas também por estaquia de ramos (NUNES, 2007; SATURNINO et al., 2005). A micropropagação é uma técnica que permite obter de forma rápida grande quantidade de mudas a partir de um único indivíduo, além de possibilitar a conservação de germoplasma, garantindo a manutenção da biodiversidade, sendo pois extremamente importante para agilizar trabalhos de melhoramento genético (ECHEVERRIGARAY et al., 2001).

OBJETIVOS

O objetivo foi testar qual o meio mais eficiente no estabelecimento inicial e indução de calos em explantes foliares de pinhão-manso (*Jatropha curcas* L.).

MATERIAIS E MÉTODOS

Foram utilizadas folhas jovens retiradas de plantas pinhão-manso provenientes do cultivo em vaso. As folhas foram levadas ao laboratório onde foram lavadas com detergente neutro em água corrente, em seguida passaram por desinfestação nas seguintes etapas dentro da câmara de fluxo laminar:

1. Lavagem com álcool 70% por cinco minutos, seguida de tríplice enxágue com água destilada e autoclavada;
2. Lavagem com 300 mL de solução de hipoclorito de sódio comercial (2,0 a 2,5% p/p) por quinze minutos, seguida de tríplice enxágue com água destilada e autoclavada.

Após a desinfestação, as folhas foram cortadas com o auxílio de bisturi em quadrados com cerca de 5 mm² para serem inoculados nos meios de cultivo com os seguintes tratamentos: T1) Meio WPM com 50% da concentração ou WPM/2; T2) Meio WPM com 100% da concentração ou WPM; T3) Meio MS com 50% da concentração ou MS/2; T4) Meio MS com 100% da concentração ou MS.



Todos os tratamentos foram suplementado com 30g L^{-1} de sacarose e $2,8\text{g L}^{-1}$ de fitagel, com pH ajustado para $5,7 \pm 0,1$, antes da autoclavagem por 20 minutos $120\text{ }^{\circ}\text{C}$ com 1 Kg cm^{-2} . Foram utilizados tubos de ensaio de vidro com tampa de rosca ($16 \times 150\text{ mm}$). O estabelecimento foi realizado em sala de crescimento vegetal com temperatura $25 \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$, sendo mantidas no escuro por 5 dias para o estabelecimento inicial.

Aos 15 dias após a inoculação foi avaliado o número de explantes vivos com início de desenvolvimento de calos e aos 30 dias, o número de explantes com calos desenvolvidos, cujos valores foram expressos em porcentagem. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com quatro tratamentos, cinco repetições e seis tubos por repetição. Os dados foram analisados no programa estatístico SISVAR, com as médias comparadas através do teste de Tukey a 5% de significância.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Após 15 dias da inoculação dos explantes foliares observou-se que a iniciação da formação de calos não diferiu estatisticamente em nenhum dos tratamentos como a TABELA 1 mostra. Aos 30 dias depois da inoculação verificou-se o desenvolvimento de calos, evidenciando que os tratamentos com o meio MS, nas concentrações propostas apresentaram maior formação de calos, sendo 83,3% para tratamento com meio MS completo e 86,7% com meio MS com metade da concentração. O tratamento com WPM se mostrou pouco eficiente para ambas as concentrações, observando que os explantes foliares cessaram o desenvolvimento, ficando com aspectos quebradiços e com pouca sobrevivência *in vitro*, sinalizando que estes poderiam estar vitrificados. Algumas espécies quando são cultivadas *in vitro* são suscetíveis a desordens fisiológicas, podendo em casos extremos levar a morte da cultura.

TABELA 1: Porcentagem de explantes vivos com início de calogênese, aos 15 dias após a inoculação, e com calos, aos 30 dias após a inoculação.

Tratamento	Início de calogênese 15 dias (%)	Calos desenvolvidos 30 dias (%)
T1) WPM	90,0 a	00,0 a
T2) WPM/2	83,3 a	13,3 a
T3) MS	83,3 a	83,3 b
T4) MS/2	86,7 a	86,7 b

Médias seguidas de mesma letra, na mesma coluna, não diferem entre si ao nível mínimo de significância de 5%.



CONCLUSÕES

Com base nos resultados, nas condições em que foram realizados os experimentos pode-se concluir que:

1. Os meios MS, em ambas as concentrações utilizadas, foram os que melhor propiciaram o desenvolvimento de calos nos explantes foliares de pinhão-mansão.
2. O meio MS com metade da concentração de sais, mesmo não diferindo estatisticamente do meio MS com concentração completa de sais, é o mais recomendado, pois têm maior porcentagem de desenvolvimento de calos e proporciona maior economia de reagentes para a instalação da cultura *in vitro*.

REFERÊNCIAS

ARRUDA, F. P. et al. Cultivo de pinhão-mansão (*Jatropha curcas* L.) como alternativa para o semi-árido nordestino. **Revista Brasileira de Oleaginosas e Fibrosas**, Campina Grande, v. 8, n. 1, p. 789-799, 2004.

FEITOSA, L. S. et al. Influência de diferentes concentrações de ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D) e cinetina na indução de calos em explantes foliares de pinhão-mansão. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FLORICULTURA E PLANTAS ORNAMENTAIS, 17.; CONGRESSO BRASILEIRO DE CULTURA DE TECIDOS DE PLANTAS; 4., 2009, Aracaju. **Anais...** Aracaju: [s.n.], 2009.

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A.. **Cultura de Tecidos e Transformação Genética de Plantas**, v.1. Brasília: Embrapa-SPI /Embrapa CNPH, p. 183-260, 1998.

SANTOS, D. N. ; [PASQUAL, M.](#) ; [NUNES, C.F.](#) ; SANTOS, A. M. . Micropropagação do pinhão-mansão: concentrações do meio de cultura e do Bap (Benzilaminopurina). In: **Congresso Internacinal de Agroenergia e Biocombustíveis**, 2007, Teresina. Congresso Internacinal de Agroenergia e Biocombustíveis, 2007



SATURNINO, H. M. et al. Cultura do pinhão manso (*Jatropha curcas*L.).
Informe Agropecuário, Belo Horizonte, v.26 n.229 p.44-78, 2005.