

Preparo de lâminas foliares de Pinhão-manso: desinfestação com diferentes concentrações de hipoclorito de sódio.

Dalíhnia Nazaré dos Santos¹; Moacir Pasqual²; Claudinéia Ferreira Nunes³; Aparecida Gomes de Araujo⁴; Adriene Matos dos Santos¹

¹Graduanda em Agronomia pela Universidade Federal de Lavras, Departamento de Agricultura – DAG. Caixa Postal 3037, CEP 37200 – 000, Lavras, Minas Gerais, fone (35) 3829 1166, emai: dalilnia@yahoo.com.br; ²Eng. Agr. Dr, Professor Titular da Universidade Federal de Lavras. Departamento de Agricultura – DAG. Caixa Postal 3037, CEP 37200 – 000, Lavras, Minas Gerais, fone (35) 3829 1323, email: mpasqual@ufla.br; ³ Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Agronomia (UFLA), Universidade Federal de Lavras, Departamento de Agricultura – DAG. Caixa Postal 3037, CEP 37200 – 000, Lavras, Minas Gerais, fone (35) 3821 4016, email: nunescr@yahoo.com.br; ⁴ Pesquisadora Doutora, Agronomia/Ciências do Solo (UFLA), Universidade Federal de Lavras, Departamento de Ciências do Solo – DCS. Caixa Postal 3037, CEP 37200 – 000, Lavras, Minas Gerais, fone (35) 88534497, email: agaraujo2003@yahoo.com.br.

INTRODUÇÃO

O pinhão-manso de nome científico *Jatropha curca L.* é uma oleaginosa, pertencente à família botânica *Euphorbiaceae*, originária da América tropical (Peixoto, 1973). É uma planta conhecida desde tempos antigos, utilizada na fabricação de sabão e iluminação de casas. Diversas partes da planta como folhas, sementes e raízes frescas ou como decocção são usadas na medicina tradicional chinesa.

Hoje em dia há um estímulo pela busca de fontes renováveis de energia, e nesse, consenso o pinhão-manso (*Jatropha curca L.*) é apontado como uma oleaginosa em potencial, por se tratar de uma planta de elevada rusticidade. Heller (1996) descreve que o pinhão-manso tem pleno desenvolvimento em solos aerados, bem drenado e é bem adaptado a solos marginalizados, que contenha poucos nutrientes.

No entanto o pinhão-manso é uma planta carente de estudos e, portanto carente de tecnologias adequadas ao seu manejo. Pesquisas vêm sendo realizadas buscando sanar essa e outras necessidades, como o aspecto nutricional da planta. Uma das tecnologias que vem auxiliar é a cultura de tecidos vegetais, considerada uma técnica de relevada importância, pois permite a propagação rápida de culturas de ciclo longo (Ribeiro, 1999).

As contaminações no cultivo *in vitro* são um problema constante, os vegetais cultivados a campo apresentam intenso contato com microorganismos que podem comprometer o desenvolvimento do cultivo *in vitro*. Para tanto é essencial que o tecido que dará origem ao explante, esteja livre de contaminantes, sendo necessária a realização de um tratamento de desinfestação deste tecido, a fim de eliminar microorganismos exógenos, para a obtenção de um bom resultado no final do processo de estabelecimento *in vitro* (Gamborg & Phillips, 1995; Rocha, 1999; Souza et al., 2003; Silva et al., 2003).

Nesse sentido, o presente trabalho teve por objetivo avaliar o efeito das diferentes concentrações de hipoclorito de sódio em associação com o tempo de exposição do explante ao produto, na assepsia de segmentos foliares de pinhão-manso.

MATERIAL E MÉTODOS

Folhas oriundas de plantas de pinhão-manso cultivadas na unidade experimental da Universidade Federal de Lavras foram utilizadas como fonte de explante. O experimento foi conduzido no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais do Departamento de Agricultura (DAG/UFLA), Lavras – MG.

As plantas passaram por uma desinfestação prévia com pulverizações utilizando fungicida a base de ditiocarbamato 3g.L⁻¹ (Dithame*N⁺). Coletaram-se folhas jovens das brotações superiores, isentas de qualquer dano físico ou patogênico. Durante a coleta, as folhas foram imersas em água destilada para uma lavagem inicial e em seguida levadas para o laboratório onde permaneceram em água corrente por 10 minutos.

Em ambiente asséptico de câmara de fluxo laminar, as folhas foram mergulhadas em álcool 70% por 1 minuto e em água destilada estéril, por três vezes; imersas nas soluções de hipoclorito de sódio comercial (água sanitária) com diferentes concentrações de cloro ativo (1%, 1,5%, 2%) combinados com diferentes tempos (10min, 20min, 30min) de exposição em agitação constante, e novamente lavadas em água destilada esterilizada. Cada explante com área aproximada de 1cm², foi inoculado individualmente em tubos de ensaio contendo 15mL de meio de cultura MS (Murashige e Skoog, 1962), com a face abaxial em contato com o meio de cultura.

Empregou-se o delineamento inteiramente casualizado em ensaio fatorial 4 x 4 com 3 repetições de 4 tubos, 12 tubos por tratamento. O material foi incubado em câmara de crescimento, no escuro, à temperatura de 27± 1°C, por 14 dias, quando então foi avaliado quanto à contaminação ocasionada por fungos ou bactérias.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

É sabido que as plantas lenhosas apresentam problemas de oxidação em cultivo *in vitro*, dificultando seu estabelecimento nessa via de cultivo. Essa característica não é considerada empecilho no processo de cultivo *in vitro* para a espécie lenhosa estudada, já que o observado foram oxidações parciais nas bordas dos explantes, em alguns dos tratamentos.

Conforme verificado na Tabela 1, as médias de contaminação das lâminas foliares de pinhão-mansó variaram entre 0,00% e 1,50% para contaminação fúngica e bacteriana. De modo geral, não houve contaminação total em nenhum dos tratamentos utilizados, corroborando com Erig & Schuch (2003), onde trabalhando com macieira observaram que, a desinfestação dos explantes com hipoclorito de sódio (cloro ativo) é mais eficiente, possibilitando uma maior percentagem de sobrevivência. Assim como foi verificado no presente trabalho.

A maximização da assepsia ocorreu com a utilização de mais de uma concentração de cloro ativo e tempo de exposição em relação à contaminação fúngica. Porém, destaca-se que para esta contaminação a concentração de 2,0% de cloro ativo em exposição por 10 minutos ocorreu em maior incidência. Para contaminação bacteriana, independente das concentrações e tempos de exposição testados, não houve diferença significativa.

TABELA 1. Influência das concentrações de cloro ativo e tempo de exposição de lâminas foliares de pinhão-mansó em relação à contaminação por fungos e bactérias. UFLA, Lavras – MG, 2007.

Cloro ativo (%)	Tempo (min)	Fungo (%)	Bactéria (%)
1	10	0,00a	0,00a
1	20	0,50a b	1,50a
1	30	0,50a b	0,50a
1,5	10	0,25a	0,75a
1,5	20	0,00a	0,25a
1,5	30	0,00a	0,25a
2,0	10	1,50 b	0,50a
2,0	20	0,00a	0,25a
2,0	30	0,25a	0,25a

Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem, significativamente, entre si, pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

De fato, isto possibilita uma escolha mais adequada da concentração de cloro ativo a ser empregada como desinfestante, no sentido do uso da menor concentração possível para minimizar os efeitos tóxicos do desinfestante sobre o material utilizado. Os resultados apresentados neste trabalho assemelham-se aos encontrados por Donini et al. (2005) onde descreveram a utilização de cloro ativo entre 0,5% e 2,0% sendo consideradas adequadas para a desinfestação de lâminas foliares de aráceas ornamentais.

CONCLUSÃO

A utilização do desinfestante hipoclorito de sódio é necessária para o estabelecimento *in vitro* do pinhão-manso, sendo variável com o tempo de exposição entre 10 e 30 minutos e a concentração do cloro ativo, numa faixa entre 1,0% e 2,0%.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- DONINI, L.P.; FERREIRA-MOURA, I.; GUISSO, A.P.; DE SOUZA J.A.; VIÉGAS, J. Preparo de lâminas foliares de aráceas ornamentais: desinfestação com diferentes concentrações de hipoclorito de sódio. **Arquivos do Instituto Biológico.**, São Paulo, v.72, n.4, p.517-522, out./dez., 2005
- ERIG, A.C.; SCHUCH, M.W. Tipo de explante e controle da contaminação e oxidação no estabelecimento *in vitro* de plantas de macieira (*Malus domestica* BORKH.) cvs. Galaxy, Maxigala e Mastergala. **Revista Brasileira de Agrociência**, v. 9, n. 3, p.221-227, jul-set, 2003
- GAMBORG, O.L. & PHILLIPS, G.C. Plant cell, tissue and organ culture: fundamental methods. **Germany: Springer**, 1995. 359p.
- HELLER, J.. **Physic nut. *Jatropha curcas* L.** Promoting the conservation and use f underutilized and neglected crops. 1. Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research, Gatersleben/ International Plant Genetic Resources Institute, Rome. 1996
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F.. A revised medium for rapid growth and biossays with tabaco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, v.15, p. 473-497,1962.
- PEIXOTO, A.R. **Plantas oleaginosas arbóreas**. p. 249-270. São Paulo, 1973
- RIBEIRO, A.O.; Definição do meio de cultura para morfogênese indireta em alface variedades Verônica e Maioba. Monografia (Especialização em biotecnologia). Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, MG, 39p. 1999.
- SILVA, R.M. dos S.; BLANK, M. de F.A.; ÂNGELO, P.C. da S. Desinfestação de explantes de inhame roxo (*Dioscorea rotundata*, Poir) coletados no campo para micropropagação. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FLORICULTURA E PLANTAS ORNAMENTAIS, 14.; CONGRESSO BRASILEIRO DE CULTURA DE TECIDOS, 1., 2003, Lavras. **Resumos**.Lavras:UFLA/FAEPE, 2003. p329.
- SOUZA, T.V.; ABREU, M.F.; TARAZI, R.; DANTAS, A.C.M.; OLIVEIRA, V.L.; PEDROTTI, E.L. Controle de contaminantes na cultura de tecidos em macieira (*Mallus spp*). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FLORICULTURA E PLANTAS ORNAMENTAIS, 14.; CONGRESSO BRASILEIRO DE CULTURA DE TECIDOS, 1., 2003, Lavras. **Resumos**.Lavras:UFLA/FAEPE, 2003. p.346.

PALAVRAS – CHAVE

Jatropha curcas, assepsia, folhas.