Multiplicação in vitro de Pinhão-manso sob diferentes concentrações de BAP (6-Benzilaminopurina).

<u>Dalilhia Nazaré dos Santos<sup>1</sup></u>; Moacir Pasqual<sup>2</sup>; Claudinéia Ferreira Nunes<sup>3</sup>; Aparecida Gomes de Araujo<sup>4</sup>; Adriene Matos dos Santos<sup>1</sup>

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: dalilhia@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: nunescfr@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 (*Jatropha curcas L.*), espécie nativa do Brasil vem se destacando pelo alto potencial econômico, sendo considerada uma alternativa atraente para produção de óleo para fins energéticos. Como a espécie tem sido utilizada como fonte geradora de renda, torna-se necessária à produção contínua e em larga escala de mudas de qualidade.

Técnicas de cultivo *in vitro* para *Jatropha curcas* têm sido estudadas e desenvolvidas por diversos pesquisadores (Sardana et. al., 1998; Sujatha & Reddy, 2000), objetivando a multiplicação de brotos a partir de segmentos foliares, pecíolo, hipocótilo e segmentos nodais. Rajore et al. (2002) têm realizado trabalhos de regeneração de embriões somáticos oriundos de segmentos foliares de *J. curcas*.

A utilização do BAP em meio de cultivo para indução de brotações foi testada por vários pesquisadores. Lin et al. (2002) e Wei et al. (2004) trabalhando com hipocótilo de plântulas de *Jatropha curcas*, obtiveram resposta positiva na presença de 0,5 mg.L<sup>-1</sup> de BAP. Já Rajore & Batra (2005) trabalhando com brotos axilares da mesma espécie, observaram que a concentração de 2,0 mg.L<sup>-1</sup> de BAP foi eficiente na indução de brotações. As variações nas respostas obtidas decorrem, certamente, da competência de cada tipo de explante para desenvolver a resposta morfogenética.

No entanto, para a cultura da *J. curcas*, são escassos os trabalhos realizados *in vitro*, conhecendo-se muito pouco sobre o comportamento da planta nessas condições. Por tal motivo e por se tratar de uma espécie de grande interesse econômico, carente de informações científicas e técnicas adequadas de cultivo, fazem-se necessários estudos sobre a propagação da espécie.

Este trabalho teve como objetivo, verificar o efeito do BAP (benzilaminopurina) sobre a indução *in vitro* de brotações, em ápices caulinares de pinhão-manso.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

O experimento foi conduzido no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais da Universidade Federal de Lavras, Departamento de Agricultura, Lavras - MG. O material vegetal utilizado foi constituído por ápices caulinares com 2 cm, provenientes de plântulas de *J. curcas* obtidas por meio de germinação *in vitro* de embriões.

O meio de cultura básico usado no experimento foi o MS (Murashige & Skoog, 1962) suplementado com 0,5 mg.L<sup>-1</sup> de AIB, 30 g.L<sup>-1</sup> de sacarose; solidificado com 6 g.L<sup>-1</sup> de ágar (Merck<sup>®</sup>) e pH ajustado para 5,8 antes da autoclavagem a 121°C por 20 minutos.

Para a indução de brotações, os explantes foram inoculados individualmente em tubos de ensaio de 25 x 150 mm, contendo 15 mL do meio de cultura MS acrescido das diferentes concentrações de BAP (0, 2, 4 e 6 mg.L<sup>-1</sup>) combinadas com três épocas de coleta dos explantes (10, 20 e 30 dias) antes da indução de brotação e o tempo zero (indução de

brotação imediatamente após a excisão do embrião). O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial 4 x 4, com 5 repetições, cada uma constituída de 3 tubos de ensaio. Logo após a inoculação, os explantes foram transferidos para sala de crescimento a 27± 1°C, irradiância de 35 µmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>, fornecida por lâmpadas fluorescentes brancas de 20W (Osram<sup>®</sup>) com fotoperíodo de 16 horas diárias.

Decorridos 30 dias após a transferência para o meio de indução de brotação, foram realizadas avaliações com base no número de brotações e número de folhas por explante. Para a análise estatística utilizou-se o software Sisvar (Ferreira, 2000). Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância, com a aplicação do teste F a 5% de probabilidade, e as médias quantitativas analisadas por regressão.

#### **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

O resumo da análise de variância para as características avaliadas está representado na tabela 1. Houve diferença significativa para o número de brotações e folhas emitidas por explante, em função das concentrações de BAP, não havendo diferenças significativas para o efeito da interação entre os dois fatores e para épocas de coleta dos explantes.

**TABELA 1.** Resumo da análise de variância para número de brotações (NB) e número de folhas (NF) de explantes de *Jatropha curcas*.

Quadrado médio			
Fonte de variação	GL	NB (un)	NF (un)
Época de coleta do explante	3	0,7959 <sup>ns</sup>	1,5086 <sup>ns</sup>
BAP	3	8,1462 <sup>*</sup>	8,7630 <sup>*</sup>
E x BAP	9	0,5218 <sup>ns</sup>	0,6789 <sup>ns</sup>
Resíduo	64	0,4840	1,3094
CV (%)		39,28	53,79

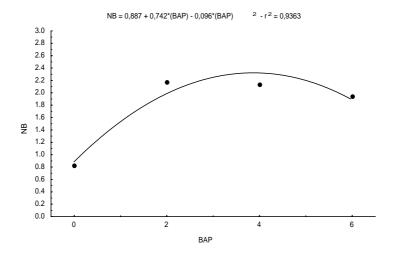
E - Época de coleta do explante; BAP - (6-benzilaminopurina); CV - Coeficiente de variação; e un - unidade.

A época de coleta do explante não influenciou no número de brotações e de folhas. Esperava-se que os explantes inoculados na época zero apresentassem maior número de brotações e folhas, por se tratar de um tecido mais jovem. Porém, não apresentou diferença quando comparado ao explante coletado aos 30 dias.

O número de brotos apresentou diferenças significativas em resposta às diferentes concentrações de BAP. A figura 1 mostra que o maior valor foi obtido com 3,87 mg.L<sup>-1</sup> de BAP, correspondendo a um máximo de 2,3 brotos por explante, contra 0,8 brotos na ausência dessa citocinina. O maior número de brotos foi obtido em resposta à concentração de 3,87 mg.L<sup>-1</sup> ocorrendo redução nos valores para esta variável com o aumento na concentração de BAP. Evidencia-se assim que concentrações mais elevadas dessa citocinina foram inibitórias para o processo de indução de brotação em explantes de *J. curcas*.

significativo pelo teste F a 5% de probabilidade.

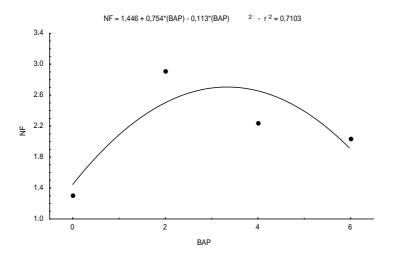
<sup>&</sup>lt;sup>ns</sup> não significativo.



**FIGURA 1.** Representação gráfica e equação de regressão do número de brotações por explantes de *J. curcas* L., em função das concentrações de BAP no meio de cultura MS.

Ao comparar-se a *J. curcas* com outras espécies perenes, nota-se que a taxa de multiplicação de 2,3 brotos/explante pode ser considerada satisfatória. Para o pequizeiro (*Caryocar brasiliensis* Camb.), por exemplo, o número de brotações *in vitro* registrado a partir de segmentos nodais, não foi superior a 1broto/explante (Santos et al., 2006).

Em relação ao número de folhas, observou-se que a concentração máxima de 3,34 mg.L<sup>-1</sup> de BAP resultou num número total de 2,7 folhas por explante (Figura 2). Menores números de folhas foram obtidos na ausência e presença de 6 mg.L<sup>-1</sup> de BAP. Em todos os tratamentos notou-se a presença de folhas, ainda que deformadas ou pouco desenvolvidas, o que se atribui à divisões celulares provocadas pelo BAP.



**FIGURA 2.** Representação gráfica e equação de regressão do número de folhas por explantes de *J. curcas* L., em função das concentrações de BAP no meio de cultura MS.

Embora tenha observado presença de brotos e formação de folhas nos explantes de *J. curcas*, é conveniente ressaltar que os brotos formados apresentavam-se grossos e não alongados e as folhas mostravam-se pequenas e pouco expandidas. Infere-se que as brotações obtidas na fase de multiplicação não se encontram em condições de ser em individualizadas para o enraizamento, necessitando-se assim de uma fase posterior de alongamento.

# **CONCLUSÃO**

O maior número de brotações é obtido na presença de 4 mg.L<sup>-1</sup> de BAP no meio de cultura MS.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

FERREIRA, D. F. Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4.0. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45., 2000, São Carlos. **Anais** São Carlos: UFSCar, p. 255-258, 2000.

LIN J , TANG L , CHEN F.Tissue culture and plantlet regeneration of Jatropha curcas. **Plant Physiol Commun** 38(3) :252, 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.

RAJORE, S, BATRA, A. Efficient plant regeneration via shoot tip explant in *Jatropha curcas* L. **J. Plant Biochem. Biotech** 14: 73-75, 2005.

RAJORE, S, SARDANA, J, BATRA, A. *In vitro* cloning of *Jatropha curcas* L. **J. Plant Biol**. 29(2): 195-198, 2002..

SANTOS, B.R.; PAIVA, R.; NOGUEIRA, R.C.; OLIVEIRA, L.M.de; SILVA, D.P.C.da; MARTINOTTO, C.; SOARES, F.P.; PAIVA, P.D.O.de. Micropropagação de pequizeiro (*Caryocar brasiliense* Camb.). Revista Brasileira de Fruticultura, Jaboticabal-SP, v.28, n.2, p.293-296. Agosto 2006.

SARDANA, J., BATRA, A., ALI, D.J. *In vitro* plantlet formation and micropropagation of *Jatropha curcas* (L.). **Adv. Plant Sci**. 11(2): 167-169, 1998.

SUJATHA, M., REDDY, T.P. Morphogenic responses of *Jatropha integerrima* explants to cytokinins. **Biologia, Bratislava** 55: 99-104, 2000.

WEI, QIN, LU, WEI-DA, LIAO, YI, PAN, SHU-LIN, XU, YING, TANG, LIN, CHEN, Fang. Plant regeneration from epicotyl explant of *Jatropha curcas*. **Journal Physiology and Molecular Biology.**, 30(4):475-478, 2004.

#### PALAVRAS - CHAVE

Jatropha curcas, Euphorbiaceae, cultivo de embriões, citocininas.